

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Alen HORVAT

**VSEBNOST KROMA V POLJŠČINAH IN TLEH
ONESNAŽENIH Z USNJARSKIMI ODPADKI**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

Ljubljana, 2009

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Alen HORVAT

**VSEBNOST KROMA V POLJŠČINAH IN TLEH ONESNAŽENIH
Z USNJARSKIMI ODPADKI**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

**CONTENT OF CHROMIUM
IN VEGETABLES AND SOIL
POLLUTED WITH TANNERY WASTES**

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2009

POPRAVKI

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študija živilske tehnologije. Opravljeno je bilo v laboratorijih Katedre za vrednotenje živil in Katedre za biotehnologijo na Oddelku za živilstvo na Biotehniški fakulteti Univerze v Ljubljani, v laboratorijih Centra za pedologijo in varstvo okolja na Oddelku za agronomijo na Biotehniški fakulteti Univerze v Ljubljani, v laboratoriju za raziskave v okolju na Fakulteti za znanosti o okolju na Univerzi v Novi Gorici, v agrokemijskem laboratoriju na Kmetijskem inštitutu Slovenije, ter na polju v vasi Vranja Peč.

Študijska komisija Oddelka za živilstvo je za mentorico diplomskega dela imenovala prof. dr. Terezijo Golob in za recenzenta doc. dr. Rajka Vidriha.

Mentorica: prof. dr. Terezija Golob

Recenzent: doc. dr. Rajko Vidrih

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član:

Član:

Datum zagovora:

Naloga je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Alen Horvat

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD DN
DK UDK 633.3/.4+631.42:546.76(043)=163.6
KG krom / poljščine / vnos kroma v poljščine / tla / kontaminacija tal s kromom
AV HORVAT, Alen
SA GOLOB, Terezija (mentorica) / VIDRIH, Rajko (recenzent)
KZ SI-1000 LJUBLJANA, Jamnikarjeva 101
ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo
LI 2009
IN VSEBNOST KROMA V POLJŠČINAH IN TLEH ONESNAŽENIH Z
USNJARSKIMI ODPADKI
TD Diplomsko delo (univerzitetni študij)
OP IX, 59 str., 27 pregl., 23 sl., 0 pril., 62 vir.
IJ sl
JI sl/en
- AI V nalogi smo proučevali posledice večletnega vnosa kroma v poljska tla. Analize vzorcev zemlje in poljščin smo opravili 20 let po zadnjem vnosu kroma. Vsi vzorci so bili odvzeti na njivi v Vranji Peči pri Kamniku, dne 04.10.2005. Celokupno vsebnost kroma smo določali v jedilnih delih rastlin hrena, pese, repe, in fižola. V vzorcih zemlje smo določali celokupno vsebnost in razporeditvene deleže kroma v posameznih strukturnih fazah do globine 100 cm. Za doseg cilja smo uporabili različne tehnike razkrojev v kislinah, tehniko sekvenčnih ekstrakcij, plamensko atomsko absorpcijsko spektroskopijo (PAAS) in elektrotermično atomsko absorpcijsko spektroskopijo (ETAAS). Pred razkrojem smo rastlinske vzorce posušili in zmleli. Največ kroma so akumulirali zemeljski plodovi: krmna repa 1633 ng_{Cr}/g s.s., navadni hren 797 ng_{Cr}/g s.s., krmna pesa 212 ng_{Cr}/g s.s., medtem ko je zrnje fižola vsebovalo le 23,8 ng_{Cr}/g s.s. Vsebnost kroma na gram svežega vzorca pa je bila v korenini hrena 186 ng_{Cr}/g, v repi 165 ng_{Cr}/g, v pesi 30,6 ng_{Cr}/g in v zrnju fižola 2,5 ng_{Cr}/g. Za določanje celokupne vsebnosti kroma v zemlji so bili vzorci predhodno zračno posušeni in zmleti. Različne metode razkrojev v kislinah so dale precej različne rezultate. Največja vsebnost kroma je bila v ornici in se je z globino zmanjševala. Povprečna vsebnost kroma v ornici (0 - 25 cm) celotne njive je bila 751 μg_{Cr}/g s.s. Vsebnost Cr v posameznih plasteh zemlje pa je bila od 1109 μg_{Cr}/g s.s. v zgornji plasti do 302 μg_{Cr}/g s.s. v najgloblji plasti. Za določanje kemijskih oblik in razporejenosti kroma v tleh smo uporabili sveže in presejane vzorce. Uporaba različnih ekstrahentov je pokazala, da je krom močno vezan na minerale. Rastlinam dostopen krom je bil prisoten v zanemarljivih količinah (ng_{Cr}/g s.s.).

KEY WORDS DOCUMENTATION

- DN DN
DC UDC 633.3/.4+631.42:546.76(043)=163.6
CX chromium / vegetables / uptake of chromium by vegetables / soil / soil contamination
AU HORVAT, Alen
AA GOLOB, Terezija (supervisor) / VIDRIH, Rajko (reviewer)
PP SI-1000 LJUBLJANA, Jamnikarjeva 101
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Food Science and Technology
PY 2009
TI CONTENT OF CHROMIUM IN VEGETABLES AND SOIL POLLUTED WITH TANNERY WASTES
DT Graduation Thesis (University studies)
NO IX, 59 p., 27 tab., 23 fig., 0 ann., 62 ref.
LA sl
AL sl/en
- AB In diploma thesis we studied consequences of years long chromium input into the soil. 20 years after the last chromium input we analysed plant and soil samples on chromium content. All the samples were gathered on one field in Vranja Peč near Kamnik on 4th November 2005. The chromium content in the edible parts of horse radish, beet, turnip and beans was determined. In soil samples till 100 cm depth we determined total concentrations and distribution of chromium in certain soil components. To achieve that we used different techniques of acid decompositions, the technique of sequence extractions, FAAS and ETAAS. Before the process of digestion the plant samples were dried and ground. The highest amount of chromium was absorbed by the underground crops: turnip 1633 ng_{Cr}/g d.w., horse radish 797 ng_{Cr}/g d.w., beet 212 ng_{Cr}/g d.w., whereas content in beans was 23.8 ng_{Cr}/g d.w. The following content of chromium expressed in a gram of fresh sample was found: root of horse radish 186 ng_{Cr}/g, turnip 165 ng_{Cr}/g, beet 30.6 ng_{Cr}/g and in beans 2.5 ng_{Cr}/g. To determine the total content of chromium in soil the samples were first dried and ground. Different methods of acid decomposition gave rather different results. The highest content of chromium was found in arable land, its content was decreasing with depth. Average content in the arable land (0 - 25 cm) of the whole field was 751 µg_{Cr}/g d.w. Content of chromium in certain soil horizons ranged from 1109 µg_{Cr}/g d.w. in upper horizon to 302 µg_{Cr}/g d.w. in deepest horizon. We used fresh and sifted soil samples to determine chemical speciation and distribution of chromium in the ground. Use of different extraction solutions showed extensive bonding of chromium to minerals. Chromium bioavailable to plants was in negligible quantities, ng_{Cr}/g d.w. is in range.

KAZALO VSEBINE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
KEY WORDS DOCUMENTATION	IV
KAZALO VSEBINE	V
KAZALO SLIK	VIII
OKRAJŠAVE	IX
1 UVOD	1
1.1 CILJI NALOGE	2
1.2 DELOVNE HIPOTEZE	2
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 KROM	3
2.1.1 Zgodovinski pregled	3
2.1.2 Fizikalnokemijske lastnosti, nahajanje, proizvodnja in uporaba kroma.....	3
2.1.2.1 Fizikalnokemijske lastnosti kroma	3
2.1.2.2 Nahajanje kroma v naravi.....	4
2.1.2.3 Poizvodnja kroma	6
2.1.2.4 Uporaba kroma	6
2.1.3 Krom kot onesnaževalec okolja.....	6
2.2 KEMIZEM KROMA	8
2.3 KROM V TLEH	10
2.4 KROM V RASTLINAH	11
3 MATERIAL IN METODE	15
3.1 MATERIAL	15
3.2 VZORČENJE IN PRIPRAVA VZORCEV	17
3.2.1 Zemlja	17
3.2.2 Poljščine	17
3.2.3 Shranjevanje vzorcev zemlje in poljščin	18
3.3 RAZKROJ VZORCEV IN PRIPRAVA RAZTOPIN	19
3.3.1 Zemlja za zaporedne ekstrakcije	19
3.3.2 Zemlja za določanje celokupnega kroma	22
3.3.3 Poljščine za določanje celokupnega kroma	24
3.3.4 Pedološke analize tal.....	27
3.4 KVANTITATIVNO DOLOČANJE KROMA Z ATOMSKO ABSORPCIJSKO SPEKTROSKOPIJO (AAS).....	28
3.4.1 Atomska absorpcijska spektroskopija (AAS)	28
3.4.2 Plamenska atomska absorpcijska spektroskopija (PAAS).....	32
3.4.3 Elektrotermična atomska absorpcijska spektroskopija (ETAAS)	34
3.4.4 Interference	35
3.4.5 Korekcija ozadja.....	37
3.4.6 Umeritvena krivulja, občutljivost, spodnja meja zaznavnosti in območje zanesljivosti	37
3.4.7 Kvantitativno določanje kroma v vzorcih poljščin z ETAAS.....	38
3.4.8 Kvantitativno določanje kroma v vzorcih zemlje.....	40

3.4.7.1 Kvantitativno določanje vsebnosti kroma v vzorcih zemlje, ki so bili odbelani z zaporednimi ekstrakcijami	40
3.4.7.2 Kvantitativno določanje celokupnega kroma v vzorcih zemlje.....	41
4 REZULTATI Z RAZPRAVO	42
4.1 REZULTATI PEDOLOŠKIH ANALIZ VZORCEV ZEMLJE	42
4.2 REZULTATI VSEBNOSTI KROMA V RAZLIČNIH EKSTRAKCIJSKIH FRAKCIJAH VZORCEV ZEMLJE	43
4.3 REZULTATI CELOKUPNE VSEBNOSTI KROMA V VZORCIH ZEMLJE.....	48
4.4 REZULTATI IZRAČUNANIH DELEŽEV KROMA V POSAMEZNIH EKSTRAKTIH ZEMLJE	49
4.5 REZULTATI VSEBNOSTI KROMA V POLJŠČINAH	50
5. SKLEPI	53
6 POVZETEK	54
7 VIRI	55
ZAHVALA	1

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Povprečna vsebnost kroma v različnih geoloških materialih (Nriagu, 1988b: 82).....	5
Preglednica 2: Uporabnost nekaterih kromovih spojin (Nriagu, 1988b: 97)	6
Preglednica 3: Odziv vnosa in transporta kroma na nekatere izpostave (Shewry in Peterson, 1974).....	12
Preglednica 4: Celokupne vsebnosti kroma v jedilnih delih rastlin (Tomas in sod., 1974: 774).....	13
Preglednica 5: Odvisnost vnosa in transporta od kemijske oblike kroma (Zayed in sod., 1998).....	13
Preglednica 7: Vzorci zemlje odvzeti na njivi gnojeni z usnjarskimi odpadki (Vranja Peč, leta 2005).....	15
Preglednica 8: Analizirane vrste poljščin, ki so bile gojene na njivi, ki je bila gnojena z usnjarskimi odpadki (Vranja Peč, leta 2005)	15
Preglednica 9: Opis Tessierjeve tehnike sekvenčnih ekstrakcij za vzorce zemlje (Tessier in sod., 1979)	19
Preglednica 10: Program mikrovalovne peči za razkroj zemeljskih vzorcev.....	22
Preglednica 11: Program mikrovalovne peči za razkroj rastlinskih vzorcev	26
Preglednica 12: Tipi interferenc v ETAAS (Butcher, 2005: 158).....	36
Preglednica 13: Program segrevanja kivete ob vsakem doziranju vzorca.....	39
Preglednica 14: Rezultati pedoloških analiz vzorcev zemlje (Vranja Peč, leta 2005)	42
Preglednica 15: Mase vzorcev zemlje, ki so bili obdelani s tehniko sekvenčnih ekstrakcij in vsebnost vode (Vranja Peč, leta 2005)	43
Preglednica 16: Vsebnost kroma v vzorcih sveže zemlje (Vranja Peč, leta 2005), ki so bili zaporedno ekstrahirani z 0,015 M KH_2PO_4	43
Preglednica 17: Vsebnost kroma v vzorcih sveže zemlje (Vranja Peč, leta 2005), ki so bili zaporedno ekstrahirani z 1 M NH_4Cl	44
Preglednica 18: Vsebnost kroma v vzorcih sveže zemlje (Vranja Peč, leta 2005), ki so bili zaporedno ekstrahirani z 0,1 M $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$	44
Preglednica 19: Vsebnost kroma v vzorcih sveže zemlje (Vranja Peč, leta 2005), ki so bili zaporedno ekstrahirani z 0,05 M Na - EDTA.....	44
Preglednica 20: Vsebnost kroma v vzorcih sveže zemlje (Vranja Peč, leta 2005), ki so bili zaporedno ekstrahirani z 1 M $\text{HONH}_2 \times \text{HCl}$	45
Preglednica 21: Vsebnost kroma v vzorcih sveže zemlje (Vranja Peč, leta 2005), ki so bili zaporedno ekstrahirani z 1 M HNO_3	45
Preglednica 22: Vsebnost kroma v frakciji preostanka (rezidualni Cr) izračunana po enačbi 4	45
Preglednica 23: Rezultati celokupne vsebnosti kroma v vzorcih zračno suhe zemlje (Vranja Peč, leta 2005), ki so bili razkrojeni z metodo mokrega razkroja pri normalnem tlaku	48
Preglednica 24: Vsebnost kroma in izračunani masni deleži kroma v posamezni frakciji, glede na celokupno vsebnost kroma v vzorcih zemlje (Vranja Peč, leta 2005) .	49
Preglednica 25: Rezultati vsebnosti kroma v slepih vzorcih.....	50
Preglednica 26: Rezultati vsebnosti kroma v analiziranih poljščinah (Vranja Peč, leta 2005)	50
Preglednica 27: Vsebnost vode in kroma v jedilnih delih rastlin (Souci in sod., 2000).....	51

KAZALO SLIK

Slika 1: Kovina kroma (Chromium, 2008).....	4
Slika 2: Krokoit (Jacobs in Testa, 2005: 8)	5
Slika 3: Kromit (Jacobs in Testa, 2005: 9)	5
Slika 4: Diagram redukcijskega potenciala za krom (Nieboer in Jusys, 1988: 25).....	8
Slika 5: Strukturni formuli biološko najpomembnejših oblik Cr(VI) pri pH 7,4 (Nieboer in Jusys, 1988: 30).....	9
Slika 6: Odvisnost vnosa Cr ⁶⁺ v sadike ječmena od pH vrednosti hranilnih raztopin (Shewry in Peterson, 1974: 787)	12
Slika 7: Koničasta sonda za odvzem talnih vzorcev.....	17
Slika 8: Lokacija odvzema vzorcev z oznako meje kartografskih enot digitalne pedološke karte Slovenije (Pedološka karta Slovenije, 2007).....	18
Slika 9: Slikovni prikaz postopkov stresanja, centrifugiranja in filtriranja.....	21
Slika 10: Sušenje vzorcev sveže zemlje	22
Slika 11: Princip segrevanja reakcijske mešanice pri mikrovalovni tehniki (Ojeda in Rojas, 2005: 153).....	25
Slika 12: Mikrovalovna pečica s teflonskimi lončki na vrtljivem pladnju.....	25
Slika 13: Princip absorpcijskega procesa (Jacobs in sod., 2005: 267)	30
Slika 14: Profil in lastnosti spektralne črte (Ivanova, 2005: 153)	30
Slika 15: Osnovna sestava AA spektrometra. (A) Enožarkovni spektrometer. (B) Dvožarkovni spektrometer (Ivanova, 2005: 154).....	31
Slika 16: Shema žarnice z votlo katodo (Harris, 1999: 628).....	32
Slika 17: Razprševalna komora (Harris, 1999: 619)	33
Slika 18: Shema prečnega prereza plamena pri PAAS (Skoog in sod, 1998: 208).....	34
Slika 19: Shema bočno grete kivete z ukrivljeno L'vovovo platformo (Harris, 1999: 621).....	34
Slika 20: Grafični prikaz segrevanja grafitne kivete	35
Slika 21: Elektrotermični atomski absorpcijski spekter vzorca z elementi X,Y in Z (Harris, 1999: 629).....	37
Slika 22: Atomski absorpcijski spektrometer, avtosampler in računalnik, ki so bili uporabljeni pri naših meritvah.....	39
Slika 23: Plamenski atomski absorpcijski spektrometer, ki smo ga uporabili pri naših meritvah.....	41

OKRAJŠAVE

Kratice - okrajšava	pomen
A	absorbanca
c	koncentracija
E _h	redoks potencial
ETAAS	elektrotermična atomska absorpcijska spektroskopija
ha	hektar
J	Joul
k-	kilo-
m-	mili-
M/M	molska masa/molarnost
mA	miliamper
MHz	megahertz
n-	nano-
p	tlak
p-	piko-
Pa	paskal
PA	(ang. pro analysis)
PAAS	plamenska atomska absorpcijska spektroskopija
ppb	(ang. parts per billion)
ppm	(ang. parts per million)
PSE	periodni sistem elementov
psi	(ang. pound per square inch)
rpm	(ang. rotate per minute)
SD	standardni odklon
SRM	standardni referenčni material
s.s.	suha snov
TAP	(ang. time at pressure)
V/V	volumen/volt
W	vat
μ-	mikro-

1 UVOD

Vnos industrijskih odpadkov v zemljo pogosto predstavlja večje količine potencialno škodljivih težkih kovin na kmetijskih površinah. Ali umetni vnos težkih kovin na kmetijske površine postane škodljiv za rast in razvoj rastlin, živali in ljudi, je odvisno od količine in kemijske oblike (Chang in sod., 1984). Vnesene količine so potencialno nevarne, v kolikor vplivajo na biološko dostopnost in mobilnost (Lake in sod., 1984).

Naša raziskava je nadaljevanje raziskave iz leta 1988, v kateri je Štupar in sod. proučeval vpliv onesnaževanja tal z usnjarskimi odpadki na njivi, ki so jo v letih 1967 - 1986 gnojili z odpadki kamniške usnjarske industrije Utok. Strojljne lužnice (kromove raztopine) se uporabljajo v usnjarstvu za strojenje kož. Stranski proizvod strojenja kož so tudi obreznine in ostružki kož. Ti produkti vsebujejo velike količine običajno 3 valentnega kroma. Težke kovine so po mnenju Sinhe in sod. (2006) največji problem usnjarskih odpadkov. Zaposleni v usnjarni, kot tudi okoliški kmetje so jih uporabljali za steljo pod živino. Tako so na koncu ostanki kož skupaj s hlevskim gnojem končali na njivah kot gnojilo, kar je pomenilo 300 - 400 kg Cr/ha/leto (Štupar in sod, 1991). Ostanki strojenih kož so zaradi velike vsebnosti dušika (~7 %) dobro gnojilo. So mnogo bolj stabilni kot neobdelane kože. Dolgotrajno razkrajanje kož pomeni konstantno sproščanje dušika v zemljo. Tako se je skozi leta koncentracija kroma v ornici povečala iz normalnih ~ 90 $\mu\text{g}_{\text{Cr}}/\text{g}$ do 1850 $\mu\text{g}_{\text{Cr}}/\text{g}$. Leta 1986 so inšpekcijske službe tovrstno početje prepovedale, saj so se začeli zavedati, da bi bilo lahko s tako vzgojenimi poljskimi pridelki in onesnaženo podtalnico ogroženo tudi zdravje ljudi in živali.

Analize na vsebnost kroma v tleh in rastlinah, vzgojenih na onesnaženih tleh, so že bile narejene pred dvajsetimi leti, ko je leta 1988 Štupar in sod. opravil raziskavo, v katero je zajel kvantitativne analize kroma v podzemni vodi, poljščinah in talnih vzorcih. Poskušal je določiti tudi kemijsko obliko kroma v vzorcih tal. Vzorce je jemal iz onesnaženih in neonesnaženih površin v vasi Vranja Peč nad Kamnikom. Ko je primerjal rezultate, je ugotovil, da voda, zbrana na onesnaženem polju, vsebuje 5 - 10 krat več kroma kot voda iz neonesnaženih površin. V nobenem primeru pa ni bila presežena takratna mejna vsebnost kroma v vodi. Vzorce tal so pokazali na 10 krat večjo vsebnost kroma v vrhnji plasti onesnažene zemlje v primerjavi z neonesnaženo. Vsebnost kroma v rastlinah je bila povečana posebej v koreninah, medtem ko je bilo v zgornjih delih rastlin povečanje kroma neznameno. V zaključku je izključil vsakršno bojazen za zdravstveno varstvo ljudi in živali, ki bi uživale vodo in pridelke iz onesnaženih površin.

Iz literature je znano, da krom težko prehaja iz zemlje v rastline in še težje v njihove plodove. Da bi ugotovili in primerjali vsebnost kroma v vzorcih, smo leta 2006 ponovili kvantitativne analize poljščin in talnih vzorcev. Vzorce so bili odvzeti na istih površinah kot leta 1988, le da naša analiza ni bila tako obsežna, saj smo se omejili samo na določanje kroma. Zajela je sedem vrst poljščin in pet talnih vzorcev.

Znano je, da krom v 3^+ obliki, vezan na nizkomolekularni protein, potencira delovanje isulina ter omogoča normalno presnovo glukoze in maščob v organizmu. Toksičnost Cr^{3+} nastopi le ob vnosu večjih količin. Popolnoma drugače deluje krom v 6^+ obliki, ki že pri nizkih vnosih zavira rast in razvoj rastlin, živali in ljudi. Ker sta obe kemijski obliki pod

določenimi pogoji v okolju stabilni, je za oceno tveganja potrebno poznati kemizem in vsebnost kroma v tleh in rastlinah in s tem povezano možnost prenosa v prehrambeno verigo.

1.1 CILJ NALOGE

Namen naloge je bil določiti celokupno vsebnost elementa kroma (Cr) v vzorcih poljščin in zemlje. V zemlji smo poskusili določiti/oceniti tudi posamezne kemijske oblike kroma, vezanega na različne snovi v zemlji. V poljščinah se krom običajno nahaja le v sledovih (mikroelement), medtem ko ga je v zemlji znatno (tudi 1000 krat) več. Iz dobljenih rezultatov smo ugotavljali, kakšno je onesnaženje rastlin in zemlje s kromom in kakšne so razlike v vsebnosti kroma glede na rezultate iz leta 1988 in druge literature.

1.2 DELOVNE HIPOTEZE

Predvidevali smo, da bomo z plamensko atomsko absorpcijsko spektroskopijo (PAAS) in elektrotermično atomsko absorpcijsko spektroskopijo (ETAAS) kvantitativno določili mikroelement (Cr) z vsebnostjo od 5 ng_{Cr}/g s.s. do 1000 µg_{Cr}/g s.s. Pričakovali smo, da se bo vsebnost elementa značilno razlikovala pri različnih vrstah poljščin in v različnih plasteh zemlje. Domnevali smo, da bodo vzorci poljščin iz območja, onesnaženega s kromom, vsebovali večje količine, kot so v literaturi navedene vrednosti za nekontaminirana tla. Vsebnost kroma naj bi se zmanjševala z globino zemlje. Prav tako naj bi bile v povprečju vse vsebnosti kroma manjše v primerjavi s predhodno (v letu 1988) izmerjenimi vrednostmi.

2 PREGLED OBJAV

2.1 KROM

2.1.1 Zgodovinski pregled

Leta 1766 je Rus J. G. Lehmann odkril v sibirskem rudniku Beresof nov mineral. Bil je svetlo rdeče - oranžne barve in znan kot *crocoite*. To je bila mešanica različnih kovin in njihovih oksidov. Francoz N. L. Vauquelin je leta 1797 uspel kovino izolirati in jo poimenoval krom (*chrom*). Ime prihaja iz stare grške besede *χρωμα*, kar pomeni barva. Prvi komercialni viri kromove rude (*chromite*) so bili v Rusiji in ZDA. V 19. stoletju so kromove soli uporabljali kot barvila za tekstil, usnje, porcelan in barve v rumenih, rdečih in zelenih odtenkih (Vauquelin; 1809, cit. po: Nriagu, 1988a).

Kljub zgodnjemu odkritju pa so na industrijsko rabo kroma morali čakati vse do leta 1908. Takrat so uspeli razviti metodo, s katero so očistili kovino do 99 %. Razvili so metode kromiranja drugih kovin in dodajanja kroma v zlitine. S tem so dosegali večjo trdnost, žilavost, ter toplotno, korozijsko in oksidacijsko odpornost. Tehnika strojenja kož s kromovimi preparati se je razvila sredi 19. stoletja (Nriagu, 1988a).

2.1.2 Fizikalnokemijske lastnosti, nahajanje, proizvodnja in uporaba kroma

2.1.2.1 Fizikalnokemijske lastnosti kroma

Krom je kovina, ki v PSE spada v 6B (stransko) skupino in periodo 4 prehodnih elementov. Simbol, ki ga označuje, je Cr. Ima atomsko število 24. Atomska masa dominantnega izotopa je 51,9961. V PSE je za vanadijem in pred manganom. Osnovna elektronska konfiguracija je $1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^6 4s^1 3d^5$. Od skupno štirih, sestavljajo tretjo lupino atoma d podlupine s petimi d orbitalami (element d-bloka). 13 elektronov v d orbitalah je na najvišjem energijskem nivoju in so odgovorni za reaktivnost kroma. Elektroni d orbital vežejo atome kroma v kubično kristalno razporeditev, ki je odgovorna za veličino naslednjih parametrov. Točka tališča se nahaja pri 1857 ± 20 °C. Vrelišče je pri 2672 °C. Gostota pri 20 °C znaša 7,19 g/cm³. Specifična toplotna kapaciteta je 0,451 J/gK. Toplotna prevodnost pri 27 °C pa 93,7 W/mK. Ionski radiji so pomembni pri ionski substituciji kromovih spojin. Velikosti so v intervalu od 0,040 nm za Cr(VI) do 0,094 nm za Cr(II). Radius nevtralnega atoma je 0,130 nm. Znane so spojine z vsemi možnimi oksidacijskimi števili od -2 do +6. Oksidacijska stanja določajo s kom in kako se bodo Cr spojine formirale. Danes poznamo 26 izotopov. Od Cr⁴² do Cr⁶⁷. Od teh so Cr⁵⁰, Cr⁵², Cr⁵³ in Cr⁵⁴ naravno prisotni, neradioaktivni in stabilni. Prevladujoč Cr⁵² se pojavlja v 83,7 % (Motzer, 2005; Weast, 1975).



Slika 1: Kovina kroma (Chromium, 2008)

Schröter in sod. (1993) je krom opisal kot modrikasto belo, svetlečo, krhko in zelo trdo kovino (Slika 1). Kromove spojine so svetle in zajemajo rumeno, oranžno, rdečo in zeleno barvo. Ker so nekajkrat gostejše od vode, se ob nasičenju raztopin oborijo in potonejo (Motzer, 2005).

2.1.2.2 Nahajanje kroma v naravi

Naravna nahajanja kroma in njegovih spojin so v atmosferi, vodah in zemlji (Testa, 2005). Je ubikvitaren element (Shewry in Peterson, 1974). Najdena so bila tri naravna oksidacijska stanja: Cr(0), Cr(III) in Cr(VI) (Motzer, 2005).

V atmosfero prihaja krom od tal z vetrom, vulkanskimi aktivnostmi, gozdnimi požari, meteorskimi padavinami in razpršeno morską soljo (Testa, 2005). Naravne koncentracije v atmosferi variirajo od $50 \text{ pg}_{\text{Cr}}/\text{m}^3$ do $300 \text{ ng}_{\text{Cr}}/\text{m}^3$. Največ je Cr(VI), kar je posledica oksidacije v atmosferi (Motzer, 2005).

Naravni vodni sistemi vsebujejo krom le v sledovih. Povprečne koncentracije, ki jih je objavil Motzer (2005), so: $0,2 - 1 \text{ ng}_{\text{Cr}}/\text{ml}$ za deževnico, $0,5 - 2 \text{ ng}_{\text{Cr}}/\text{ml}$ za površinske vode, $< 1 \text{ ng}_{\text{Cr}}/\text{ml}$ za podtalnico in $0,3 \text{ ng}_{\text{Cr}}/\text{ml}$ za morską vodo. Pretežno je to Cr(III), ki je pri nevtralnem pH težko mobilen (Testa, 2005).

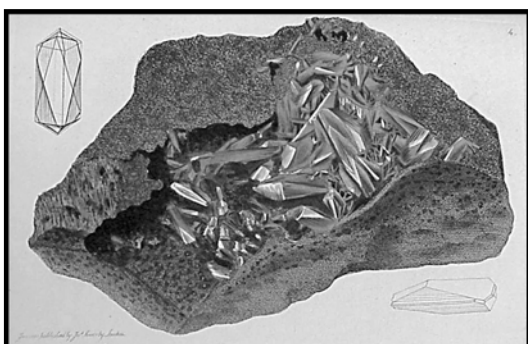
V planetu Zemlja je vsebnost kroma relativno velika. Povprečna vsebnost je $3700 \text{ } \mu\text{g}_{\text{Cr}}/\text{g}$. Večina je naloženega v jedru in plašču planeta kot Cr_2O_3 . V skorji Zemlje znaša povprečna koncentracija $100 - 140 \text{ } \mu\text{g}_{\text{Cr}}/\text{g}$. Najdemo ga vezanega na kamenine, minerale in le redko kot čisto kovino - element Cr(0) (Nriagu, 1988b; Testa, 2005). Nekaj geoloških nahajanj je navedeno v preglednici 1.

Preglednica 1: Povprečna vsebnost kroma v različnih geoloških materialih (Nriagu, 1988b: 82)

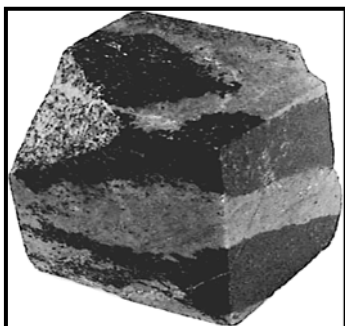
Različni materiali	Povprečna vsebnost kroma [$\mu\text{g}_{\text{Cr}}/\text{g}$]
ultramafične kamnine	2400
vulkanske kamnine	200
sediment morske vode	80
apnenec	9
celinska skorja (vremenski vplivi)	55
celinska skorja (brez vremenskih vplivov)	100
oceanska skorja	300
plašč	~ 3000
jedro	5200 - 12100

Motzer (2005) navaja podatek o 82 poznanih mineralih. Večina ji pripada skupinam oksidov, hidroksidov, karbonatov, sulfidov, boratov, kromatov in silikatov.

Industrijsko in ekonomsko je najpomembnejši kromit (slika 3), ki pripada skupini oksidov. Njegova kemijska struktura lahko močno variira, ker je mešanica Mg-Fe-Al-Cr oksidov. Uradna formula je FeCr_2O_4 . Uporablja se kot kromova ruda. Manj pogost mineral, a vseeno gospodarsko pomemben, je krokoit (slika 2). Kemijska formula je PbCrO_4 . Ocenjena količina kromove rude v znanih nahajališčih je 10,9 milijard ton. Ta količina naj bi dala 600 milijonov ton kovine kroma (Motzer, 2005; Nriagu, 1988b; Testa, 2005).



Slika 2: Krokoit (Jacobs in Testa, 2005: 8)



Slika 3: Kromit (Jacobs in Testa, 2005: 9)

2.1.2.3 Poizvodnja kroma

Krom je ena ključnih kovin tehnološko razvite družbe (Nriagu, 1988b). Testa (2005) govori o proizvodnji 10,16 milijonov ton kroma letno in proizvodnja se vsako desetletje podvoji. Ker je krom v rudi vedno v oksidirani obliki (Cr^{n+}), ga je potrebno reducirati, da dobimo čisto kovino. Redukcija je lažja z uporabo reductentov kot so ogljik, aluminij in silicij. Lahko se izvede na trdih kromovih oksidih, kot tudi v tekoči obliki (Williams, 2001).

2.1.2.4 Uporaba kroma

Največje porabnice kroma so metalurgija, elektrotehnika, vojaška in kemična industrija. Metalurgija uporablja predvsem elementaren Cr(0) in ferokrom za nerjaveča jekla, ki so zaradi svojih lastnosti široko zastopana v našem vsakdanjiku (orodja, kuhinjska in medicinska oprema). Kemična industrija pozna in proizvaja preko 70 kromovih spojin (Nriagu, 1988b). Za sintezo teh se večinoma uporablja natrijev dikromat (Motzer, 2005). Preglednica 2 prikazuje nekatere kromove spojine in njihovo uporabnost.

Preglednica 2: Uporabnost nekaterih kromovih spojin (Nriagu, 1988b: 97)

Ime	Formula	Uporaba
kromov sulfat	$\text{Cr}(\text{OH})(\text{SO}_4)$	strojenje kož v usnjarstvu
svinčev kromat	PbCrO_4	pigmenti za kovinske barve
kromova kislina	H_2CrO_4	katalizator kem. reakcij
kromov klorid	CrCl_3	kromiranje kovin
kromov oksid	CrO_2	magnetni trakovi
kromov acetat	$\text{Cr}(\text{OCOCH}_3)_3 \times \text{XH}_2\text{O}$	tiskanje in barvanje tekstila
barijev kromat	BaCrO_4	eksplozivna telesa
kalijev dikromat	$\text{K}_2\text{Cr}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$	fotografska in grafična ind.

Pri proizvodnji usnja je najpomembnejša stopnja strojenje. V rotirajočih bobnih se kožam doda voda in preparat za strojene. Pri tem nastajajo tako trdni kot tekoči odpadki. Zaradi ekonomičnosti in praktičnosti se je uveljavil kromov(III) hidrogen sulfat ($\text{Cr}(\text{HSO}_4)_3$). V reakciji kolagen veže krom, ki zaščiti kožo pred nadaljnjim razpadanjem in ji da željeno mehansko in toplotno odpornost (Bossche in sod., 2005). Živilska industrija ga uporablja kot zaščitno sredstvo v embalaži proizvodov. Agronomija in medicina ga uporabljata zaradi biocidnega učinka. Motornim oljem ga dodajajo kot antikorozivno sredstvo. S kromovimi spojinami se obdeluje tudi porcelan in steklo, ki dajo izdelkom poleg zelene barve še večjo trdnost (Nriagu, 1988b).

2.1.3 Krom kot onesnaževalec okolja

V letu 2000 je ameriška agencija za zaščito okolja (USEPA) v letnem poročilu objavila najpogostejše onesnaževalce iz vrst težkih kovin. Sledijo si v naslednjem vrstnem redu: Pb, Cr, As, Zn, Cd, Cu, Hg (Testa, 2005).

Onesnaževanje atmosfere se v največji meri nanaša na trdne delce, v katerih je vezan krom. Glavni viri emisij sta metalurška in kemična industrija. 41,4 % kromovih emisij prihaja iz železarske industrije, kateri sledijo cementarne, rafinerije in promet. Cr(III) je

emitiran iz sežigalnic naftnih derivatov, blata, mestnih odpadkov, cementarn in kamnolomov. Cr(VI) emisije izvirajo iz kromiranja z elektrolizo, notranjih oblog talilnic in peči, pigmentov v lesni, letalski in steklarski industriji. (Pacyna in Nriagu, 1988; Testa, 2005).

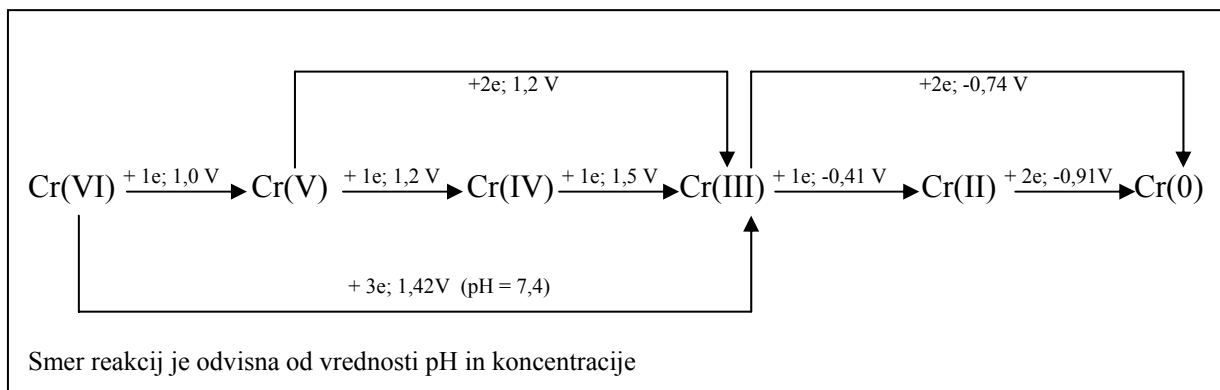
Vsebnost kroma v vodah je močno odvisna od pH in E_h parametrov. Medtem ko pH vpliva na mobilnost in ne na toksičnost, E_h vpliva na obe lastnosti kroma. Slabo mobilna oblika Cr(III) obstaja pod redukcijskimi pogoji in mobilna oblika Cr(VI) pod oksidacijskimi pogoji. Ker se Cr(VI) zlahka reducira v Cr(III), je redoks manipulacija pogosta metoda imobilizacije kroma. Rezultat tega je sedimentacija (Testa, 2005). Onesnaževanje površinskih voda je posledica odplak iz jeklarske, usnjarske, lesne, tekstilne industrije (Sueker, 2006). Cr(III), ki prihaja z odplakami iz usnjarn v vodni nevtralni medij tvori netopne okside, hidrokside in fosfate (Bossche in sod., 2005).

Največji odstotek kromove kontaminacije je v tleh. Viri kontaminacije s Cr(III) v kmetijstvu izhajajo iz umetnih gnojil (30 - 3000 mg/kg), apnenca (10 mg/kg) in živalskega gnoja. Cr(VI) kot H_2CrO_4 in $Na_2Cr_2O_7$ se uporablja v fungicidih in insekticidih. Krom prispel iz mestnih in industrijskih odplak se koncentrira v blatu. Od tu se Cr(III) lahko skoraj v celoti odstrani, medtem ko je pri Cr(VI) ta odstotek od 26 - 48 % (Testa, 2005). Iz rudnikov in talilnic prihaja velika količina ostankov rude, ki so jo uporabljali v gradbeništvu in okoljskih ureditvah. Od tu se krom še danes spira v zemljo in podtalnico (Sueker, 2006). Povišane vsebnosti kroma so zaznali v okolici izgorevanja premogov, saj pepel vsebuje 10 krat več kroma kot premog. Površine ob prometnicah dobijo krom iz zavornih in katalizator sistemov. 80 % kroma vnesenega v zemljo se tudi po 45 letih zadrži v kultivacijski plasti (Testa, 2005). Usnjarske odpadke so mnoge vladne organizacije spoznale kot nenevarne. Zato jih je dovoljeno uporabljati v kmetijstvu brez posebnih omejitev (Bossche in sod., 2005).

V Sloveniji velja uredba o mejnih vrednostih vnosa nevarnih snovi in gnojil v tla (Uredba o mejnih vrednostih ..., 2005). Ureja vnos hlevskega gnoja, gnojevke, blata, humusa in mulja v tla. Letni vnos v tla ne sme presegati mejne vrednosti, ki je za celokupni krom 2,5 kg_{Cr}/ha in Cr^{6+} 0,25 kg_{Cr}/ha . Uredba o ravnanju z odpadki (Uredba o ravnanju ..., 2008) obravnava odpadke iz industrije usnja kot nevarne, katerih obdelavo lahko izvaja samo organizacija z okoljevarstvenim dovoljenjem ministrstva za okolje in prostor. Po uredbi o vrsti dejavnosti in naprav, ki lahko povzročajo onesnaževanje okolja večjega obsega (Uredba o vrsti ..., 2004), so lahko nosilci dejavnosti in naprav za strojenje kož povzročitelji onesnaževanja okolja večjega obsega, če imajo proizvodne zmogljivosti več kot 12 t izdelkov/dan. Za obratovanje morajo pridobiti okoljevarstveno dovoljenje. Zakonodaja v RS predpisuje za proizvodnjo usnja samo mejne vrednosti emisiji pri odvajanju industrijske odpadne vode. Uredba o emisiji snovi in toplote pri odvajanju odpadne vode iz naprav za proizvodnjo usnja in krzna (Uredba o emisiji ..., 2007) za neposredno in posredno odvajanje odplak v vode predpisuje mejne vrednosti celokupnega kroma 1 mg_{Cr}/l in Cr^{6+} 0,1 mg_{Cr}/l .

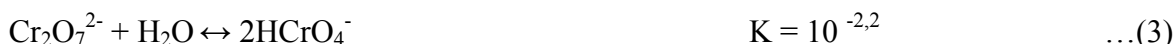
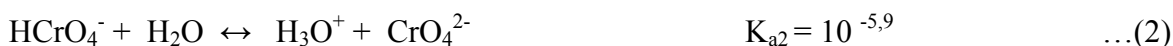
2.2 KEMIZEM KROMA

Razlikovanje med anionskimi in kationskimi oblikami je ključno za razumevanje bioloških učinkov kroma. Krom obstaja v številnih oksidacijskih stanjih, ki med seboj niso enako stabilne. Kot je prikazano v sliki 4, kažejo pozitivne vrednosti E^0 , da so reducirane oblike bolj pogoste, reakcija gre v desno, negativne vrednosti E^0 kažejo, da so oksidirane oblike relativno bolj stabilne (Nieboer in Jusys, 1988). Tako kot druge kovine tudi krom tvori soli. Te tvorijo v vodnih raztopinah ionske komplekse ali poliatomske ione, ki so različno nabiti (Motzer, 2005).



Slika 4: Diagram redukcijskega potenciala za krom (Nieboer in Jusys, 1988: 25)

Cr(VI) je močno oksidiran in obstaja samo v oksidnih oblikah kot so CrO_3 , CrO_4^{2-} , CrO_2Cl_2 . Kromov (VI) oksid CrO_3 je rdeča kristalinična snov s polimerno zgradbo. Je močan oksidant in dobro topen v vodi (625,3 g/l pri 20 °C) in bazičnih raztopinah. Topnost v kislem mediju je odvisna od pH in koncentracije. H_2CrO_4 v vodni raztopini močno disociira. Pri pH pod 1 je ta oblika v večini. Monohidrogen kromatni ion (HCrO_4^-) se obnaša kot šibka kislina. Je dominantna oblika med pH 1 in 6. Redukcijo v kislem spremlja poraba H^+ ionov, zato gre reakcija v desno. Kromatni ion (CrO_4^{2-}) prevladuje pri pH nad 6. V bazičnem mediju redukcijo CrO_4^{2-} iona poganjajo hidroksidni ioni proti svojemu gradientu. V kislem mediju je ob prisotnosti donorjev elektronov (Fe^{2+}) in organskih molekul (alkohol, aldehyd) nestabilen. CrO_4^{2-} se kot anion proti kovinskim ionom kot so Cu^{2+} , Fe^{3+} , Cr^{3+} in Cr^{4+} obnaša kot ligand. Pri koncentracijah nad 10^{-2} M se iz HCrO_4^- iona tvori dimer dikromatni ion ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$). Ta pa zaradi koncentracije pod 10^{-2} M in fiziološkega pH 7,4 v bioloških sistemih ni prisoten. Spodnje ravnotežne kemijske reakcijske enačbe prikazujejo obnašanje Cr(VI) v vodnih raztopinah (Lazarini in Brenčič, 1989; Nieboer in Jusys, 1988).



V vodi so kromati (slika 5) in dikromati v ravnotežju. Kromati so rumene, dikromati pa oranžne barve. Kromati vezani s kovinskimi ioni kot so: Pb^{+2} , Zn^{+2} , Ba^{+2} , Ca^{+2} , K^+ , Na^+ , so v vodi topni v območju od 10^{-4} do 2000 g/l. Pri tem igra vlogo poleg pH tudi temperatura. Biološki mediji imajo visoko afiniteto do kovinskih ionov in vsebujejo

redukcijske agense, ki reagirajo s kromati. Po sprostitvi se vežejo v vodi topne komplekse. V močno kisli raztopini je kromat (kot tudi dikromat) močan oksidant. Z višjim pH se mu oksidacijska moč zmanjša. Kljub temu je pri fiziološkem pH zmožen oksidirati nizkomolekularne reduktante (glutatione, maščobne kisline) in proteine. To so reakcije drugega reda in so odvisne od koncentracije kromata in reduktanta. Glutation, ki ima visok intracelularni nivo (0,8 - 8 mmol/l), naj bi bil glavni reaktant, ki pretvarja kromat v Cr(III). Kemično je težko ločiti atome kisika od kromatnega iona. V tem smislu je kromat kinetično stabilen. Drugače je z monohidrogen karbonatnim ionom (slika 5), ki tvori estrske vezi z drugimi -OH ali -SH vsebujočimi molekulami (HSO_4^- , R-SH, R-COOH). Tak primer je zgornja enačba 3. Tvorba estrov dominira v kislem mediju. V fiziološkem pH okolju je manj pogosta, kar je posledica nižje koncentracije HCrO_4^- . Razmerje $\text{HCrO}_4^- : \text{CrO}_4^{2-}$ pri pH 7,4 je približno 1 : 32 (Lazarini in Brenčič, 1989; Nieboer in Jusys, 1988).



Slika 5: Strukturni formuli biološko najpomembnejših oblik Cr(VI) pri pH 7,4 (Nieboer in Jusys, 1988: 30)

Kromove (III) spojine so zelene barve. Najpogosteje jih pripravimo z redukcijo Cr(VI) oksidov, kromatov in dikromatov (Lazarini in Brenčič, 1989). Iz slike 4 je razvidno, da je v vodni raztopini najbolj stabilen Cr(III). Sposobnost Cr(III) za tvorbo oksidov in hidroksidov je znatno nižja v primerjavi s Cr(VI). Znani so kompleksi Cr(III) z ligandi, ki imajo atome kisika (voda, fenoli, fosfati), dušika (amoniak, amini, purinske baze) ali žvepla kot točko vezave. Lahko se obnaša kot donor ali akceptor elektronov, zato tvori raznovrstne komplekse. Veliko vrst kompleksov Cr(III) je kinetično močno inertnih. V raztopini so stabilni in jih je moč izolirati. Disociacija Cr(III) kompleksov pri sobni temperaturi traja več ur, medtem ko pri večini kovinskih ionov od 10^9 do 10^3 sekunde. Načeloma hidrirani Cr(III) ioni ($\text{Cr}(\text{OH}_2)_6^{3+}$) ne reagirajo. Z vključitvijo kemijskih katalizatorjev, agresivnejših ligandov in povišano temperaturo tudi substitucijsko inertni kompleksi spremenijo primarno strukturo. Kot ostali trivalentni kovinski ioni ima tudi hidrirani Cr(III) ion tendenco hidrolize. Molekula vode se pretvori v hidroksidni ion z oddajo protona. Identificirane so bile vrste, kot so $\text{Cr}(\text{OH})^{2+}$, $\text{Cr}(\text{OH})_2^+$, $\text{Cr}(\text{OH})_3(\text{s})$, $\text{Cr}_2(\text{OH})_2^{4+}$, $\text{Cr}_3(\text{OH})_4^{5+}$ in $\text{Cr}_4(\text{OH})_6^{6+}$. Pri pH 4 hidrolizira polovica $\text{Cr}(\text{OH}_2)_6^{3+}$ ionov v monohidroksi kompleks $\text{Cr}(\text{OH})^{2+}$. $\text{Cr}(\text{OH})_2^+$ dominira pri pH 7 in amfoteren $\text{Cr}(\text{OH})_3(\text{s})$ pri $\text{pH} \geq 8$. Procese hidrolize Cr(III) prepreči raztopina z $\text{pH} \leq 3$. Hidrolizo pogosto spremlja polimerizacija, kjer se ioni kroma povezujejo z hidroksilnimi mostički. Cr(III) je po velikosti in nabitosti analog Fe(III) ionu, zato ga zamenjuje v mnogih molekulah. Topnost Cr(III) kompleksov v vodi je zelo različna. Netopni kromov (III) oksid Cr_2O_3 , preko slabo topnih anhidriranih kompleksov (CrBr_3 , $\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_3$), do dobro topnih hidriranih oblik, kot je $(\text{Cr}[\text{H}_2\text{O}]_4\text{Cl}_2)\text{Cl} \times 2\text{H}_2\text{O}$ (Nieboer in Jusys, 1988).

Čista kovina kroma se ekstremno zlahka oksidira z atmosferskim kisikom do kromovega (III) oksida Cr_2O_3 . Zato je skoraj nemogoče obdržati čisti krom v kisikovi atmosferi

(Motzer, 2005). Cr(II) spojine so močni reducenti in se v vodi oksidirajo do Cr(III) ob sprostitvi vodika. Reakcija je odvisna od pH. S kisikom Cr(II) reagira hitro, zato take raztopine vzdržujemo pod strogimi anaerobnimi pogoji. Podobno nestabilni sta obliki kroma (IV) in (V). Pojavljata se kot intermedijata pri redukciji Cr(VI) v Cr(III). Cr(V) kot CrO_4^{3-} anion je dovolj obstojen, da ga dokažemo. Poznamo tudi nekaj stabilnih Cr(V) spojin. V naravi Cr(IV) spojin praktično ni, vendar se nekaj stabilnih formacij, kot je CrO_2 , proizvaja v industriji. V organokromovih spojinah ima krom navadno nizko oksidacijsko stopnjo (-2, -1, 0, +1). Kemijska vez se vzpostavi med ogljikom in kovino. Čeprav so v vodi netopni, so občutljivi na zrak in vlago. Primer organokromove spojine je $\text{Cr}(\text{CO})_6(\text{s})$, ki pri sobni temperaturi šibko sublimira. Poznane so tudi peroksi spojine. Peroksikromati(VI) se tvorijo pri 0 °C v kisli raztopini dikromata z dodatkom vodikovega peroksida. Z halogenimi elementi lahko sintetiziramo halogenide kroma. Reakcija poteče pri visoki temperaturi. Pomembnejši halogenidi so CrF_6 , CrCl_3 , CrBr_3 (Lazarini in Brenčič, 1989; Nieboer in Jusys, 1988).

2.3 KROM V TLEH

Vsebnost kroma v tleh je primarno odvisna od vsebnosti in formaciji v spodnjih plasteh zemljinega plašča. Vsebnosti močno variirajo (1 - več 1000 $\text{mg}_{\text{Cr}}/\text{kg}$). Svetovno povprečje je bilo ocenjeno na 200 $\text{mg}_{\text{Cr}}/\text{kg}$ prsti. Pri vrednotenju količine kroma se uporabljata izraza naravno in normalno ozadje. Naravno ozadje je posledica naravnih migracij kroma. Služi kot referenčna točka pri ugotavljanju obsega onesnaženosti. Normalno ozadje predstavlja trenutno koncentracijo v okolju. Ta pa je močno odvisna od človeške aktivnosti skozi zgodovino (Motzer, 2005). Smith in sod. (1989) je sedimente razdelil v tri razrede:

- nemineralizirana tla (23 - 100 $\text{mg}_{\text{Cr}}/\text{kg}$),
- mineralizirana (peščena) tla (750 - 10.000 $\text{mg}_{\text{Cr}}/\text{kg}$),
- onesnažena tla in industrijski odpadki (900 - 40.000 $\text{mg}_{\text{Cr}}/\text{kg}$).

V prsti je krom običajno v Cr(VI) in Cr(III) oblikah. Oblike Cr(VI) v prsti so: HCrO_4^- pri $\text{pH} < 6,5$, CrO_4^{2-} pri $\text{pH} > 6,5$ in pri višjih koncentracijah ob nizkem pH $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$. V nevtralnih do bazičnih prstih je Cr(VI) večinoma topen v vodi. Ker sta HCrO_4^- in CrO_4^{2-} najbolj mobilni obliki, se zlahka spirata v nižje plasti in povzročata onesnaževanje podtalnic in vodotokov. Manjša količina Cr(VI) se v prsti veže. Vežava je pogojena z mineraloško sestavo ter pH prsti. CrO_4^{2-} se adsorbira na železove, aluminijeve okside, hidrokside, organske spojine ter druge koloide s pozitivno nabitimi površinami. S tem so zaščiteni pred redukcijo. Ker je Cr(VI) anion, je adsorpcija omejena z množino pozitivno nabitih izmenjalnih strani. Iz tega sledi, da je adsorpcija učinkovitejša v kisli do nevtralnih prstih in je reverzibilen proces. Prosti železov in manganov oksid v glinasti prsti močno zavirata mobilnost Cr(VI). Vpliv Cl^- in NO_3^- ima rahlo pozitiven vpliv na adsorpcijo, medtem ko jo SO_4^{2-} in PO_4^{3-} zavirata. Za Cr(VI) velja, da je edina kovina, ki je visoko mobilna v alkalnih prstih (Statin, 2005). Na koncu je potrebno poudariti, da Cr(VI) ostane mobilan samo kadar koncentracija preseže adsorpcijsko in redukcijsko kapaciteto prsti, je zapisal Smith in sod. (1989). To je potrdil tudi Sinha in sod. (2006), ki navaja, da fizikalnokemijske lastnosti zemlje vplivajo na topnost in s tem dostopnost Cr rastlinam.

Krom v prsti je večinoma zastopan kot netopen $\text{Cr}(\text{OH})_3$ ali kot adsorbiran $\text{Cr}(\text{III})$ na spojine, ki preprečujejo spiranje proti podtalnici. $\text{Cr}(\text{III})$, ki se ne veže s trdno fazo, se v vodni fazi večinoma obori, kar ne velja za $\text{Cr}(\text{VI})$. Reakcije obarjanja so tesno povezane z redoks reakcijami. Tako v anaerobnih pogojih prevladuje $\text{Cr}(\text{OH})_3$. Oblika $\text{Cr}(\text{III})$ je močno odvisna od pH. Smith in sod. (1989) je objavil, da se nad pH 4 topnost močno zmanjša in nad pH 5,5 sledi popolna oborjenost. V kislih tleh (pH okoli 4) sta v ravnotežju $\text{Cr}(\text{OH}_2)_6^{3+}$ in $\text{Cr}(\text{OH})^{2+}$. Oba sta topna, vendar se zlahka adsorbirata na glinaste minerale. Glinasti minerali oz. alumosilikati so v osnovi iz AlO_4 in SiO_4 , ki v svojo strukturo radi vežejo Mg, Fe, Mn okside/hidrokside. Adsorpcija je intenzivnejša pri višjem pH, ki poveča negativni naboj na glinastih mineralih. Humične kisline, ki so glavni sestavni del naravnih organskih snovi tvorijo stabilne, netopne in nereaktivne $\text{Cr}(\text{III})$ komplekse. Na drugi strani tvorita citronska in fulvična kislina topne $\text{Cr}(\text{III})$ komplekse in preprečujeta oksidacijo v $\text{Cr}(\text{VI})$ (Statin, 2005; Clay minerals, 2008).

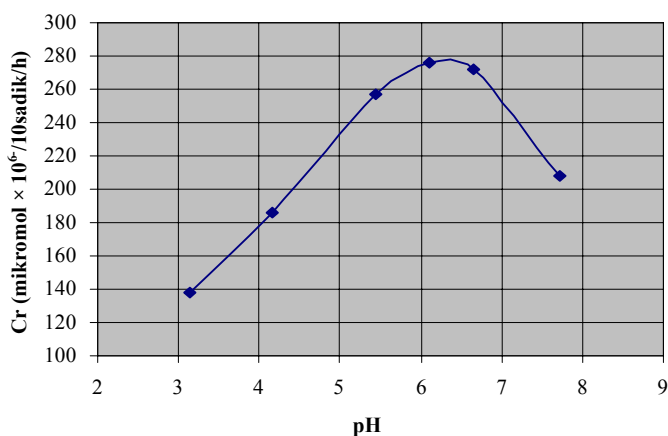
Oksidacijsko redukcijske aktivnosti kroma v tleh so odvisne od pH, koncentracije kisika, prisotnosti primernih reductentov, ligandov in katalizatorjev. Mobilne oblike $\text{Cr}(\text{VI})$ se reducirajo z reductenti, kot so $\text{Fe}(\text{II})$, S^{2-} in organske snovi. Redukcija se pospeši z nižjim pH, medtem ko se v aerobnih pogojih upočasnjuje. Primarni donorji elektronov pri normalnih pH vrednostih in temperaturah so organske snovi. Ob odsotnosti teh $\text{Fe}(\text{II})$ vsebujoči minerali reducirajo $\text{Cr}(\text{VI})$. Testi so pokazali, da ta redukcija poteka pri pH prsti < 5 . Poleg tega je redukcija z $\text{Fe}(\text{II})$ učinkovitejša v anaerobnih pogojih, saj kisik oksidira $\text{Fe}(\text{II})$. Velika vsebnost kroma v tleh lahko hitro preseže redukcijsko kapaciteto zemlje in tako ostane v $\text{Cr}(\text{VI})$ oblikah. Zaradi opisanih lastnosti je CrO_4^{2-} v peščeni in organsko siromašni prsti relativno stabilen in mobilan. Pod določenimi pogoji lahko poteče oksidacija $\text{Cr}(\text{III})$, vendar je v prsti malo oksidantov sposobnih oksidirati $\text{Cr}(\text{III})$. Tak oksidant je MnO_2 , ki za potek reakcije zahteva aerobne pogoje. Če se raztopina $\text{Cr}(\text{III})$ doda prsti, se del topnega $\text{Cr}(\text{III})$ oksidira z MnO_2 , ostalo se veže v komplekse z organskimi snovmi. Oksidacija s kisikom se je izkazala kot nepomembna (Statin, 2005).

Pri analizi zemlje z njive, ki je bila dalj časa gnojena z odpadki iz usnjarn, so ugotovili spremembo nekaterih fizikalnokemijskih parametrov v primerjavi z negnojenimi. Povečana je bila količina dostopnega fosforja, organskega ogljika in izmenljivih kationov (Ca, Na, K, Mg). Nespremenjeni parametri so bili pH, kapaciteta zadrževanja vode in organska snov. Nižja sta bila redoks potencial in kationska izmenjalna kapaciteta. Poleg kroma so bile povečane tudi vsebnosti drugih težkih kovin (Zn, Mn, Cu, Ni,). Višje so bile koncentracije rastlinam dostopnih oblik kovin (Sinha in sod. 2006). Bossche in sod. (2005) je mnenja, da zaradi svoje netopnosti v vodi, usnjarski krom v tleh nima pomembnega vpliva na rastline. Chang in sod. (1984) ugotavlja, da več let po zadnjem vnosu v tla težke kovine ostanejo v površinskem sloju, vendar jih je le majhen odstotek dostopen rastlinam in ta se z leti še znižuje.

2.4 KROM V RASTLINAH

Poznavanje oblik kroma je ključno za razumevanje, kako se rastline odzivajo na absolutne vsebnosti kroma v okolju (Bartlett in James, 1988). Krom je element, ki je za rastline toksičen, če je prisoten v velikih koncentracijah (Chatterjee J. in Chatterjee C., 2000), s tem da je $\text{Cr}(\text{VI})$ zaradi svoje mobilnosti in aktivnega prehoda v celico bolj toksičen kot

Cr(III) (Smith in sod., 1989). Sinha in sod. (2006) misli, da ni korelacije med celokupnim Cr v zemlji in rastlinah. Podobno meni Peterson (1975), ki dodaja, da nekatere rastline ne zrcalijo elementarne sestave tal. Poleg tega na vnos in transport vplivajo še faktorji, kot so pH, vrsta rastline, sestava tal in klimatski pogoji (Sinha in sod., 2006). Shewry in Peterson (1974) sta preučevala vpliv kislosti na vnos kroma. Sadike ječmena sta izpostavila raztopini CrO_4^{2-} . Rezultate prikazuje slika 6.



Slika 6: Odvisnost vnosa Cr^{6+} v sadike ječmena od pH vrednosti hranilnih raztopin (Shewry in Peterson, 1974: 787)

Preučila sta vpliv še nekaterih parametrov, katerih rezultati so navedeni v preglednici 3.

Preglednica 3: Odziv vnosa in transporta kroma na nekatere izpostave (Shewry in Peterson, 1974)

Parameter	Vnos Cr	Transport Cr	Opombe
čas	ni vpliva	ni vpliva	vrednosti so konstantne in linearne
Ca ioni	višji za 50%	ni vpliva	-
K ioni	ni vpliva	ni vpliva	-
Cl ioni	ni vpliva	ni vpliva	-
SO_4^{2-} ioni	nižji	ni vpliva	posledica tekmovalnosti med SO_4^{2-} in CrO_4^{2-} ob vnosu
stradanje	višji	ni vpliva	stradanje daljše do 48 ur negativno vpliva na vnos

Kljub objavam o stimulatornem učinku na rast, krom ni esencialen element za rastlinske celice. Večina vnesenega kroma ostane v koreninah. Peterso in Shewry (1974) sta lokalizirala krom v celicah korenin. 22,6 % celična stena, 2,9 % mitohondriji, 1,2 % mikrosomi in 73,7 % topen v vakuolah. Listnati organi običajno vsebujejo višje koncentracije kot plodovi, vendar tudi pri visokih talnih vrednostih ne presežejo $1 \mu\text{g}_{\text{Cr}}/\text{g}$. Vsebnosti Cr v rastlinah lahko v odvisnosti od sestave tal presežejo $100 \mu\text{g}_{\text{Cr}}/\text{g}$. Ta podatek velja za rastline vzgojene na peščenih ali onesnaženih tleh z mobilnim Cr(VI). Na drugi strani so vsebnosti kroma v rastlinah vzgojenih na tleh z dodatkom s Cr bogatega odpadnega blata komaj nad običajno vrednostjo. To je posledica tvorbe stabilnih Cr(III) organskih kompleksov v prsti (Smith in sod., 1989).

Tomas in sod. (1974) je objavil izsledke analiz nekaterih užitnih rastlin. Rastline so bile vzgojene na neindustrijskih površinah s povprečno koncentracijo $100 \text{ mg}_{\text{Cr}}/\text{kg}$. Rezultati so podani v preglednici 4.

Preglednica 4: Celokupne vsebnosti kroma v jedilnih delih rastlin (Tomas in sod., 1974: 774)

Rastlina/plod	Vsebnosti kroma	
	Interval [$\mu\text{g}_{\text{Cr}}/\text{g}$]	Povprečje [$\mu\text{g}_{\text{Cr}}/\text{g}$]
čebula	0,04 - 0,83	0,19
endivija	0,12 - 0,21	0,17
koleraba	< 0,01 - 0,19	0,09
rdeča pesa	0,04 - 0,12	0,08
špinača	0,12 - 0,28	0,20
zelena	0,08 - 0,12	0,11
zelje	0,05 - 0,29	0,15

Povprečna koncentracija Cr v vseh analiziranih vzorcih je bila $0,15 \mu\text{g}_{\text{Cr}}/\text{g}$. Ob tem avtor navaja, da so nekatere vrednosti podane v literaturi nižje, kar je lahko posledica napak analitičnega postopka in sezonskih nihanj. Vnos Cr(III) je v večji meri pasiven proces pogojen s kationsko izmenjalno kapaciteto celičnih sten. Vnos Cr(VI) je metaboličen, po sulfatni verigi reakcij. Tako naj bi se transportiral tudi po rastlini. Krom naj bi se v rastlini vezal v trioksalat Cr(III) podobni snovi, medtem ko se ga nekaj veže še v celične organele ter topne proteine (Smith in sod., 1989). Ker je količina rastlinam dostopnega, v vodi topnega kroma največkrat ekstremno majhna, se to odraža na koncentracijah v rastlinah (Smith in sod., 1989). Tudi Sinha in sod. (2006) navaja premosorazmerno odvisnost akumulacije od količine biodostopnih oblik kovin.

Zayed in sod. (1998) je šel z raziskavami še dlje. V prvi raziskavi je sedem dni rastline gojil v raztopinah z $1 \text{ mg}_{\text{Cr}}/\text{l}$. Vir Cr^{3+} je bil CrCl_3 in Cr^{6+} K_2CrO_4 .

Preglednica 5: Odvisnost vnosa in transporta od kemijske oblike kroma (Zayed in sod., 1998)

Rastlina	CrO_4^{2-}			Cr^{3+}		
	Korenine [$\mu\text{g}_{\text{Cr}}/\text{g s.s.}$]	Poganjki [$\mu\text{g}_{\text{Cr}}/\text{g s.s.}$]	Poga./koren.	Korenine [$\mu\text{g}_{\text{Cr}}/\text{g s.s.}$]	Poganjki [$\mu\text{g}_{\text{Cr}}/\text{g s.s.}$]	Poga./koren.
cvetača	500	2,20	0,005	165	0,80	0,010
zelje	360	1,60	0,010	235	1,70	0,007
grah	185	1,90	0,012	220	0,80	0,008
endivija	90	1,60	0,025	75	1,00	0,020
špinača	80	1,65	0,030	20	0,90	0,160
drobnjak	60	0,90	0,025	20	0,85	0,125
zelena	30	0,50	0,030	20	1,75	0,115
čebula	10	0,90	0,270	10	0,85	0,193

Iz rezultatov preglednice 5 je zaključil, da s Cr^{6+} oskrbovane rastline akumulirajo več kroma, kot s Cr^{3+} oskrbovane. Največ ga akumulirajo rastline iz družine križnic. Ker križnice rade vežejo žveplo, povezujejo visoke vsebnosti z izomorfno kromatnega in sulfatnega iona. V vseh primerih je bil transport kroma iz korenin v poganjke močno omejen. Peterson (1975) domneva, da je transport kroma omejen ob vstopu v vaskularni sistem rastline. Pri Cr^{3+} oskrbi je razmerje poganjki/korenine nekoliko višje kot pri Cr^{6+} . Z izjemo čebule je koncentracija v koreninah približno 100 krat višja. Učinkovit transport je

bil tudi v rastlinah, ki rade vežejo železo (špinača). Nekatere rastline kopičijo količine kroma, ki so za večino drugih latentne, je zapisal Peterson (1975). V tem kontekstu sta nekaj spoznanj objavila Lahouti in Petron (1979). S Cr^{3+} oskrbovane rastline so v koreninah akumulirale več kroma kot s Cr^{6+} oskrbovane. Toda v poganjkih se je izkazalo ravno obratno. Kljub večjemu transportu pri s Cr^{6+} oskrbovanimi rastlinami ta v poganjkih ne preseže 1 % celokupnega kroma. Preko 50 % kroma je bilo v topni frakciji s Cr^{6+} oskrbovanimi rastlinami, medtem ko je bil ta odstotek s Cr^{3+} oskrbovanimi močno pod 50 %. Večina kroma v s Cr^{3+} oskrbovanimi rastlinami se je vezala na celične stene. Verjetno je bila to posledica pasivnega vnosa, ko so se Cr^{3+} ioni vezali na nabite dele celičnih sten. V ksilemu vseh testiranih rastlin sta našla le Cr^{6+} . Domnevata, da je encimska oksidacija nujna pred transportom. V plodovih fižola in ječmena sta določila še manj kroma kot v listju, kar kaže na še eno oviro pri transportu po rastlini.

V drugi raziskavi so bile rastline izpostavljene raztopinam K_2CrO_4 z 2 $\text{mg}_{\text{Cr}}/\text{l}$ sedem dni, ter 10 $\text{mg}_{\text{Cr}}/\text{l}$ 2,4 in 7 dni. Vključene rastline so bile: brokoli, endivija, kumara, paradižnik, pesa, redkev, repa in špinača. Ne glede na čas izpostave in obliko kroma je bil ta v rastlinah prisoten le v Cr^{3+} obliki. Tako v koreninah kot v poganjkih ni bilo sledi Cr^{6+} niti Cr^{5+} in Cr^{4+} kot intermediatov. Iz tega je mogoče sklepati, da se Cr^{6+} že v korenini pretvori v Cr^{3+} . Redukcija se ne zgodi že pred vnosom. Z uporabo antibiotikov so dokazali, da simbiotski mikrobi korenin niso vključeni v redukcijo. Redukcijo bi lahko pripisali Fe(III) reduktazi, saj krom sodeluje pri vnosu Fe v rastlino. Posledica višjih koncentracij v raztopinah je večji vnos in transport (Zayed in sod., 1998). Salt in sod. (2002) je prepričan, da so rastline razvile zapleten sistem detoksikacije oligoelementov. Celice korenin so bogate z močnimi reducenti, ki kromat po vstopu v koreninski sistem reducirajo v Cr(III).

Sinha in sod. (2006) je poročal, da je bila vsebnost kroma v rastlinah gojenih na neonesnaženih tleh pod mejo detekcije. V enakih rastlinah na tleh gnojnih z usnjarskimi odpadki so bile vrednosti od 25,2 - 55,2 $\mu\text{g}_{\text{Cr}}/\text{g}$ s.s. v listnatih užitnih delih rastlin, 11,9 - 32,5 $\mu\text{g}_{\text{Cr}}/\text{g}$ s.s. v podzemnih plodovih rastlin in 6,7 - 40,4 $\mu\text{g}_{\text{Cr}}/\text{g}$ s.s. v nadzemnih plodovih rastlin. V nekaterih nadzemnih plodovih (jajčevce, koruza in sadno drevje) ni bilo zaznati sledi kroma. Ob tem je poudaril, da lahko zemeljski plodovi (krompir) vsebujejo manj kroma kot listnati deli rastlin (špinača) ali nadzemni plodovi (cvetača).

Shewry in Peterson (1974) sta pri sadikah ječmena zaznala inhibicijo rasti korenin in poganjkov. Kritični fitotoksični nivoji so zelo različni. Od $< 1 \text{ mg}_{\text{Cr}}/\text{kg}$ do $> 10 \text{ mg}_{\text{Cr}}/\text{kg}$ rastline. Posledice se kažejo pri kaljenju, rasti, pa tudi na količini pridelka. Pri gojenju špinače je bilo dokazano, kako pomembno vlogo ima sestava tal. Semena so vzknila v glineni zemlji z dodatkom Cr^{6+} do 180 $\text{mg}_{\text{Cr}}/\text{kg}$ zemlje, medtem ko na peščeni podlagi le do 20 $\text{mg}_{\text{Cr}}/\text{kg}$ zemlje. V peščeni zemlji ostane več kroma v mobilni obliki in zato prej doseže nivo fitotoksičnosti. Večji del vnosa se je zgodil prvih 45 dni po setvi, kar kaže na zmanjševanje vnosa z starostjo. Izpostava visokim koncentracijam Cr^{3+} je pri zelju povzročila zmanjšanje koncentracije klorofila *a* in *b*, ter inhibicijo nekaterih katalitičnih encimov (Sharma in sod. 2005). Poizkusi s cvetačo so že po tednu dni nakazali pojevanje rastline. Sinteza proteinov se je zmanjšala zaradi okvare metabolizma dušika in posledično je bila manjša tudi biomasa. Toksičnost kroma pripisujejo izpodrivanju esencialnih elementov, kot je železo, ki ga izpodrine iz fiziološko pomembnih centrov. (Chatterjee J. in Chatterjee C., 2000).

3 MATERIAL IN METODE

3.1 MATERIAL

Preiskavo smo izvedli na vzorcih zemlje/prsti in vzorcih poljščin z njive, ki je bila pred več kot 20 leti gnojena z odpadki usnjarske industrije. Vzorci so predstavljeni v preglednicah 7 in 8.

Preglednica 7: Vzorci zemlje odvzeti na njivi gnojeni z usnjarskimi odpadki (Vranja Peč, leta 2005)

Vzorci zemlje	Mesto odvzema
0 - 25 cm povp.vz.	povp. vzorec celotne njive odvzet na globini 0 - 25 cm (n = 25)
0 - 25 cm	vzorec odvzet na enem mestu na globini 0 - 25 cm
25 - 50 cm	vzorec odvzet na enem mestu na globini 25 - 50 cm
50 - 75 cm	vzorec odvzet na enem mestu na globini 50 - 75 cm
75 - 100 cm	vzorec odvzet na enem mestu na globini 75 - 100 cm

Preglednica 8: Analizirane vrste poljščin, ki so bile gojene na njivi, ki je bila gnojena z usnjarskimi odpadki (Vranja Peč, leta 2005)

Vzorci poljščin	Latinsko ime - vrsta	Družina
endivija	<i>Cichorium endivia</i> L.	nebinovke – Asteraceae
fižol (zrnje)	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	metuljnice – Fabaceae
krmna pesa	<i>Beta vulgaris</i> L.	metlikovke - Chenopodiaceae
krmno korenje	<i>Daucus carota</i> L.	kobulnice – Apiaceae
navadni hren	<i>Armoracia rusticana</i> L.	križnice – Brassicaceae
glavnat zelen radič	<i>Cichorium intybus</i> L.	nebinovke – Asteraceae
krmna repa	<i>Brassica rapa</i> L.	križnice – Brassicaceae

Oprema, pripomočki in kemikalije, ki smo jih uporabili pri našem delu:

- sirkova krtača,
- teflonska podlaga,
- titanov nož,
- ahatna terilnica,
- keramična terilnica,
- plastično sito (pore 2 mm),
- testno plastično sito (pore 150 µm),
- sušilnik (INSTRUMENT ARIA ST - 05),
- ahatni mlin (RETSCH),
- električna konvekcijska peč (WTB BINDER GERMANY),
- sušilnik (SO - 250 N; ELEKTROMEDICINA),
- elektronska tehtnica (SCALTEC SPB31; SARTORIUS AG GOTTINGEN),
- elektronska tehtnica (PRECISA 120 A),
- digestori (FLORES VALLES),
- mikrovalovna pečica (MDS - 2000; CEM),
- 12 × 100 ml teflonski lončki (PFA[®] Teflon),
- lomljive membrane (Nr.324350; CEM),
- sistem z grelnikom, povratnim hladilnikom in reakcijskimi posodami (250 ml),
- stresalnik (YELLOW LINE OS 2 BASIC),

- centrifuga (ROTANTA 96 S),
 - vodna kopel + stresalnik (1024 SHAKING WATER BATH; TECATOR),
 - 0,2 µm membranski filter,
 - celulozni filter papir (MODER, 0,45 µm, SARTORIUS 391),
 - pH - indikator papir (UNIVERSAL INDIKATOR Ph 0 - 14; MERCK),
 - eksikator,
 - atomski absorpcijski spektrometer (AAnalyst 800; PERKIN ELMER),
 - autosampler (AS 800, PERKIN ELMER),
 - votla katodna žarnica (HLC LUMINA LAMP, Cr; PERKIN ELMER),
 - grafitna kiveta s platformo (THGA; PERKIN ELMER),
 - atomski absorpcijski spektrometer (SpectrAA - 10; VARIAN),
 - votla katodna žarnica (max.25/recom.7 [mA]; VARIAN),
 - avtomatske pipete (10 - 100, 100 - 1000 µl; TRANSFERPETTE BRAND),
 - avtomatske pipete (10 - 100, 100 - 1000 µl; LABOPETTA),
 - druga običajna laboratorijska steklovina in oprema,
-
- destil. H₂O (PROGARG[®] 2; MILLIPORE),
 - 2 × destil. H₂O (Q - GARD[®] 1; MILLIPORE),
 - etanol 96 % (EXTRA PURE; MERCK),
 - HCl 37 % (PA, Cr ≤ 0,010 ppm; MERCK),
 - HNO₃ 65% (heavy metals ≤ 0,0001%; LACH-NER s.r.o.),
 - HNO₃ 65 %, (PA, Cr ≤ 0,020 ppm; MERCK),
 - HNO₃ 65 % (SUPRAPURE, Cr ≤ 2.0 ppb; MERCK),
 - HNO₃ 69,5 %, (trace select, Cr ≤ 10⁻⁷ %; FLUKA),
 - H₂O₂ 30 % (trace select ultra, Cr ≤ 10⁻⁸ %; FLUKA),
 - H₂O₂ 30 % (PA, Cr ≤ 0,020 ppm; MERCK),
 - HF 40% (PA, Cr ≤ 0,020 ppm; MERCK),
 - 0,5 M HNO₃ (pripravljena iz HNO₃ 65 %),
 - KH₂PO₄ čistost ≥ 99,5 % (PA, kristali; MERCK),
 - NH₄Cl čistost ≥ 99,8 % (PA, kristali; MERCK),
 - Na₄P₂O₇ × 10H₂O čistost ≥ 99,0 % (PA, kristali; MERCK),
 - Na - EDTA čistost ≥ 99,0 % (PA, kristali; KEMIKA ZAGREB),
 - HONH₂ × HCl čistost ≥ 98,0 % (PA, kristali; MERCK),
 - CH₃COOH 25 % (PA; MERCK),
 - primarni standard kroma (GF AAS MULTI ELEMENT STANDATRD, Cr = 20 mg/l; MERCK),
 - primarni standard kroma (1000 mg_{Cr}/l; VAL - UCAL).

3.2 VZORČENJE IN PRIPRAVA VZORCEV

Vzorčenje, shranjevanje in priprava vzorcev so kritične faze pri vsaki analizi elementov v sledovih. Način analitskega pristopa je odvisen od tipa vzorca in koncentracijskega območja analita. Glavne nevarnosti so izguba analita, kontaminacija in transformacija oblike analita. Posebno pozornost je potrebno nameniti orodju in posodam. Laboratorijski inventar iz nerjavečega jekla vsebuje krom, zato je smotrno uporabiti polimerne materiale, steklo in titan. Zaradi nizkih vsebnosti kroma to še posebej velja za biološke vzorce (Sperling, 2005). Od celote (npr. njiva) moramo dobiti majhen, homogen vzorec, ki bo imel reprezentativno sestavo. Sledi priprava vzorca, ki je definirana kot serija korakov, s katerimi pretvorimo vzorec v primerno obliko za kemijsko analizo (Harris, 1999).

3.2.1 Zemlja

Lokacija odvzema vzorcev tal se nahaja v vasi Vranja Peč pri Kamniku (slika 8). Njiva v izmeri 10 x 60 m leži na pobočju pod gozdom na ožji nagnjeni terasi. Nadmorska višina njive je 660 m. Vzorce smo odvzeli 4. novembra 2005. Odvzeli smo 4 vzorce tal iz "profila" (na prerezu) po globinah: 0 - 25 cm, 25 - 50 cm, 50 - 75 cm in 75 - 100 cm. Odvzeli smo tudi povprečni vzorec tal na globini 0 - 25 cm na celotnem območju njive. Povprečni vzorec njive je bil odvzet s 25 vbodi po celi njivi. Za vzorčenje smo uporabili koničasto sondo (slika 7) za odvzem talnih vzorcev. Sveže vzorce tal smo v laboratoriju ročno homogenizirali in odstranili večje kose skeleta in ostanke rastlin. Del vzorcev zemlje smo sušili na 30 - 40 °C 48 ur, jih strli v keramični terilnici in presejali skozi sito z odprtini 2 mm. Shranili smo jih v najlon vrečke.

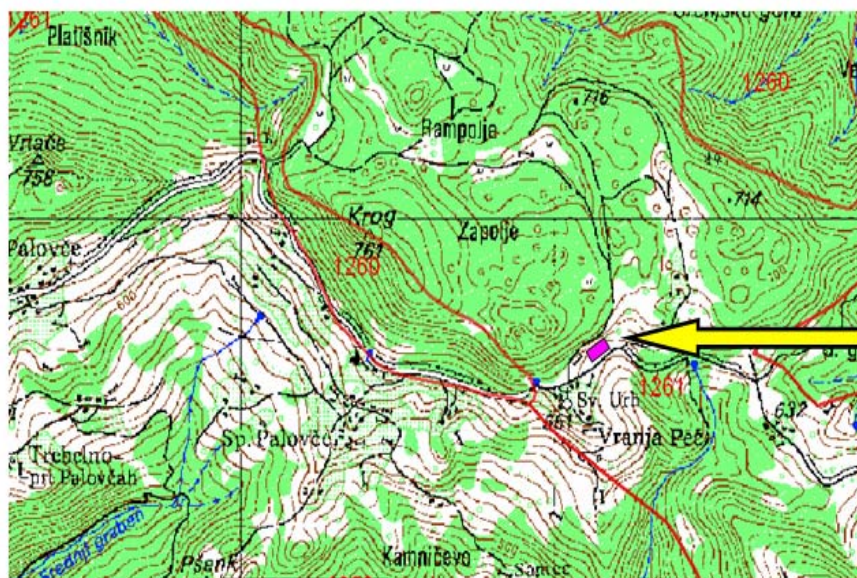


Slika 7: Koničasta sonda za odvzem talnih vzorcev

3.2.2 Poljščine

Lokacija in datum vzorčenja rastlin sta ista kot pri vzorčenju tal. Ker smo vrednotili le posamezne dele rastlin, smo odvzeli le potrebne dele rastlin. Od vsake vrste smo vzorčili po 2 - 5 rastlin. Hren, korenje, peso in repo smo izpulili iz zemlje, odstranili nadzemne dele in večje kose zemlje. Endiviji in radiču smo odstranili koreninski del. Od rastline fižola smo odvzeli okoli 20 strokov. V laboratoriju smo dele rastlin (razen fižola) najprej oprali pod tekočo vodo in s krtačo odstranili vso vidno zemljo. Zemeljske plodove smo olupili, listnatim rastlinam odstranili suhe in gnile liste, fižol izluščili in vse oprali v destilirani vodi. Očiščeni rastlinski vzorci so predstavljali jedilne dele rastlin. Od tu naprej

smo za rokovanje z vzorci uporabljali polipropilenske rokavice. Na teflonski podlagi smo vzorce s titanovim nožem razrezali na tanke kolobarje ali majhne kvadrate, jih položili na petrijevke, prekrili z papirnatimi brisačami in zračno sušili 3 dni na 60 °C. Vzorce smo shranili v najlon vrečke. Tu smo naredili napako, ker vzorcev pred sušenjem nismo stehali. Zato smo odstotke vode za izračune vsebnosti kroma na svež vzorec vzeli iz prehranskih tablic. Nož, podlago in petrijevke smo pred uporabo očistili z etanolom.



Lokacija
odvzema talnih
in rastlinskih
vzorcev

Slika 8: Lokacija odvzema vzorcev z oznako meje kartografskih enot digitalne pedološke karte Slovenije (Pedološka karta Slovenije, 2007)

3.2.3 Shranjevanje vzorcev zemlje in poljščin

Pri določanju kemijskih oblik kroma je najbolje, da so analize izvedene takoj po vzorčenju. Če se vzorec shranjuje, se moramo zavedati, da se Cr(VI) ob prisotnosti organskih snovi in v kislem okolju reducira, če pa je medij alkalen, se Cr(III) oksidira. Polietilen veže krom, zato v tako shranjenih vzorcih lahko izgubimo do 20 % kroma. Če je shranjevanje nujno, naj bo pod 5 °C (Sperling, 2005). Rapin in sod. (1986) pavi, da ni metode shranjevanja, ki bi popolnoma ohranila kemijske oblike težkih kovin v vzorcu. Kot najsprejemljivejše je označil shranjevanje svežega vzorca pri 1 - 2 °C ali zamrzovanje. Vzorci zemlje so bili do analiz shranjeni v hladilni komori, v kateri je bila dne 05.04.2006 temperatura 3 °C in relativna vlažnost 60 %. Rastline smo shranili kot je opisano v poglavju 3.2.2.

3.3 RAZKROJ VZORCEV IN PRIPRAVA RAZTOPIN

3.3.1 Zemlja za zaporedne ekstrakcije

Vzorci sveže zemlje smo uporabili za določanje in vrednotenje posameznih kemijskih oblik kroma vezanega na različne snovi v zemlji. Za izolacijo analita pred meritvijo z AAS je bila izbrana metoda zaporednih ekstrakcij. Ekstrakcije, pri katerih iz netopne trde faze (A) s topilom (C) selektivno izločimo topljenec (B), mnogi avtorji imenujejo izpiranje. Ker so kovine dokaj močno vezane na matriks (adsorpcijske, ionske, van der Waals-ove interakcije), mora ekstrakcijski proces zagotoviti dovolj "energije", da prekine povezave kovina - matriks. Pri tem je pomembno, da ohranimo selektivnost, preprečimo razkroj vzorca in omejimo ko-ekstrakcijo motečih snovi. Izbira primerne topila za ekstrakcijo elementarne oblike temelji na dveh lastnostih:

- topilo loči analit od matriksa s prekinitvijo vezi ali z zamenjavo na aktivnih površinah matriksa,
- topilo stabilizira analit s tvorbo raztopine ali kompleksnih spojin in hkrati preprečuje ponovno vezavo ali re-adsorpcijo na matriks (Rosenberg in Ariese; 2001).

Tehnike sekvenčnih ekstrakcij so široko uporabljene za kvalitativno in kvantitativno določanje kemijskih oblik kovin v zemlji. Leta 1979 je Andre Tessier objavil 5 stopenjsko tehniko, ki je kasneje mnogim raziskovalcem služila kot izhodišče. Frakcije so si sledile v vrstnem redu, kot je zapisano v preglednici 9:

Preglednica 9: Opis Tessierjeve tehnike sekvenčnih ekstrakcij za vzorce zemlje (Tessier in sod., 1979)

Frakcija zemlje	Opis vezave kroma	Reagenti in izvedba
1. izmenljiva frakcija	pokaže adsorbirano količino elementa; temelji na spremembi v ionski sestavi vode, ki vpliva na tovrstne vezave	1 g (s.s.) vz., 8 ml 1 M MgCl, pH 7,0, stresanje 1 h
2. vezava na karbonate	predstavlja precejšen delež, ki je pH odvisen	8 ml 1 M NaOAc/HOAc, pH 5,0, stresanje 1 h
3. vezava na Fe in Mn okside	ki so odlični zbiralci kovin, je termolabilna v anaerobnem okolju	20 ml 0,04 M HONH ₂ × HCl/HOAc, pH 2, stresanje 6 h na 96 °C
4. vezava na organske snovi	vključuje bioakumulacijo mikroorganizmov in tvorbo kompleksov s humičnimi ali fulvičnimi kislinami; z oksidacijo organskih molekul dosežemo sprostitve elementa	8 ml 30 % H ₂ O ₂ , 3 ml 0,02 M HNO ₃ , pH 2, 3,2 M NH ₄ OAc, stresanje 5,5 h na 85 °C
5. frakcija preostanka	se nanaša na del elementa, ki pod običajnimi okoljskimi pogoji ne more preiti v vodno raztopino; minerali kot so sulfidi (S ²⁻) in silikati v svoji strukturi pogosto vežejo kovine.	odparevanje s 3 ml konc. HClO ₄ + 20 ml konc. HF

Razporeditvene deleže kovin v posamezni frakciji je v grobem razvrstil: 1. << 2. < 3. ≈ 4. << 5. Ta tehnika, čeprav časovno potratna, nam da informacije o izvoru, biološki in fizikalnokemijski dostopnosti, mobilnosti, distribuciji elementa v vzorcu in v kakšni obliki se element pojavlja v raztopini pod različnimi okoljskimi pogoji. Izpostavil je potrebo po

nadaljnjih izboljšavah in dopolnitvah metode zaradi učinkov ko-ekstrakcije, nepopolne ekstrakcije, časovne in pH odvisnosti in spremembo zaporedij ekstrakcij (Tessier in sod., 1979). Rauret in sod. (1989) je za optimizacijo metode predlagal večje razmerje $V_{EKSTRAHENTA} : m_{VZORCA}$ ali zaporedno ponovitev posamezne ekstrakcije. Chang in sod. (1984) se je ukvarjal z ekstrakcijo težkih kovin iz z organskimi odpadki onesnaženo zemljo. V primerjavi z neonesnaženo zemljo je dokazal povišane količine težkih kovin v vseh ekstrahiranih frakcijah. Še posebej je izpostavil karbonatno in organsko frakcijo. Kljub temu izmenljiva/adsorbirana frakcija ni preseгла 1 % celokupne količine elementa. Lake in sod. (1984) je vključil še v vodi topno frakcijo, ki jo je izvedel kot prvo in ni preseгла 3 % celokupne vsebnosti. Ugotovili so, da so med seboj v kemijskem ravnotežju organski, izmenljivi in v vodi topni Cr, ki je odvisno od pH, E_h , vsebnosti Cr in ligandov.

Mi smo izvedli 7 stopenjsko modificirano Tessierjevo tehniko. Pripravili smo raztopine ekstrahentov v 500 ml bučke. Stopnje smo poimenovali in izvedli v naslednjem vrstnem redu. 1.) V vodi topni krom (KH_2PO_4) 2.) Izmenljiv krom (NH_4Cl) 3.) Krom vezan na organske molekule ($Na_4P_2O_7$) 4.) Krom vezan na karbonate ($Na - EDTA$) 5.) Krom vezan na okside in hidrokside ($HONH_2 \times HCl$) 6.) Krom vezan na sulfide (HNO_3) 7.) Krom vezan na primarne in sekundarne minerale ($HNO_3 + HClO_4 + HF$).

1.) 0,015 M KH_2PO_4 (kalijev hidrogen fosfat). 1,0265 g trdega KH_2PO_4 smo odtehtali v bučko, dopolnili z destilirano H_2O do oznake in stresali dokler se kristali niso popolnoma raztopili.

2.) 1 M NH_4Cl (amonijev klorid). 26,7480 g trdega NH_4Cl smo odtehtali v bučko, dopolnili z destilirano H_2O do oznake in stresali dokler se kristali niso popolnoma raztopili.

3.) 0,1 M $Na_4P_2O_7$ (tetra-natrijev difosfat). 22,3041 g trdega $Na_4P_2O_7 \times 10H_2O$ smo odtehtali v bučko, dopolnili z destilirano H_2O do oznake in stresali dokler se kristali niso popolnoma raztopili.

4.) 0,05 M $C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8$; $Na - EDTA$ (etilen diamin tetraocetna kislina natrijeva sol). 9,3065 g trdega $C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8 \times 2H_2O$ smo odtehtali v bučko, dopolnili z destilirano H_2O do oznake in stresali dokler se kristali niso popolnoma raztopili.

5.) 1 M $HONH_2 \times HCl$ (hidroksil amin hidroklorid). 14,7523 g (moral bi 34,7523 g) trdega $HONH_2 \times HCl$ smo odtehtali v bučko in jo z destilirano H_2O dopolnili malo pod oznako. Dodali 12,5 ml 25 % CH_3COOH do $pH \approx 2$, ki smo ga določili s pH - indikator papirjem.

6.) 1 M HNO_3 (dušikova (V) kislina). 34,8644 ml tekoče 65 % HNO_3 smo odpipetirali v bučko, dopolnili z destilirano H_2O do oznake in s stresanjem dobro premešali.

7.) Razkroj v kislini je metoda mokrega razkroja pri normalnem tlaku ob prisotnosti različnih kislin. Tega koraka nismo izvedli, ker je vrednost kroma v frakciji preostanka (rezidualni Cr) mogoče izračunati iz enačbe 4, kjer od povprečne vrednosti celokupnega kroma odštejemo povprečne vrednosti vseh izvedenih ekstrakcijskih frakcij.

$$C_{CrREZID.} = \bar{C}_{CrCELOKUP.} - \bar{C}_{CrKH_2PO_4} - \bar{C}_{CrNH_4Cl} - \bar{C}_{CrNa_4P_2O_7} - \bar{C}_{CrNa-EDTA} - \bar{C}_{CrHONH_2 \times HCl} - \bar{C}_{CrHNO_3} \dots (4)$$

Ekstrakcije smo izvajali v dveh ponovitvah. V vsako plastično epruveto smo odtehtali 2 (\pm 0,0001 g) vzorca sveže zemlje, dodali 20 ml 0,015 M KH_2PO_4 , jih zaprli in ročno stresli, da so razpadli večji kosi zemlje. V krožnem stresalniku smo stresali 2 uri s 300 obr./min. pri sobni temperaturi in atmosferskem tlaku. Sledilo je 30 min. centrifugiranje na 4000 rpm. Rezultat centrifugiranja je bil bister supernatant in zemeljski sediment. Supernatant smo prenesli v drugo epruveto. Pri tem smo uporabili brizgo z membranskim filtrom, skozi katerega smo potisnili supernatant. S filtracijo smo odstranili dispergirane koloide, ki bi kasneje lahko vplivali na analitski signal AAS. Epruvete s supernatantom smo shranili v hladilniku na 5 °C, z namenom zmanjšati intenzivnost reakcij med analitom in matriksom. V epruvete z sedimentom smo nalili 20 - 30 ml destilirane H_2O in 10 min stresali s 300 obr./min. Po stresanju je sledilo 30 minutno centrifugiranje na 4000 rpm. Dobljeni supernatant smo zavrgli. Namen dodatka destilirane H_2O je bil izpiranje prejšnjega ekstrahenta pred nadaljevanjem ekstrakcije z drugim reagentom. Postopke centrifugiranja, shranjevanja in izpiranja smo za vsako frakcijo izvedli na enak način. V "oprano" epruveto s sedimentom smo dodali 20 ml 1 M NH_4Cl . Supernatant smo filtrirali skozi celulozni filtrirni papir v novo epruveto, kar smo storili tudi pri naslednjih frakcijah. Tretja ekstrakcija se je začela z dodatkom 20 ml 0,1 M $Na_4P_2O_7$. Vsebina epruget se je stresala 16 ur s 300 obr./min. Četrta zaporedna ekstrakcija se je začela z dodatkom 20 ml 0,05 M Na - EDTA, čemur je sledilo 16 urno stresanje s 300 obr./min. Z dodatkom 20 ml 1 M $HONH_2 \times HCl$ smo začeli peto ekstrakcijo. Ker tu ekstrakcijske reakcije potekajo počasneje, smo jih pospešili z višjo temperaturo, v vodni kopeli pri 80 °C. Stresanje v vodni kopeli je trajalo 5 ur s 100 obr./min. Zaradi visoke temperature vodne kopeli zamaški epruget niso popolnoma tesnili, zato je prišlo do izgube majhne količine vsebine. Nato smo epruvete prenesli na krožni stresalnik in stresali še 16 ur s 300 obr./min. Po filtraciji smo supernatantu s pH - indikator papirjem ponovno izmerili pH, ki je znašal \approx 2,5. Zadnjo, šesto ekstrakcijo smo začeli z dodatkom 20 ml 1 M HNO_3 . Postopek stresanja je bil enak kot pri tretji ekstrakciji.



Slika 9: Slikovni prikaz postopkov stresanja, centrifugiranja in filtriranja.

Vzporedno z ekstrakcijami smo svežim vzorcem zemlje določili vsebnost vode. Termični postopek določitve vsebnosti vode s sušenjem v sušilniku definiramo kot izguba mase vzorca med segrevanjem pri konstantni temperaturi (70 - 150 °C). Sušenje je v prvi fazi hitro, s časom se upočasni in končno ustavi. Hitrost in učinkovitost sušenja sta najbolj odvisna od temperature sušenja in tlaka vodnih par. Parcialni tlak vodnih par v zraku mora biti nižji kot parcialni tlak vodnih par v vzorcu. Večjo tlačno razliko je mogoče doseči tudi z uporabo hidroskopskih sredstev ali vakuuma. S to metodo ne moremo določiti absolutne vsebnosti vode, da nam le približno vsebnost. Voda v vzorcu obstaja v treh oblikah: prosta ali kapilarna voda, absorbirana ali fizikalno vezana voda in kemijsko vezana voda. Slednjo

je iz vzorca nemogoče popolnoma odstraniti. Lahko pa zaradi segrevanja poleg vode izparijo tudi druge molekule (Willits, 1951). Prazne tehtiče smo v segretem sušilniku pustili 30 min. na 105 °C. Iz sušilnika smo jih s pinceto prenesli v eksikator za 15 min., da so se ohladili. Na elektronski tehtnici smo izmerili maso praznih tehtičev, jih napolnili z vzorci sveže zemlje ($2 \pm 0,0001$ g) in zabeležili maso tehtič + vzorec. Izvedli smo eno odtehto iz vsakega profila. Napolnjene tehtiče smo dali nazaj v sušilnik na 105 °C za 21 ur. Po koncu sušenja smo jih dali v eksikator, da so se ohladili. Eksikator smo uporabili, da bi preprečili reabsorpcijo vlage med ohlajevanjem. Na tehtnici smo izmerili maso in iz zbranih podatkov izračunali odstotek vode v svežih vzorcih zemlje.



Slika 10: Sušenje vzorcev sveže zemlje

3.3.2 Zemlja za določanje celokupnega kroma

Zračno suhe vzorce zemlje smo mleli potem ko smo zmleli vse vzorce poljščin, da bi se izognili močni kontaminaciji, saj zemlja vsebuje 1000 krat več kroma kot rastline. Postopek mletja z ahatnim mlinom je opisan v poglavju 3.3.3. Poskusili smo s tremi metodami priprave vzorca: ekstrakcijo z zlatotopko, mokrim razkrojem v mikrovalovni pečici in mokrim razkrojem pri normalnem tlaku, ki temeljita na kemijskem razkroju vzorca.

Metoda razkroja v mikrovalovni pečici je podrobneje predstavljena v poglavju 3.3.3. Najprej smo poskušali z 0,25 g 0 - 25 cm povp. vz. in referenčnega vzorca, katerim smo dodali 3 ml HCl, 1 ml HNO₃ in 1 ml HF. Nastavitev pečice in program obdelave sta bila enaka kot v poglavju 3.3.3. Drugi poskus smo izvedli z 0,5 g 0 - 25 cm povp. vz., 0 - 25 cm, 25 - 50 cm in referenčnega vzorca. Dodali 4 ml HCl, 2 ml HNO₃ ter 1 ml H₂O₂. V mikrovalovni pečici smo jih kuhali po programu, ki je predstavljen v preglednici 10.

Preglednica 10: Program mikrovalovne pečice za razkroj zemeljskih vzorcev

Parametri	1. stopnja	2. stopnja	3. stopnja	4. stopnja
moč [%]	65	75	0	90
tlak [bar]	7	40	0	7
čas [min]	30	60	60	50
TAP [min]	10	35	0	30
ventilator [%]	100	100	100	100

Parametre o tlaku in TAP nismo mogli spremljati, saj sistem ni imel tovrstne opreme. Po mikrovalovni obdelavi so na dnu reakcijskih posod ostali peščeni delci. Zato smo v vse dodali še 2 ml HCl, 1 ml HNO₃, 1 ml H₂O₂ in jih še enkrat kuhali v mikrovalovni pečici s

programom iz preglednice 10. Tretji poskus smo izvedli z 0,5 g 0 - 25 cm povp. vz, 0 - 25 cm, 50 - 75 cm, 75 - 100 cm in referenčnega vzorca. Dodali 6 ml HCl, 3 ml HNO₃, 1 ml HF ter 1 ml H₂O₂. Mikrovalovno obdelavo smo izvedli s programom iz preglednice 10. Po meritvah teh vzorcev smo ugotovili, da so količine Cr precej nižje od pričakovanih. To je verjetno posledica nepopolnega razkroja peščenih delov zemlje, ki so ostajali na dnu reakcijskih posod pri vseh treh poskusih. Teh rezultatov zato v razpravi nismo upoštevali.

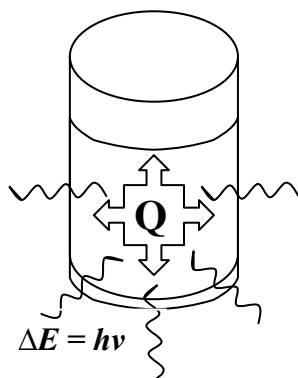
Metoda mokrega razkroja pri normalnem tlaku deluje z različnimi kislinami v širokem temperaturnem razponu in v različnih posodah. Izbor najprimernejše obdelave je odvisen od narave vzorca. Talni vzorci vsebujejo silikate, kovinske okside, karbonate, organske snovi in take vzorce je potrebno predhodno posušiti in zmleti. Uporaba različnih kislin povzroči sinergistični učinek. Silikatni matriks razkrojimo s HF in dobimo slabo topne kovinske fluoride. Ob segrevanju fluor hitro izhlapi zato HNO₃ ali HClO₄ s kovinami tvorita dobro topne soli. Anorganski minerali so najtežje topne komponente zemeljskih vzorcev. Njihovo topnost dosežemo z uporabo močnih mineralnih kislin (HNO₃, HCl, HF). Organske komponente se razkrojijo z vročimi oksidnimi kislinami (HClO₄, H₂SO₄). Ioni reagentov delujejo na kovine kot reducenti, oksidanti ali tvorci topnih kompleksov. Proces razkroja vzorca se s temperaturo pospeši. Metoda je močno občutljiva na kontaminacijo in izgubo analita. Tehnika je najbolj občutljiva na kontaminacijo iz zraka, reakcijske posode in celuloznega filter papirja. Izgube analita med mokrim razkrojem so mogoče zaradi adsorpcije na površine reakcijskih posod, izhlapevanja in obarjanja. Za shranjevanje vzorcev avtor priporoča plastične posode, v katerih je vzorec zakisan (Twyman, 2005). Ker tega postopka nismo izvedli mi, so opisani samo glavni koraki. V platinaste lončke odtehtamo 250 mg vzorca, ga navlažimo z destilirano vodo, dodamo 3 ml konc. HNO₃ in pokrijemo z urnim steklom. Pustimo stati čez noč. Na peščeni kopeli izparevamo skoraj do suhega, ohladimo in dodamo še 3 ml konc. HNO₃, 3 ml konc. HClO₄ in 5 ml konc. HF. Segrevamo do pojava belih par (HClO₄) in nadaljujemo z odparevanjem še 20 - 30 min. Vsebinsko ohladimo, dodamo 3 ml mešanice HCl + H₂O (1:1) in pazljivo segrevamo. Na koncu reakcijsko mešanico kvantitativno prenesemo v bučko in razredčimo na 50 ml. Obdelava vzorcev je bila izvedena v dveh ponovitvah.

Ekstrakcijo elementov topnih v *aqua regia* (HNO₃ + HCl) imenujemo tudi ekstrakcija z zlatotopko. Aqua regia ne razkroji zemlje popolnoma. Učinkovitost ekstrakcije je odvisna od analita samega in matriksa vzorca, zato je uporaba referenčnega materiala nujna. Rezultate te metode ne moremo vrednotiti kot celokupne koncentracije analita v vzorcu. Prav tako ne moremo govoriti o biološko dostopni koncentraciji analita. Ker se nekatere kovine rade skoncentrirajo v posameznih strukturah, je zelo pomembna homogenost vzorca. To dosežemo z sušenjem in mletjem (ISO, 1995). Ekstrakcijo z zlatotopko smo izvedli po standardu ISO 11466:1995. Vzorce smo zdrobili v ahatni terilnici do velikosti delcev 150 µm. V reakcijske posode smo odtehtali po 3 ± 0,0001 g vzorca, navlažili z 1 ml H₂O, dodali 21 ml HCl in po kapljicah še 7 ml HNO₃. Priključili smo na povratni hladilnik in pustili 16 ur na sobni temperaturi. Reakcijsko mešanico smo segrevali (T ≈ 120 °C) 2 uri in prefiltrirali v bučko. Reakcijsko posodo in filtrirni papir smo sprali z 0,5 M HNO₃ in bučko dopolnili z dest. H₂O do 100 ml. Tudi teh rezultatov v razpravi nismo upoštevali zaradi prenizkih rezultatov, ki so bili posledica nepopolnega razkroja vzorca.

3.3.3 Poljščine za določanje celokupnega kroma

Zračno suhe vzorce poljščin smo zdrobili z ahatno terilnico do velikosti delcev ≤ 1 mm in nato zmleli z ahatnim mlinom. Zaradi predhodne uporabe mlina za mletje semen, smo doze in mlinske kroglice razmastili z petroletrom, očistili z etanolom in sušili. Vsaka polnitev se je mlela 30 min. na 700 obr./min. Prvo polnitev smo izvedli z namenom čiščenja delovnega prostora mlina, zato se je zavrгла. Vsaka naslednja polnitev se je zbirala v čistem lončku iz umetne mase. Pri praznjenju in polnjenju mlina smo uporabili žličke iz umetne mase. Pred začetkom mletja naslednje poljščine smo orodje, mlinske doze in kroglice očistili z bidestilirano H_2O in etanolom, ter posušili.

Mletju je sledil mokri razkroj v mikrovalovni pečici. Postopek mokrega razkroja z mikrovalovi temelji na visokem tlaku in temperaturi v hermetično zaprtih teflonskih posodah. Visok tlak povzroči dvig vrelišč reaktantov, kar pomeni hitrejšo reakcijo in krajši reakcijski čas. Običajen razklop pri atmosferskem tlaku lahko traja več ur, medtem ko z mikrovalovno tehniko le nekaj minut. Tako je čas stika vzorec - posoda kratek in s tem je zmanjšana možnost kontaminacije. Ker je sistem zaprt, se možnost kontaminacije iz okolja ali izgube s hlapi eliminira. Ta metoda daje pri analizi elementov v sledovih najboljšo ponovljivost. Teflon je najprimernejši, ker mikrovalom dovoljuje prehajanje (jih ne odbija in ne absorbira), je odporen proti vsem kislinam in vzdrži temperature nad 200 °C. Mikrovalovi so elektromagnetni valovi v frekvenčnem območju $300 - 300.000$ MHz. Vzorec se ne segreva z zunanjim virom toplote. Segrevanje povzročajo vzbujeni ioni in rotacija dipolnih molekul, ki pretvorijo absorbirane mikrovalove v notranjo energijo. Ta mehanizem omogočajo kisline, ki odlično absorbirajo mikrovalove. Uporabne so kisline HNO_3 , HCl , HF , ker tvorijo s kovinami v vodi topne soli. Obvezna je HNO_3 , ki je močan oksidant. V zaprtem sistemu pod visokim pritiskom se ji vrelišče dvigne iz 120 °C na 175 °C in tako še poveča oksidacijsko moč. Rastlinskim vzorcem je priporočljiv dodatek manjše količine HF za razkroj silikatov. HCl topi okside in sulfide. Za boljšo učinkovitost razkroja organskih snovi se doda tudi H_2O_2 , ki poveča oksidacijski potencial HNO_3 . Pri obdelavi vzorcev za določanje elementov v sledovih je pomembna uporaba visoko čistih reaktantov (Joeda in Rojas, 2005). Proizvajalec pečice navaja še nekaj podatkov, ki so za to metodo pomembni. Pri razkroju organskih snovi je za ogljikove hidrate potrebno doseči ≥ 140 °C, za beljakovine ≥ 150 °C in za maščobe ≥ 165 °C. Težave pri meritvah z AAS lahko povzročajo ostanki ogljika, ki se raztapljajo pri ≥ 180 °C. V teflonskih posodah se med segrevanjem ustvarja velika količina plinov, ki lahko ustvarijo prevelik pritisk. Zato je priporočljiv večstopenjski program, pri katerem se izmenjujeta grelna in hladilna stopnja. Po koncu razkroja se morajo posode ohladiti pod 45 °C, da ne pride do izgub uparjenih elementov (CEM corporation, 1991).



Slika 11: Princip segrevanja reakcijske mešanice pri mikrovalovni tehniki (Ojeda in Rojas, 2005: 153)



Slika 12: Mikrovalovna pečica s teflonskimi lončki na vrtljivem pladnju

Teflonske lončke smo oprali z dest. H_2O , 96 % alkoholom in sušili. V teflonske pokrove smo namestili lomljive membrane, ki preprečujejo prekomerne pritiske med mikrovalovno obdelavo. V lonček smo odtehtali $0,3 \pm 0,0001$ g vzorca. Odtehtali smo vseh 7 vzorcev poljščin, 2 različna referenčna vzorca in 2 slepa vzorca. Razklop smo izvajali v dveh ponovitvah. V prvi ponovitvi smo vzorcem dodali 4 ml 65 % HNO_3 + 0,1 ml 40 % HF, v drugi pa 4 ml 65 % HNO_3 + 0,5 ml 30 % H_2O_2 . Pustili 10 min. v digestoriju, da so se vzorci prepojili. Zaprte lončke v stojalu smo dali v mikrovalovno pečico in nastavili mikrovalovni razkroj z večstopenjskim programom, kot je prikazan v preglednici 11.

Preglednica 11: Program mikrovalovne peči za razkroj rastlinskih vzorcev

Faza	Pnovitve faz	Parametri	1. stopnja	2. stopnja	3. stopnja	4. stopnja	5. stopnja
A	3 ×	moč [%]	80	0	80	0	80
		tlak [psi]	020	020	020	020	020
		čas [min/s]	0100	0040	0100	0040	0100
		TAP [s]	0000	0000	0000	0000	0000
		ventilator [%]	100	100	100	100	100
B	2 ×	moč [%]	90	0	90	0	90
		tlak [psi]	080	080	080	080	080
		čas [min/s]	0100	0050	0100	0050	0100
		TAP [s]	0000	0000	0000	0000	0000
		ventilator [%]	100	100	100	100	100
C	5 ×	moč [%]	100	0	100	0	100
		tlak [psi]	100	100	100	100	100
		čas [min/s]	0100	0110	0100	0110	0100
		TAP [s]	0000	0000	0000	0000	0000
		ventilator [%]	100	100	100	100	100
B	3 ×	moč [%]	90	0	90	0	90
		tlak [psi]	080	080	080	080	080
		čas [min/s]	0100	0050	0100	0050	0100
		TAP [s]	0000	0000	0000	0000	0000
		ventilator [%]	100	100	100	100	100

Uporabljena pečica MDS-2000 pri polni moči razvije 630 W mikrovalovne energije s frekvenco 2450 MHz. Iz zgornje tabele je razvidno, da pečica med postopkom obratuje z 0, 80, 90 in 100 % moči. Tlak je podan v enotah psi. Pretvorba iz psi v bare je naslednja.

$$1 \times 10^{-5} \text{ bar} = 1,4504 \times 10^{-4} \text{ psi} \quad \dots(5)$$

Iz tega izračuna sledi, da je bilo v teflonskem lončku med razklopom največ 6,89 barov, ki je posledica tvorbe plinov (CO₂, dušikovih oksidov). Celoten program je trajal 63:00 minut. Čas vzdrževanja nastavljenega pritiska (TAP) ni bil opredeljen. Hitrost odsesavanja zraka (ventilator) iz mikrovalovne komore smo nastavili na maksimum (CEM corporation, 1991).

Prve meritve z ETAAS so pokazale previsoke vrednosti in velika odstopanja med ponovitvami standardnih in slepih vzorcev. Nekateri teflonske posode so bile verjetno onesnažene z kromom. Da bi zmanjšali možnost kontaminacije po tej poti, smo jih pred razklopom najprej očistili. Pri analizah elementov s koncentracijami pod 10 ppm priporoča proizvajalec pečice kislinsko čiščenje posod. Teflonske lončke in njihove pokrove smo postavili v dve čaši, z mešanico dest. H₂O in 65 % HNO₃ v razmerju 1:1 in segrevali na plinskem gorilniku do vretja. Po končanem segrevanju smo pustili stati 24 ur. Sledilo je splakovanje z bidestilirano H₂O, sušenje in shranjevanje v najlon vrečke. V nadaljevanju smo v vseh 12 teflonskih posodah naredili slepe vzorce s 4 ml 65 % HNO₃ + 0,5 ml 30 % H₂O₂. Rezultati meritev slepih vzorcev z ETAAS so bili ponovno zelo različni, zato smo domnevali, da teflonski lončki še vedno niso dovolj čisti. Odločili smo se za drug postopek čiščenja. V lončke smo odpipetirali 10 ml 65 % HNO₃, jih zaprli in pustili čez noč. Nato smo jih segrevali v mikrovalovni pečici po programu iz preglednice 11. Vsebinsko

smo zavrgli, lončke splaknili z bidestilirano H₂O in posušili. Na tej točki smo se odločili za uporabo super čistih reagentov in izključno bidestilirano H₂O, kot se priporoča pri analizah elementov v sledovih. Ponovno smo v vseh 12-ih teflonskih posodah naredili slepi vzorec s 4 ml 65 % HNO₃ + 0,5 ml 30 % H₂O₂, mikrovalovno obdelali po programu iz preglednice 11 in po meritvah z ETAAS izbrali 7 najčistejših posod. V teh 7 izbranih teflonskih posodah smo ponovno naredili slepe vzorce s 4 ml 65 % HNO₃ + 0,5 ml 30 % H₂O₂, nato pa še mikrovalovni razkroj vzorcev pese, repe, hrena, 2 paralelki fižola, 2 paralelki referenčnega vzorca NIST-SRM 1515 z odtehto 0,3 ± 0,0001 g, enakimi količinami reagentov in enakim programom, kot je zapisan v preglednici 11. Ohlajeno vsebino teflonskih lončkov smo kvantitativno prenesli v 25 ml bučke in z bidestilirano H₂O dopolnili do oznake. Vzorčne raztopine smo prenesli v plastične epruvete in jih do meritev shranili v hladilniku na 5 °C.

3.3.4 Pedološke analize tal

Analize tal so zajemale mehanske analize, meritve pH in določitev vsebnosti celokupne organske snovi. Ker so pedološke analize tal opravili zunanji sodelavci v centru za pedologijo in varstvo okolja na Biotehniški fakulteti Univerze v Ljubljani, je v tem poglavju metodologija opisana na kratko. K pedološkim analizam tal štejemo tudi določitev vsebnosti vode, vendar je ta opisana že v poglavju 3.3.1. Uporabljeni so bili posušeni in presejani vzorci tal.

Mehanska analiza tal nam pove o deležu mineralnih delcev različnih velikosti (≤ 2 mm) oz. teksturi tal. Metoda temelji na sedimentacijskih, dekantacijskih in dehidracijskih tehnikah. Izvedene so bile analize s sedimentacijsko - pipetno metodo. Rezultati so bili podani kot teksturni razredi po ameriški teksturni klasifikaciji.

Meritve pH oz. reakcija tal je podana v pH enoti in jo komentiramo kot potencialna kislost tal. Potencialna kislost zajame poleg H⁺ ionov v talni raztopini tudi adsorptivno vezane, ki jih določamo v talni raztopini po izmenjavi. Za izmenjavo se uporablja KCl ali NaCl, kjer K⁺ ali Ca⁺ ioni izmenjajo H⁺ ione. Elektrometrična metoda je bila izvedena po SIST ISO 10390.

Organsko snov v tleh določamo posredno preko določanja organskega C v tleh. Metoda je selektivna na določanje C vezanega v humusu. Elementarnega C ne zajame. To je mokri sežig s K₂Cr₂O₇ in H₂SO₄ brez zunanjšega segrevanja. Uporabljena metoda po Walkley - Blacku je modificirana metoda po SIST ISO 14235. Rezultati so podani v masnem deležu (%) organske snovi (Zupan in sod., 1999).

3.4 KVANTITATIVNO DOLOČANJE KROMA Z ATOMSKO ABSORPCIJSKO SPEKTROSKOPIJO (AAS)

Za določitev vsebnosti kroma v vzorčnih raztopinah pripravljenih z metodo kislinskega razklopa v mikrovalovni pečici in tehniko sekvenčnih ekstraktij smo uporabili metodo elektrotermične atomske absorpcijske spektroskopije. Določanje kroma v raztopinah pripravljenih s tehniko sekvenčnih ekstraktij in mokrega razkroja pri normalnem tlaku smo izvedli s plamensko atomsko absorpcijsko spektroskopijo.

3.4.1 Atomska absorpcijska spektroskopija (AAS)

Atomska spektroskopija se uporablja za kvalitativno in kvantitativno določanje okoli 70 kemijskih elementov. Je tehnika, pri kateri prosti uparjeni atomi absorbirajo elektromagnetno valovanje pri specifični valovni dolžini. Rezultat je absorpcijski signal, ki je sorazmeren s koncentracijo prostih atomov na optični poti. Občutljivost AAS metod je reda velikosti od 10^{-6} (ppm) do 10^{-9} (ppb). Dodatne prednosti so še hitrost, relativna enostavnost, visoka selektivnost, občutljivost, ponovljivost, pravilnost, dostopnost in zmerni stroški. Spektroskopska določitev atomskih vrst se lahko izvaja samo v plinskem mediju, v katerem so posamezni atomi ali njihovi ioni ločeni med seboj. Zato je atomizacija kritična faza v procesu. Ivanova (2005) jo je definirala kot skupek procesov koncentriranja, uparevanja in razkroja kemijskih spojin. Temperature atomizacije so v območju od 1200 do 3150 °C. Po načinu atomizacije se ločijo metode AAS. Atomizacije je lahko plamenska ali elektrotermična. Izbira primernega načina je odvisna od koncentracije analita v vzorcu, lastnosti analita, agregatnega stanja vzorca in količine vzorca je zapisala Ivanova (2005). Merjeni fizikalni parameter je absorbanca, ki je posledica svetlobne absorpcije atomov v nevzbujenem stanju. Svetlobno vzbujeni atomi dajejo omejeno število ozkih spektralnih vrhov in linij (Skoog in sod. 1994; Ivanova, 2005). Temperatura določa stopnjo atomizacije in razmerje vzbujenih, nevzbujenih, ioniziranih atomov. Ti parametri vplivajo na moč opazovanega signala. Razmerje med vzbujenimi in nevzbujenimi atomi opisuje Boltzmannova razporeditvena enačba.

$$\frac{N^*}{N^0} = \frac{g^*}{g^0} \times e^{-\Delta E/kT} \quad \dots(6)$$

N^*/N^0 - razmerje atomov višjega in nižjega energijskega nivoja

g^0 - število deformiranih stanj nižjega energijskega nivoja

g^* - število deformiranih stanj višjega energijskega nivoja

ΔE - energija potrebna, da atom preide v višji energijski nivo [J/atom]

k - Boltzmannova konstanta ($1,381 \times 10^{-23}$ J/K)

T - temperatura plamena [°K]

Iz enačbe 6 je razvidno, da je razmerje N^*/N^0 temperaturno odvisno. Absorpcija je najintenzivnejša v nevzbujenem stanju atoma. Pri običajnih temperaturah atomizacije pri AAS je odstotek vzbujenih atomov zelo majhen ($< 0,1$ %), zato ne vpliva dosti na merjeni absorpcijski signal (Harris, 1999). Atom je v nevzbujenem/osnovnem stanju pri absolutni temperaturni ničli. Zato termin nevzbujeno stanje v tem kontekstu pomeni najnižje

vzbujeno stanje. Da bi razumeli različna energijska stanja atoma, moramo poznati njegovo elektronsko konfiguracijo, ki temelji na dveh principih:

- orbitale (energijski nivoji) so polno zasedene od najnižjega proti višjim energijskim nivojem,
- vsi elektroni v atomu morajo biti v različnih deformiranih stanjih, kar pomeni, da se razlikujejo v vsaj enem kvantnem številu.

Pri spektroskopskih pojavih sodelujejo valenčni elektroni in njihova deformirana stanja. Večje število deformiranih stanj pomeni večje število spektroskopskih pojavov in absorpcijskih črt. Pri kromu poznamo 504 deformiranih stanj valenčnih elektronov, kar je največ med prehodnimi elementi.

Določen energijski nivo atoma lahko absorbira samo točno določeno količino svetlobe s točno določeno valovno dolžino. Ko je atom izpostavljen svetlobi določene valovne dolžine (frekvenca ustreza enačbi 7), njegovi elektroni del te svetlobe absorbirajo in prehajajo iz nižjih v višje energijske nivoje. Princip je prikazan na sliki 13.

$$\nu = \frac{E_1 - E_0}{h} \quad \dots(7)$$

E_1 - energija višjega (vzbujenega) energijskega nivoja [J/atom]

E_0 - energija nižjega (osnovnega) energijskega nivoja [J/atom]

h - Planckova konstanta [$6,626 \times 10^{-34}$ Js]

Intenzivnost vpadne svetlobe (I_0) se ob prehodu skozi absorpcijski medij zmanjša (I), kar je posledica absorpcije nevzbujenih atomov. Iz izmerjenih parametrov I_0 in I se določi absorbanca (A), ki je sorazmerna koncentraciji prostih in nevzbujenih atomov analita v plamenu/kiveti. Ta dogodek opisuje Beer - Lambertov zakon enačbe 8:

$$\begin{aligned} I &= I_0 e^{-klc} \\ T &= \frac{I}{I_0} = e^{-klc} \\ A &= -\log_{10}(T) = \frac{k}{2,3} lc = alc \end{aligned} \quad \dots(8)$$

T - propustnost

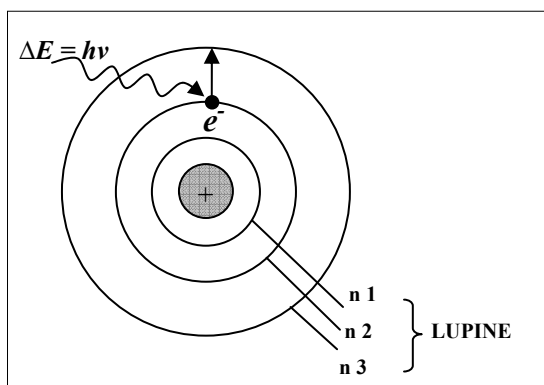
k - absorpcijski koeficient analita pri specifični valovni dolžini [cm^{-1}]

a - koeficient molarne absorptivnosti [cm^{-1}]

l - dolžina plamena/kivete

c - koncentracija analita

Tako dobimo absorpcijske črte, ki morajo biti postavljene v spektralnem območju od 190 do 860 nm, da jih standardni AA spektrometri lahko zaznajo (Ivanova, 2005).

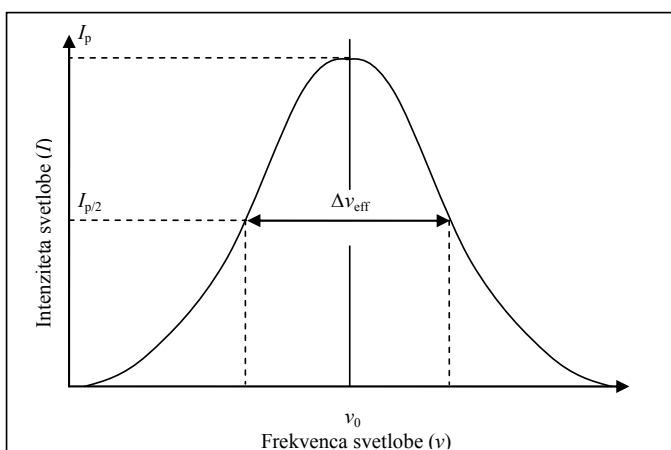


Slika 13: Princip absorpcijskega procesa (Jacobs in sod., 2005: 267)

Elektron atoma se zadrži v vzbujenem stanju samo 10^{-7} do 10^{-9} sekunde, nakar se povrne v osnovno stanje. Ob tem emitira svetlobo enake frekvence kot je bila absorbirana. Iz do sedaj povedanega bi lahko sklepali, da je spektralna širina absorpcijskih črt neskončno ozka. Vendar je širjenje črt odvisno od treh dogodkov, ki se med seboj seštevajo:

- naravno širjenje je odvisno od trajanja vzbujenega stanja in je v razponu od 10^{-5} do 10^{-3} nm,
- Dopplerjevo širjenje je sorazmerno z absolutno temperaturo in opisuje naključno gibanje atomov. V temperaturnem območju od 20 do 3000 °C se spektralne črte širijo v razponu od 10^{-5} do 10^{-2} nm,
- tlačno širjenje opisuje sorazmernost tlaka z številom trkov atomov. Po vsakem trku se energija atoma spremeni in posledica je sprememba absorpcijske črte. Pri atmosferskem tlaku se črte širijo v razponu od 10^{-6} do 10^{-2} nm.

Profil spektralnih črt (slika 14) je označen z osrednjo frekvenco ν_0 , maksimalno intenzivnostjo I_p in frekvenčno razporeditvijo s širino $\Delta\nu_{\text{eff}}$ pri $I_{p/2}$ (Ivanova, 2005).

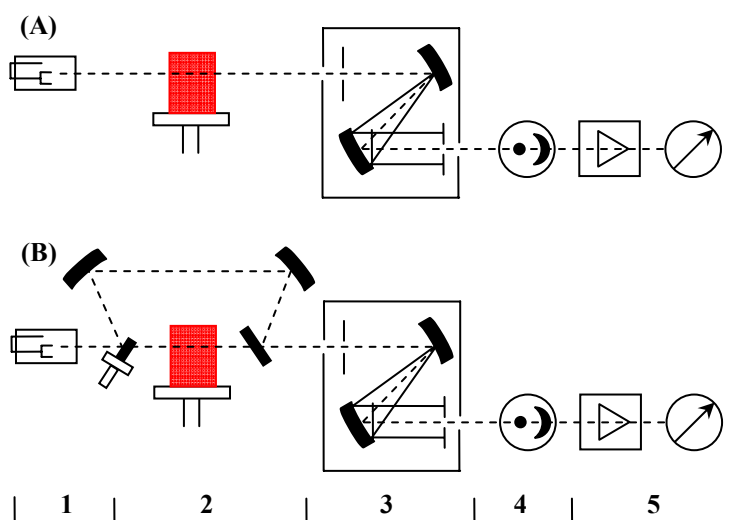


Slika 14: Profil in lastnosti spektralne črte (Ivanova, 2005: 153)

Osnovne komponente AA spektrometra si sledijo v naslednjem vrstnem redu:

1. **Vir svetlobe** emitira svetlobo določene valovne dolžine.
2. **Vzorčna celica**, v kateri se nahajajo uparjeni atomi pridobljeni z plamensko ali elektrotermično atomizacijo.
3. **Monokromator** izolira svetlobo v ozkem območju valovnih dolžin.
4. Izoliran žarek gre v **fotodetektor s fotopomoževalko**, ki pretvori svetlobni v električni signal.
5. Električni signal se skozi **elektroniko** ojača in izpiše kot absorbanca.

Spektrometri so opremljeni z dvema različicama optičnih sistemov, enožarkovni ali dvožarkovni, kot kaže slika 15. Prvi sistem temelji na meritvah spremenljive intenzitete svetlobnega žarka na eni optični poti. Ima malo optičnih komponent, zato ni večjega zmanjšanja intenzivnosti žarka. Korekcije zaradi instrumentalnih variacij, kot so spremembe intenzivnosti izvorne svetlobe, s tem sistemom niso možne. V drugem sistemu se svetloba ob izvoru periodično pošilja v vzorčni in referenčni žarek. Referenčni žarek služi kot nadzor izvorne intenzitete svetlobe. Opazovana absorbanca se določi z razmerjem intenzitete vzorčnega in referenčnega žarka. Na rezultat ne vplivajo motenja zaradi sprememb intenzivnosti izvorne svetlobe (Ivanova, 2005).

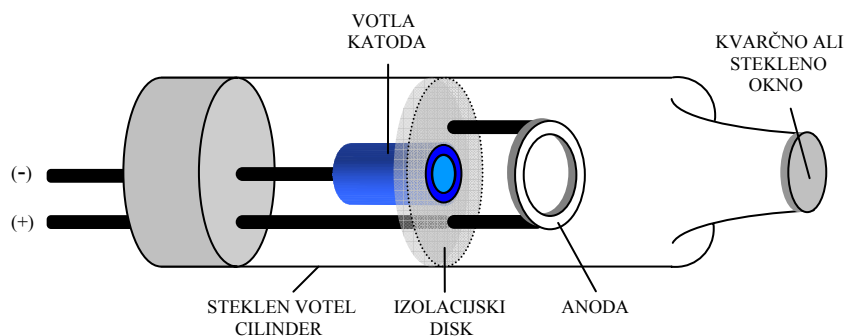


Slika 15: Osnovna sestava AA spektrometra. (A) Enožarkovni spektrometer. (B) Dvožarkovni spektrometer (Ivanova, 2005: 154)

Kot vir svetlobe se najpogosteje uporabljajo žarnice z votlo katodo (HCL), spektralne žarnice ter visokofrekvenčne brezelektrodne žarnice. Te emitirajo svetlobo določene valove dolžine t.i. spektralne črte za enega ali več elementov.

Žarnice z votlo katodo (slika 16) so dostopne za večino elementov določljivih z AAS. Osnovne komponente žarnice so steklen votel cilindar, v katerem so s steklom prepustnim za emitirano svetlobo zaprti katoda, anoda in plin. Katoda je narejena iz elementa katerega analiziramo (Ivanova, 2005). Anoda pa iz volframa. Plin v žarnici je argon ali neon in je pod tlakom 130 - 700 Pa. Ko med anodo in katodo steče tok visoke napetosti (300 V), del inertnega plina ionizira. Električni tok (5 - 15 mA) pozitivno nabite ione plina skozi

magnetno polje pospeši proti negativno nabiti katodi. Ob trku iz nje ioni izbijejo atome v plinsko fazo. Prosti atomi zaradi trkov z visoko energijskimi elektroni preidejo v vzbujeno stanje. Ob povrnitvi v osnovni energijski nivo atomi emitirajo fotone. Atomsko žarčenje ima enako valovno dolžino kot jo v plamenu ali kiveti absorbirajo atomi analita (Harris, 1999; Skoog in sod., 1998). Rezultat emisijskega spektra je seštevek emisijskih linij katodnega materiala in plina v žarnici. Zato je izbira plina omejena na tiste, katerih emisijske linije se ne ujemajo z emisijami katodnega materiala (Fifield in Kealey, 1995).



Slika 16: Shema žarnice z votlo katodo (Harris, 1999: 628)

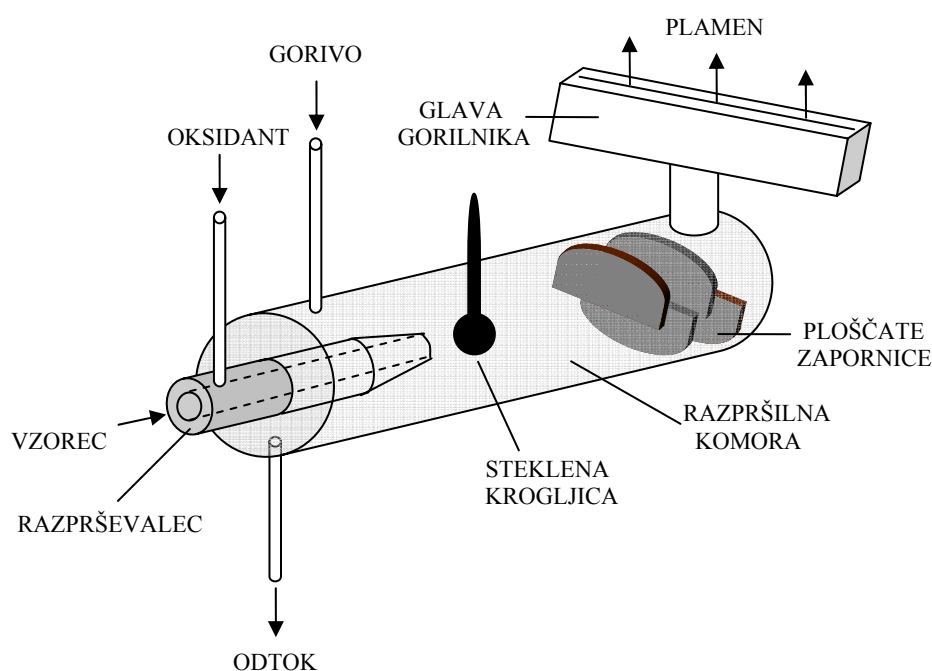
Glavne sestavine monokromatskih sistemov so reže in disperzijski element, ki ločijo elektromagnetno žarčenje na dele različnih valovnih dolžin. Ko svetloba pade skozi vhodno režo, je usmerjena na disperzijski element, ki bazira na odboju (*refleksiji*) in spremembi smeri (*refrakciji*) žarov. Skozi izhodno režo pride samo svetloba željene valovne dolžine (Ivanova, 2005). Večina AA spektrometrov je opremljenih z monokromatorji, ki prepuščajo UV (10 - 400 nm) in vidno (400 - 700 nm) svetlobo. Monokromator je vedno lociran med plamenom/kiveto in detektorjem. Tu ima pomembno vlogo pri odstranjevanju emisij plamena in termično vzbujenega analita, ki emitira svetlobo, na katero je monokromator nastavljen. Monokromator prepušča samo določeno količino svetlobe in s tem eliminira take interference (Skoog in sod., 1994).

Fotodetektorji vsebujejo fotopomnoževalno cev. Detektorji ojačajo vhodni signal za faktor 10^8 . Fotopomnoževalka je sestavljena iz steklene vakuumske cevi, v kateri so fotokatoda, več diod in anoda. Ko zunanji foton pade na fotokatodo, iz nje izbije primaren elektron, ki je usmerjen v serijo zaporednih diod. Skozi verigo diod se število sekundarnih elektronov močno pomnoži. Na koncu elektroni dosežejo anodo, ki električni potencial spremeni v oster pulz električnega toka (Ivanova, 2005; Photomultiplier, 2007).

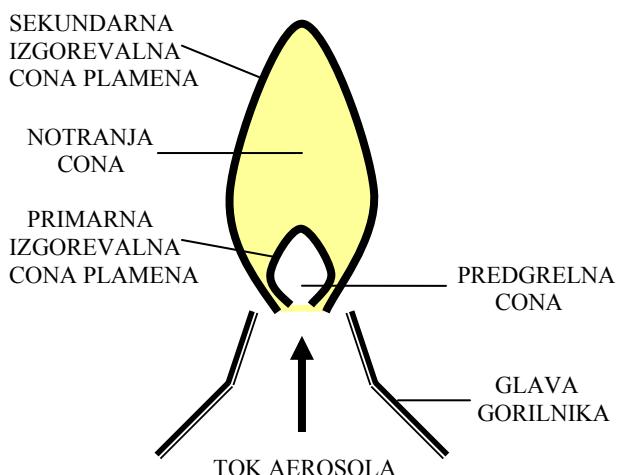
3.4.2 Plamenska atomska absorpcijska spektroskopija (PAAS)

Plamenski absorpcijski spektrometri so opremljeni z predmešalnim gorilnikom, v katerem se gorivo, oksidant in vzorec zmešajo pred uvedbo v plamen. Hiter tok oksidanta, ki se priključi vzorčni kapilari povleče skozi pnevmatski razprševalec nekaj ml raztopine vzorca. Na izhodu kapilare se tekočina razbije v drobne kapljice, katere se na stekleni kroglici razbijejo še na manjše delce. Tako suspenzijo tekočine in plina imenujemo aerosol. Tok aerosola gre nato mimo ploščatih zapornic, ki ga dodatno zmešajo in preprečijo nadaljnjo pot kapljicam $> 10 \mu\text{m}$. Odvečna tekočina se zbira na dnu razpršilne

komore in odvede. Aerosol, ki pride do gorilnika vsebuje okrog 5 % dovedenega vzorca v razprševalec. Gorilnik je zadnji element, skozi katerega gre aerosol. Dolžina reže gorilnika je od 5 - 10 cm, širina pa okrog 1 mm. Skico sistema predstavlja slika 17. Najpogostejša kombinacija gorivo - oksidant sta acetilen (etin) in zrak, ki zagotavljata temperaturo plamena od 2400 od 2700 °K. Za elemente, ki za atomizacijo zahtevajo višje T, se običajno uporablja kombinacija acetilen - didušikov oksid, katere plamen lahko doseže 3100 °K. V profilu plamena (slika 18) aerosol najprej doseže predgrelni cono, v kateri se segreva s toplotno kondukcijo in radiacijo iz primarne izgorevalne cone. Tekoči del kapljice v plamenu izhlapi; ostala trdna snov pa atomizira. Hill (2005) je atomizacijo v plamenu opisal v naslednjem vrstnem redu: 1. Topljenec izhlapi 2. Nastane megla trdih delcev 3. Molekule soli izhlapijo ali sublimirajo 4. Razpad molekul v atome. Analit se v plamenu zadrži $\approx 10^{-4}$ s. Mnogo elementov na poti skozi plamen tvori termostabilne molekule oksidov in hidroksidov, ki nimajo enakih absorpcijskih spektrov. Posledica je šibkejši atomski signal. Molekule lahko tudi emitirajo svetlobo, ki predstavlja motnjo. Plamen z več goriva (*redukcijski plamen*) s presežki ogljika reducira tvorbo kovinskih oksidov in hidroksidov. Na drugi strani da plamen z več oksidanta (*oksidacijski plamen*) višjo temperaturo, kar zahtevajo nekateri elementi. Atomizacija poteka v notranji redukcijski coni in se zaključi v sekundarni coni plamena, kjer se izgorevanju priključi zunanji zrak. Pri tem moramo upoštevati, da je lokacija plamena, v katerem je merjena atomska absorpcija največja, odvisna od vrste analita kot tudi pretoka aerosola, vrste goriva in oksidanta. Sam plamen emitira svetlobo, ki jo je potrebno odšteti od skupnega signala, da dobimo analitski signal (Harris,1999). Ivanova (2005) kot največjo slabost plamenske atomizacije navaja občutljivost, ki je omejena na red $mg_{analita}/l_{vzorca}$. Potrebne relativno velike količine vzorčne raztopine, kratek čas zadrževanja analita v plamenu, ki povečuje možnost nepopolne atomizacije in redčenje analita s presežkom goriva pa so slabosti, ki jih omenja Hill (2005). Kot prednost pa navaja enakomeren in miren signal.



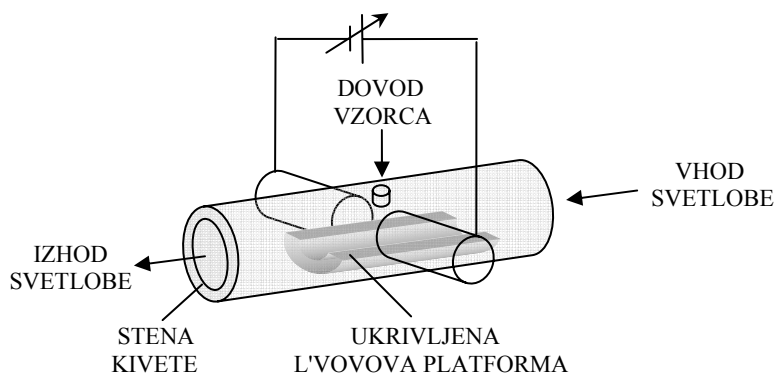
Slika 17: Razprševalna komora (Harris, 1999: 619)



Slika 18: Shema prečnega prereza plamena pri PAAS (Skoog in sod, 1998: 208)

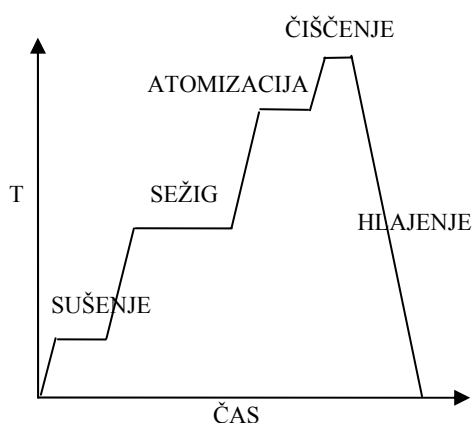
3.4.3 Elektrotermična atomska absorpcijska spektroskopija (ETAAS)

Električno greta grafitna kiveta nudi boljšo občutljivost od plamena in zahteva manj vzorca. Površine kivete, kot tudi platforme, so prevlečene s pirolitičnim grafitom. Ta gosta plast ogljika ščiti relativno porozen grafit pred absorpcijo plinov in oksidacijo pri visokih temperaturah. Poleg tekočih vzorcev je možno operirati tudi s trdimi (prah, blato), kjer pa se srečujemo z večjimi tveganji izgub, kontaminacij in nehomogenosti. Od 1 - 100 μl tekočega vzorca se spusti v kiveto skozi odprtino na sredini. V notranjosti kivete je nameščena ukrivljena ali ploščata platforma (*L'vovova platforma*). Na platformi kivete mora vzorec ostati na majhni površini. Razpršen vzorec po kiveti vodi v slabo pravilnost in ponovljivost meritev. Ta problem najlažje rešimo s primerno nastavitvijo avtomatske dozirne naprave. Platforma se greje s toplotno radiacijo iz stene kivete, kar pomeni, da je temperatura platforme vedno v zamiku s temperaturo stene. L'vov je s takim načinom segrevanja zmanjšal kemijske interference. Atomi analita ob atomizaciji preidejo v ravno tako ali bolj vroče okolje in tako se zmanjša možnost tvorbe molekulskih vrst in kondenza. Hitrost gretja je 2000 $^{\circ}\text{K/s}$. Najboljše rezultate daje bočno greta kiveta (slika 19), ker zagotavlja konstantno temperaturo po celi dolžini.



Slika 19: Shema bočno grete kivete z ukrivljeno L'vovovo platformo (Harris, 1999: 621)

Čelno grete kivete na sredini razvijejo višjo T kot na koncih. Zato atomi na hladnejših delih kondenzirajo in se ponovno uparijo ob naslednji meritvi. Motnja od prejšnje meritve se imenuje spominski učinek. Segrevanje kivete poteka v treh ali več korakih. Prvi korak je namenjen sušenju, ki za 20 s pri 125 °C odstrani topilo. Vzorec ne sme zavreti, da ne pride do pršenja po kiveti. Sledi sežig (*piroliza*), ki traja 60 s pri 1400 °C in odstrani organsko snov. Sežig organskih snovi ustvarja dim, ki predstavlja motnjo v procesu. Nadaljuje se atomizacija za 10 s pri 2100 °C, kjer se analit upari (*atomizira*). Ker kiveta zadrži atomiziran vzorec na optični poti nekaj sekund, dobimo boljšo občutljivost. V tem koraku je absorbanca časovno odvisna. Doseže maksimum in se zmanjša, ko atomi zapustijo kiveto. Po atomizaciji se kiveta očisti ostankov za 3 s pri 2500 °C in hitro ohladi za naslednjo meritev. Grafični prikaz segrevanja kivete je prikazan na sliki 20. Ob zgoraj navedenih temperaturah in trajanjih je potrebno poudariti, da ima vsak analit in vzorec svoje optimalne temperaturne in časovne nastavitve.



Slika 20: Grafični prikaz segrevanja grafitne kivete

Kiveta se čisti z inertnim plinom (argon ali neon) med vsakim korakom, razen med atomizacijo z namenom odstraniti hlapne in moteče komponente. Tok plina je speljan tudi okoli zunanje površine kivete in s tem preprečuje oksidacijo razžarjene grafitne kivete.

Vzorec je sestavljen iz analita in okolja (*matriks*), ki predstavlja vse drugo. Med sežigom se matriks odstrani. Da pri tem ne bi izgubljali analita, se vzorcu doda snov imenovana *matrix modifier*, ki povečuje hlapnost matrixa ali pa zmanjšuje hlapnost analita. S povečanjem hlapnosti matrixa se najlažje izognemo motnjam dima (Harris, 1999; Ivanova, 2005).

3.4.4 Interference

Interferenca se zgodi, ko substanca, ki ni analit poveča ali zniža odgovor analitske metode. Rezultat je več ali manj analita, kot ga je dejansko prisotnega (Harris, 1999). Problem interferenc je veliko večji v ETAAS kot v PAAS. Razdelimo jih v tri skupine: spektralne, kemijske in fizikalne spremembe vzorcev in standardov, ki vodijo v netočnost rezultata. Spektralne interference vključujejo spremembe v količini svetlobe, ki doseže detektor. Kemijske interference vključujejo kemijske reakcije med analitom in komponentami vzorca, ki zmanjšujejo količino prostih atomov analita v procesu atomizacije. Fizikalne

interference vključujejo razlike v fizikalnih lastnostih med standardi in vzorci (Butcher, 2005). Podrobnejše opredelitve interferenc pri ETAAS so podane v preglednici 12.

Preglednica 12: Tipi interferenc v ETAAS (Butcher, 2005: 158)

Interference	Princip interferenc	Opis
spektralne	spektralno prekrivanje	Svetlobo absorbira element, ki ni analit. Dogaja se redko, ker so emisijski spektri HCL ožji od absorpcijskih spektrov atomov. Pomembna je velika konc. neanalita.
	pršenje svetlobe	Pršenje se zgodi na delcih, ki pridejo iz anorg. soli, razkroja organskih snovi, dima in grafitne kivete pri visokih T. Učinek pršenja se povečuje z velikostjo delcev in krajšo valovno dolžino vpadne svetlobe.
	molekularna absorpcija	Majhne molekule (npr. NaCl), ki izvirajo iz vzorčnega matriksa absorbirajo svetlobo.
kemijske	tvorba hlapnih komponent	Reakcija med analitom in matriksom da hlapen produkt, ki izhlapi iz kivete že med sežigom matriksa.
	tvorba nehlapnih komponent	Reakcija med analitom in matriksom da nehlapen stabilen produkt, ki zmanjšuje tvorbo prostih atomov analita med atomizacijo.
	interference plinske faze	Interference plinske faze se nanašajo na kemijske reakcije med analitom in neanalitom v plinski fazi.
fizikalne	razlike fizikalnih lastnosti	Lastnosti kot sta viskoznost in površinska napetost vplivata na razpršenost vzorca po stenah kivete. To lahko povzroči interakcije analit - grafit in zniža stopnjo atomizacije.

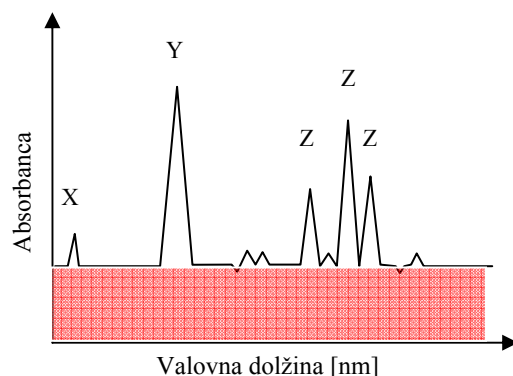
Hill (2005) je interference PAAS razdelil v tri skupine: kemijske, ionizacijske in spektralne. Kemijske interference lahko izvirajo iz vzorčne raztopine in iz plamena. Predstavljajo glavni tip interferenc v PAAS. Nižji absorpcijski signal povzroči nepopolna atomizacija analita zaradi tvorbe termostabilnih spojin z oksidi matriksa, drugimi atomi ali radikali. Najpogostejši interferenti so fosfati, sulfati in silikati. Kemijske interference se prepreči z uvedbo vročega plamena, optične poti višje v plamenu, ali t.i. *matrix modifierja*.

Ionizacijske interference se zgodijo samo v plinski fazi. Ionizacija je močno odvisna in raste s temperaturo. Posebno problematični so elementi z nizkim ionizacijskim potencialom (1. in 2. skupina PSE). V plamenu del analita ionizira. Posledično pade absorpcijski signal. Obseg ionizacije danega elementa pri dani temperaturi je odvisen od njegove vsebnosti. Pri večini elementov je ionizacija močnejša pri nižjih koncentracijah. Ta pojav lahko vpliva tudi na ukrivljanje umeritvene krivulje. Ionizacijske interference se lahko omejijo z uporabo hladnega plamena (zrak - vodik), ki pa ni primeren za vse elemente. Drugi pristop je dodatek zaviralca ionizacije. Vzorcju in standardu se lahko doda ionizirajoč element (npr. kalij), ki v plamenu močno ionizira. Ionizacijska enačba analita ($M_{(g)} \leftrightarrow M_{(g)}^+ + e_{(g)}^-$) se posledično pomakne v levo.

Spektralne interference PAAS so zelo redke in se nanašajo na molekularno prekrivanje absorpcijskih črt. Večina spektralnih interferenc se odpravi s t.i. korekcijo ozadja.

3.4.5 Korekcija ozadja

Signali ozadja se pojavijo z absorpcijo, emisijo in pršenjem svetlobe, povzročenim od matriksa, plamena ali razgrete kivete. Slika 21 prikazuje absorpcijski spekter vzorca, ki vsebuje elemente X, Y in Z. Ostri atomski signali so naloženi na široko ozadje (rdeče polje). Če ne odštejemo ozadja, dobimo napačen rezultat. Motnja ozadja se pogosteje pojavlja pri ETAAS, ko se v fazi sežiga pojavi dim, ki razprši svetlobo (Harris, 1999).



Slika 21: Elektrotérmični atomski absorpcijski spekter vzorca z elementi X, Y in Z (Harris, 1999: 629)

Metod za korekcijo ozadja je več. Opisani sta tisti, s katerima so bili opremljeni spektrometri, ki smo jih uporabljali.

Korekcija ozadja z D₂ žarnico (ali drug izvor kontinuirane svetlobe) temelji na izmenjevanju D₂ in HCL svetlobe. Emisijski spekter D₂ žarnice in nastavitev monokromatorja sta tako široka, da je zanemarljiv del D₂ svetlobe absorbiran s strani analita. Zato se smatra, da je svetloba iz D₂ žarnice absorbirana in pršena samo od ozadja. Na drugi strani je svetloba HCL absorbirana od analita ter absorbirana in pršena od ozadja. Razlika med absorbancama je absorbancia zaradi analita (Harris, 1999).

Zeemanova korekcija ozadja temelji na Zeemanovem efektu. Atomi analita obstajajo z različnimi elektronskimi konfiguracijami, vendar enakimi energijskimi nivoji. Kot taki dajo eno samo absorpcijsko črto. Ko te iste atome izpostavimo magnetnemu polju, se energijski nivoji rahlo spremenijo, zato dobimo več absorpcijskih črt (σ^- , π , σ^+). Med virom svetlobe in kiveto je rotirajoč polarizator, ki izmenično prepušča ravninsko polarizirano svetlobo, ki je pravokotna proti drugi. Ko je izvorna svetloba vzporedno polarizirana z magnetnim poljem, predstavlja absorpcijo analit in ozadje. Ko pa je izvorna svetloba pravokotno polarizirana glede na magnetno polje, predstavlja absorpcijo samo ozadje. Odšteta absorbancia pravokotnega od vzporednega dela meritve nam da korigiran rezultat (Skoog in sod. 1998; Zeeman effect, 2008).

3.4.6 Umeritvena krivulja, občutljivost, spodnja meja zaznavnosti in območje zanesljivosti

Umeritvene krivulje se dobi z meritvijo absorbanc standardnih vzorčnih raztopin, katerih koncentracija je znana. V območju, kjer velja Beer - Lambertov zakon, je krivulja

premice, ki predstavlja premosorazmernost absorbance in koncentracije. Krivuljo postavimo na podlagi absorbanec več standardnih vzorcev. Ker absorbance običajno niso v linearni odvisnosti od koncentracij standardov, dobimo krivuljo z interpolacijo. Splošna enačba umeritvene premice je:

$$y = kx + n \quad \dots(9)$$

kjer y predstavlja izmerjeno absorbanco, x odgovarjajočo koncentracijo, n presek premice z y osjo oz. absorbanca slepega vzorca in k naklon premice oz. občutljivost merjenja, ki je konstanta. Definiramo jo kot koncentracijo analita, ki daje signal 1 % absorpcije. Navadno je to tudi koncentracija, ki jo lahko še določujemo z dovolj veliko natančnostjo.

Spodnja meja detekcije je najnižja koncentracija analita, ki jo lahko razločimo od signala slepega vzorca. Izračunamo jo kot koncentracijo, ki bo dala signal 3 krat SD slepega vzorca (Ivanova, 2005; Skoog in sod., 1994; Skoog in sod., 1998).

Iz omejenega števila meritev ne moremo dobiti prave povprečne vrednosti. Območje zanesljivosti nam pove, s kakšno verjetnostjo leži prava povprečna vrednost med spodnjo in zgornjo mejo intervala. Izračuna se:

$$\mu = \bar{x} \pm \frac{ts}{\sqrt{n}} \quad \dots(10)$$

kjer je μ prava povprečna vrednost, \bar{x} izmerjena povprečna vrednost, t student faktor, s izmerjeni standardni odklon in n število meritev (Harris, 1999).

3.4.7 Kvantitativno določanje kroma v vzorcih poljščin z ETAAS

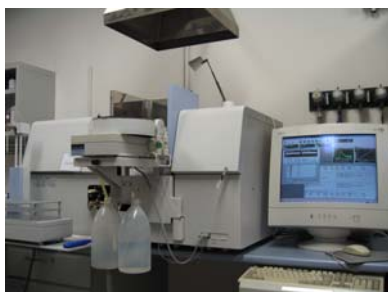
V 100 ml steklenih bučkah smo pripravili raztopine standardnih vzorcev z koncentracijami 0, 2, 4, 6 in 8 ng_{Cr}/ml. Kot standard 0 ng_{Cr}/ml in za razredčevanje smo uporabili bidestilirano H₂O. Nekajkrat smo izvedli celoten program brez vzorca, da se je kiveta prežarila in da smo preverili, če je celoten optični sistem pravilno nastavljen. Optični sistem instrumenta poleg HLC žarnice vključuje še dvožarkovni optični sistem, monokromator nastavljen po Littrowu, t.i. *solid state* detektor sestavljen iz fotodiod. Žarnica oddaja UV svetlobo z valovno dolžino 357,9 nm. Širina reže monokromatorja je 0,2 nm. Za korekcijo ozadja se uporablja Zeemanov efekt. Inertni plin, ki čisti in ščiti kiveto je argon. Količina dozirnega volumna v kiveto je 20 µl. Vsak vzorec je bil zaporedno trikrat merjen. Računalniško smo nastavili temperaturni in časovni program, skozi katerega je šel vsak vzorec. Parametri programa so navedeni v preglednici 13.

Preglednica 13: Program segrevanja kivete ob vsakem doziranju vzorca

Stopnja	Temperatura [°C]	Čas segrevanja [s]	Čas na izbrani T [s]
1	110	10	10
2	150	10	10
3	1500	5	30
4	2300	0	4
5	2550	1	3

Umeritveno krivuljo smo postavili s funkcijo "avto - zero", ki nam postavi krivuljo v izhodišče koordinatnega sistema. Dobili smo umeritveno krivuljo v linearnem območju. Rezultati slepih vzorcev so nam povedali, koliko kroma izvira iz teflonskih lončkov in reagentov. Povprečno vsebnost Cr v vseh slepih vzorcih ($n = 7$) smo odšteli od vsebnosti kroma v posameznem vzorcu. Vzorce repe in hrena smo 5 krat redčiti, ker je direktna meritev pokazala na vrednost izven linearnega območja krivulje. Ostale vzorce smo merili brez predhodnih razredčitev. Kemijskih modifikatorjev nismo dodajali. Na koncu smo standardne vzorce pomerili še kot vzorce, da smo preverili točnost in pravilnost rezultatov.

Celoten postopek določevanja kroma z ETAAS ni potekal tako gladko, kot je opisano. Težava z avtosamplerjem se je pojavila že pri meritvah standardnih vzorcev. Dozirna cevka je vzorec spustila mimo odprtine kivete, zato so bile izmerjene vrednosti ≈ 0 . Temperaturne stopnje segrevanja kivete niso bile nastavljene optimalno, zato je prihajalo do spominskega učinka. Nekaj težav smo imeli tudi z optičnim sistemom, ko žarek ni pravilno padel skozi režo monokromatorja.



Slika 22: Atomski absorpcijski spektrometer, avtosampler in računalnik, ki so bili uporabljeni pri naših meritvah

Način izračuna mase Cr na gram suhega vzorca je odvisen od razredčitev vzorcev pred meritvijo. Vzorce repe in hrena smo morali 5 krat redčiti, zato je postopek naslednji:

$$\begin{aligned}
 \frac{c_1 + c_2 + c_3}{2} &= \bar{c} [ng_{Cr} / ml] \\
 \bar{c} \times 5 &= c_{VZ} [ng_{Cr} / ml] \\
 c_{VZ} - c_{SL.VZ} &= c_{VZ.KOR.} \quad \dots(11) \\
 c_{VZ.KOR.} \times V_{EKSTRAH.} &= m_{Cr} [ng_{Cr} / odtehto] \\
 c_{Cr/SUH.VZ} &= \frac{m_{Cr}}{m_{SUH.VZ}} [ng_{Cr} / g_{SUH.VZ}]
 \end{aligned}$$

Ostale vzorce smo merili brez predhodnih razredčitev, zato velja:

$$\bar{c} = c_{VZ} [ng_{Cr} / ml] \quad \dots(12)$$

3.4.8 Kvantitativno določanje kroma v vzorcih zemlje

3.4.8.1 Kvantitativno določanje vsebnosti kroma v vzorcih zemlje, ki so bili odbelani z zaporednimi ekstrakcijami

Prvi dve stopnji sekvenčnih ekstraktij: v vodi topni krom (KH_2PO_4) in izmenljiv krom (NH_4Cl) smo analizirali z metodo ETAAS. Na podlagi objav avtorjev je bilo pričakovati, da bodo koncentracije kroma v prvih dveh stopnjah znatno nižje od koncentracij v ostalih stopnjah. Da ne bi prišli pod mejo detekcije s PAAS, smo se odločili za občutljivejšo ETAAS. Ostalih pet stopenj: krom vezan na organske molekule ($Na_4P_2O_7$), krom vezan na karbonate (Na - EDTA), krom vezan na okside in hidrokside ($HONH_2 \times HCl$), krom vezan na sulfide (HNO_3) in krom vezan na primarne in sekundarne minerale ($HNO_3 + HClO_4 + HF$) pa smo vrednotili s PAAS.

Analiza prvih dveh stopenj z ETAAS je bila izvedena z istim instrumentom, opremo in nastavitvami kot analiza rastlinskih vzorcev. Kot slepi vzorec smo uporabili ekstrahent. Standardne raztopine smo pripravili v koncentracijah 0, 2,5, 5, 7,5 in 10 ng_{Cr}/ml . Za razredčevanje smo uporabili 0,2 % HNO_3 . Vsak vzorec je bil zaporedno dvakrat merjen. Ob postavljanju umeritvene krivulje nismo uporabili funkcije "avto - zero", tako da smo dobili krivuljo z odsekom. Vzorci obeh frakcij so imeli previsoke vsebnosti, zato smo jih morali 2 krat redčiti. Kemijskih modifikatorjev nismo dodajali. Na koncu smo vse standardne vzorce pomerili še kot vzorce, da smo preverili ponovljivost in pravilnost rezultatov. Ob pregledu rezultatov smo ugotovili, da pri nekaterih vzorcih ni bilo dobre ponovljivosti meritev. Zato smo meritve teh vzorcev ponovili. Nekaj meritev smo izločili iz nadaljnje obravnave kot sistematične napake, kljub temu da niso zadostili praviloma 2,5 d ali 4 d. Izračun mase Cr na gram suhega vzorca je opisan spodaj.

$$\begin{aligned} \frac{c_1 + c_2 + \dots + c_n}{n} &= \bar{c}_{IZMER.} [ng_{Cr} / ml] \\ \bar{c}_{IZMER.} \times 2 &= c_{VZ} [ng_{Cr} / ml] \\ c_{VZ} - \bar{c}_{EKSTRAH.} &= c_{VZ.KOR.} \\ c_{VZ.KOR.} \times V_{EKSTRAH.} &= m_{Cr} [ng_{Cr} / odtehto] \quad \dots(13) \\ \frac{m_{VZ.} \times \%_{VODE}}{100} &= m_{VODE} [g] \\ m_{VZ.} - m_{VODE} &= m_{SUH.VZ.} [g] \\ c_{Cr/SUH.VZ.} &= \frac{m_{Cr}}{m_{SUH.VZ.}} [ng_{Cr} / g_{SUH.VZ.}] \end{aligned}$$

Izračunali smo še povprečne vrednosti obeh ponovitev in standardni odklon.

Ostalih pet ekstrakcijskih frakcij smo analizirali s PAAS. Optični sistem instrumenta je enažarkovni s HLC žarnico. Žarnica oddaja UV svetlobo z valovno dolžino 357,9 nm. Za korekcijo ozadja se uporablja D₂ žarnica. Širina reže monokromatorja je 0,2 nm. Kot gorivo se uporablja mešanica C₂H₂ - N₂O. Plamen in doziranje vzorca preko kapilare smo nastavljali ročno. Količina vzorca je bila ob vsakem doziranju 4 ml. Standardne raztopine smo pripravljali s primarnim standardom, dest. H₂O in ekstrahenti kot diluenti. Za Na₄P₂O₇, Na - EDTA, HONH₂ × HCl in HNO₃ ekstrakcije smo pripravili 2, 4, 6 μg_{Cr}/ml standarde in dodatnega 3 μg_{Cr}/ml za Na₄P₂O₇. Vzorce Na₄P₂O₇ in Na - EDTA smo merili direktno brez razredčevanja. Vzorce HONH₂ × HCl smo pred merjenjem redčili z destilirano vodo v razmerju 1:1. Vzorce HNO₃ smo merili brez predhodnega razredčevanja, razen vzorca 0 - 25 cm, ki smo ju predhodno redčili v razmerju 1:1. Za HNO₃ vzorce smo morali narediti dodatne standardne 9 in 15 μg_{Cr}/ml, saj so absorbance kljub razredčevanju presegle prvotno umeritveno krivuljo. Vsak vzorec je bil pomerjen 3 krat. Umeritveno krivuljo smo postavili, kot je opisano v točki 3.4.6. Primer izračuna vsebnosti kroma na gram suhega vzorca je prikazan za Na₄P₂O₇ ekstrakcije.

$$\begin{aligned} \frac{a_1 + a_2 + a_3}{3} &= \bar{a}_{Na_4P_2O_7} \\ \bar{a}_{Na_4P_2O_7} &\rightarrow c_{UMERIT.KRIV.} [\mu g_{Cr} / ml] \\ c_{UMERIT.KRIV.} \times V_{EKSTRAH.} &= m_{Cr} [\mu g_{Cr} / odtehto] \\ \frac{m_{VZ.} \times \%_{VODE}}{100} &= m_{VODE} [g] \\ m_{VZ.} - m_{VODE} &= m_{SUH.VZ.} [g] \\ c_{Cr/SUH.VZ.} &= \frac{m_{Cr}}{m_{SUH.VZ.}} [\mu g_{Cr} / g_{SUH.VZ.}] \end{aligned} \quad \dots(14)$$

$c_{UMERIT.KRIV.}$ redčenih vzorcev smo pomnožili z 2. Izračunali smo povprečne vrednosti obeh ponovitev in standardni odklon.



Slika 23: Plamenski atomski absorpcijski spektrometer, ki smo ga uporabili pri naših meritvah

3.4.8.2 Kvantitativno določanje celokupnega kroma v vzorcih zemlje

Določanje kroma v vzorcih, ki so bili obdelani z mokrim razkrojem pri normalnem tlaku, je bilo izvedeno s PAAS. Uporabljen inštrument je bil isti kot je opisan v poglavju 3.4.8.1. Postopek določanja so izvedli zunanji analitiki v laboratoriju za raziskave v okolju na fakulteti za znanosti o okolju na univerzi v Novi Gorici, zato ga tu nismo opisali.

4 REZULTATI Z RAZPRAVO

Rezultate analiz predstavljamo v naslednjih sklopih:

- Rezultati pedoloških analiz vzorcev zemlje (preglednica 14 in 15)
- Rezultati vsebnosti Cr v različnih ekstrakcijskih frakcijah vzorcev zemlje (preglednice 16, 17, 18, 19, 20, 21 in 22)
- Rezultati celokupne vsebnosti kroma v vzorcih zemlje (preglednica 23)
- Rezultati izračunanih deležev kroma v posameznih ekstraktih zemlje (preglednica 24)
- Rezultati vsebnosti kroma v poljščinah (preglednica 27).

4.1 REZULTATI PEDOLOŠKIH ANALIZ VZORCEV ZEMLJE

Pedološke analize zemlje so obsegale določitev vrednosti pH, utežnega odstotka organskih snovi, peska, finega, grobega in skupnega melja ter glin. Za oceno kemijskih oblik kroma v tleh so ti podatki ključnega pomena. Rezultati so predstavljeni v preglednici 14.

Preglednica 14: Rezultati pedoloških analiz vzorcev zemlje (Vranja Peč, leta 2005)

Vzorci zemlje	pH v CaCl	Organska snov [ut. %]	C [ut. %]	Pesek [ut. %]	Melj-grobi [ut. %]	Melj-fini [ut. %]	Melj-skupni [ut. %]	Glina [ut. %]	Teksturni razred
0 - 25 cm	6,7	10,2	5,9	1,0	22,6	46,6	69,2	19,8	MI
25 - 50 cm	6,6	5,1	3,0	8,9	18,8	47,4	66,2	24,9	MGI
50 - 75 cm	6,6	4,4	2,5	6,7	19,5	44,8	64,3	29,0	MGI
75 - 100 cm	6,6	2,8	1,6	6,5	17,7	46,2	63,9	29,6	MGI

Tla so globoka, po pedološki klasifikaciji jih uvrščamo v razred avtomorfni tal. Po tipu so rjava polkarbonatna tla na apnenicah, mestoma so tudi izprana. V vrhnjem sloju so tla meljasto ilovnata (MI). V spodnjih plasteh pa jih uvrstimo v teksturni razred meljasto glinasta ilovica (MGI). Tla so strukturno srednje težka do težka, kar pomeni, da vsebujejo velik delež glin. Melj in glina imata večjo specifično površino kot pesek, kar pomeni večjo kationsko izmenjalno kapaciteto. Melj povečuje kapilarni dvig vode, glina pa zadržuje vodo in je nosilec sorptivnih izmenjav. Ker je peska malo, je zračnost tal slabša. Zmerno kislota reakcija na apnenčasti podlagi je posledica degradacije in spiranja v preteklosti. Kratkoročno pa temu prispevajo vnos organskih snovi ter aktivnosti flore in favne. Zmerno kislota reakcija tal (razvrstitev po Sušinu) je najbolj optimalna za večino kmetijskih rastlin. pH tal je zelo blizu nevtralnega, kar ni najbolj optimalno za biološko dostopnost elementov v sledovih. Delež organske snovi je izjemno velik le v zgornjem sloju tal (ornica), kar je posledica gnojenja s hlevskim gnojem. Ornico opredelimo kot zelo močno humozno. Z globino se delež organske snovi manjša, vendar so tla na globini 1 m še vedno opredeljena kot humozna. Za primerjavo, Zupan in sod. (1999) za biološko kmetovanje priporoča od 3 - 4 % organske snovi. Visok delež organske snovi v ornem sloju omogoča dobro tvorbo strukturnih agregatov, zato ima njiva kljub visokemu deležu melja in glin ugodne fizikalne in rodovitne lastnosti tal. Organske snovi s številnimi prostimi skupinami (COO^- , CO^{2-}) povečujejo kationsko izmenjalno kapaciteto. S tem se povečuje adsorpcija nekaterih onesnaževalcev in zmanjša možnost izpiranja v podtalnico, povečuje pa se tudi sposobnost tal za zadrževanje vode.

Visok delež organske snovi in gline ter zmerno kislja reakcija tal omejujejo spiranje kroma. Isti dejavniki tudi zmanjšujejo dostopnost kroma rastlinam.

V primerjavi z rezultati Štuparja in sod. (1991) so se pedološki parametri tal nekoliko spremenili. pH tal je bil nevtralen do rahlo bazičen. Odstotek vode ni bistveno drugačen. Peska je bilo za 3 do 20 krat več, grobega melja za polovico in tudi odstotek gline je bil občutno večji. 3 do 4 krat manj pa je bilo finega melja. Razlike kažejo na močno degradacijo in spiranje mineralov s časom. Kljub razlikam ostaja razvrstitev v teksturne razrede enaka. V preglednici 15 je navedena vsebnost vode v vzorcih sveže zemlje, ki so bili obdelani z sekvenčnimi ekstrakcijami.

Preglednica 15: Mase vzorcev zemlje, ki so bili obdelani s tehniko sekvenčnih ekstrakcij in vsebnost vode (Vranja Peč, leta 2005)

Vzorci zemlje	Paralelka	Masa vzorca [g]	Vsebnost vode [ut. %]
0 - 25 cm povp. vz.	A	2,0080	27,8
	B	2,0942	
0 - 25 cm	A	2,0928	31,0
	B	2,0396	
25 - 50 cm	A	2,0690	21,0
	B	2,0253	
50 - 75 cm	A	2,0131	22,2
	B	2,0431	
75 - 100 cm	A	2,0840	21,7
	B	2,0696	

4.2 REZULTATI VSEBNOSTI KROMA V RAZLIČNIH EKSTRAKCIJSKIH FRAKCIJAH VZORCEV ZEMLJE

V preglednicah 16 do 21 so prikazani rezultati analiz vzorcev sveže zemlje, ki so bili pred AAS analizo, obdelani s 7 stopenjsko modificirano ekstrakcijsko metodo po Tessierju.

Preglednica 16: Vsebnost kroma v vzorcih sveže zemlje (Vranja Peč, leta 2005), ki so bili zaporedno ekstrahirani z 0,015 M KH_2PO_4

Vzorci zemlje	Vsebnost Cr v ekstrakcijski frakciji KH_2PO_4			
	Paralelka	V raztopini [ng _{Cr} /ml]	V suhi snovi [ng _{Cr} /g s.s.]	Povprečna vsebnost [ng _{Cr} /g s.s.]
slepi vzorec 0,015 M KH_2PO_4	/	1,39	/	/
0 - 25 cm povp. vz.	A	8,66	100	102 ± 1,9
	B	9,18	103	
0 - 25 cm	A	11,5	139	144 ± 6,6
	B	11,9	149	
25 - 50 cm	A	7,64	76,5	75,8 ± 0,9
	B	7,40	75,1	
50 - 75 cm	A	7,90	83,1	84,3 ± 1,6
	B	8,18	85,4	
75 - 100 cm	A	8,44	86,4	91,3 ± 6,9
	B	9,18	96,1	

Preglednica 17: Vsebnost kroma v vzorcih sveže zemlje (Vranja Peč, leta 2005), ki so bili zaporedno ekstrahirani z 1 M NH₄Cl

Vzorci zemlje	Vsebnost Cr v ekstrakcijski frakciji NH ₄ Cl			
	Paralelka	V raztopini [ng _{Cr} /ml]	V suhi snovi [ng _{Cr} /g s.s.]	Povprečna vsebnost [ng _{Cr} /g s.s.]
slepi vzorec 1 M NH ₄ Cl	/	1,61	/	/
0 - 25 cm povp. vz.	A	4,10	34,4	30,2 ± 5,9
	B	3,58	26,1	
0 - 25 cm	A	4,70	42,8	37,2 ± 7,9
	B	3,84	31,7	
25 - 50 cm	A	2,62	12,4	14,0 ± 2,3
	B	2,86	15,6	
50 - 75 cm	A	2,78	14,9	15,3 ± 0,6
	B	2,86	15,7	
75 - 100 cm	A	2,66	12,9	12,7 ± 0,3
	B	2,62	12,5	

Preglednica 18: Vsebnost kroma v vzorcih sveže zemlje (Vranja Peč, leta 2005), ki so bili zaporedno ekstrahirani z 0,1 M Na₄P₂O₇

Vzorci zemlje	Vsebnost Cr v ekstrakcijski frakciji Na ₄ P ₂ O ₇			
	Paralelka	V raztopini [μg _{Cr} /ml]	V suhi snovi [μg _{Cr} /g s.s.]	Povprečna vsebnost [μg _{Cr} /g s.s.]
slepi vzorec 0,1 M Na ₄ P ₂ O ₇	/	0	/	/
0 - 25 cm povp. vz.	A	3,17	34,7	32,4 ± 3,3
	B	2,27	30,0	
0 - 25 cm	A	4,57	63,6	63,0 ± 0,8
	B	4,40	62,5	
25 - 50 cm	A	1,83	22,3	21,7 ± 0,9
	B	1,68	21,1	
50 - 75 cm	A	1,26	21,6	20,5 ± 1,5
	B	1,54	19,4	
75 - 100 cm	A	1,05	12,8	13,4 ± 0,8
	B	1,13	14,0	

Preglednica 19: Vsebnost kroma v vzorcih sveže zemlje (Vranja Peč, leta 2005), ki so bili zaporedno ekstrahirani z 0,05 M Na - EDTA

Vzorci zemlje	Vsebnost Cr v ekstrakcijski frakciji Na - EDTA			
	Paralelka	V raztopini [μg _{Cr} /ml]	V suhi snovi [μg _{Cr} /g s.s.]	Povprečna vsebnost [μg _{Cr} /g s.s.]
slepi vzorec 0,05 M Na - EDTA	/	0	/	/
0 - 25 cm povp. vz.	A	1,55	21,4	17,1 ± 6,1
	B	0,97	12,8	
0 - 25 cm	A	2,39	33,1	32,3 ± 1,2
	B	2,21	31,5	
25 - 50 cm	A	0,95	11,7	12,4 ± 1,1
	B	1,06	13,2	
50 - 75 cm	A	0,41	5,2	6,8 ± 2,3
	B	0,67	8,48	
75 - 100 cm	A	0,33	4,05	4,5 ± 0,6
	B	0,39	4,87	

Preglednica 20: Vsebnost kroma v vzorcih sveže zemlje (Vranja Peč, leta 2005), ki so bili zaporedno ekstrahirani z 1 M HONH₂ × HCl

Vzorci zemlje	Vsebnost Cr v ekstrakcijski frakciji HONH ₂ × HCl			
	Paralelka	V raztopini [µg _{Cr} /ml]	V suhi snovi [µg _{Cr} /g s.s.]	Povprečna vsebnost [µg _{Cr} /g s.s.]
slepi vzorec 1 M HONH ₂ × HCl	/	0	/	/
0 - 25 cm povp. vz.	A	1,94*	53,5	44,5 ± 13
	B	1,34*	35,5	
0 - 25 cm	A	2,24*	62,2	62,4 ± 0,3
	B	2,20*	62,6	
25 - 50 cm	A	1,73*	42,4	42,5 ± 0,2
	B	1,70*	42,6	
50 - 75 cm	A	1,63*	41,7	42,6 ± 1,3
	B	1,73*	43,6	
75 - 100 cm	A	1,57*	38,4	39,9 ± 2,1
	B	1,68*	41,4	

Legenda: *- vzorci so 2 krat redčeni.

Preglednica 21: Vsebnost kroma v vzorcih sveže zemlje (Vranja Peč, leta 2005), ki so bili zaporedno ekstrahirani z 1 M HNO₃

Vzorci zemlje	Vsebnost Cr v ekstrakcijski frakciji HNO ₃			
	Paralelka	V raztopini [µg _{Cr} /ml]	V suhi snovi [µg _{Cr} /g s.s.]	Povprečna vsebnost [µg _{Cr} /g s.s.]
slepi vzorec 1 M HNO ₃	/	0	/	/
0 - 25 cm povp. vz.	A	14,2	196	160 ± 51
	B	9,39	124	
0 - 25 cm	A	9,32*	258	257 ± 2,7
	B	8,97*	255	
25 - 50 cm	A	8,64	106	104 ± 1,9
	B	8,24	103	
50 - 75 cm	A	6,78	87	97,1 ± 15
	B	8,54	108	
75 - 100 cm	A	6,81	83,4	81,0 ± 3,5
	B	6,36	78,6	

Legenda: *- vzorci so 2 krat redčeni.

Podatke v preglednici 22 smo dobili z izračunom po enačbi 4 v poglavju 3.3.1.

Preglednica 22: Vsebnost kroma v frakciji preostanka (rezidualni Cr) izračunana po enačbi 4

Vzorci zemlje	Vsebnost Cr v frakciji preostanka [µg _{Cr} /g s.s.]
0 - 25 cm povp. vz.	496
0 - 25 cm	694
25 - 50 cm	351
50 - 75 cm	241
75 - 100 cm	163

Rezultati dobljeni po tej metodi nam povedo, koliko kroma je bilo v posameznih strukturah zemlje. Ponovljivost nekaterih meritev je bila slaba. Izstopajo rezultati ornice, kar bi lahko pripisali nehomogenosti vzorca. Predvidevali smo, da ostanki kož verjetno

niso bili še popolnoma razgrajeni, zato je prihajalo do večjih odstopanj med posameznimi vzorci.

Glede na vrsto ekstrakcije med vzorci praktično ni bilo razlik v razporeditvi kroma. Razporeditev kroma je bila v naslednjem zaporedju: frakcija preostanka > HNO_3 > $\text{HONH}_2 \times \text{HCl} \geq \text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 > \text{Na} - \text{EDTA} > \text{KH}_2\text{PO}_4 > \text{NH}_4\text{Cl}$.

V vseh plasteh je največji delež kroma pripadal frakciji preostanka, ki zajema krom vezan na minerale. Vsebnosti kroma v posameznih plasteh so navedene v preglednici 22. V vseh je delež presegal polovico od celokupnega kroma. Na površju je bil delež približno 65 % in se je z globino zmanjšal do 53,9 %. Sledila je frakcija vezana na sulfide (HNO_3), v kateri se je vsebnost kroma z globino večala in v vzorcu 75 - 100 cm dosegla skoraj tretjinski delež. Frakcija, vezana na okside in hidrokside ($\text{HONH}_2 \times \text{HCl}$), je vsebovala 5,6 % delež v ornici in se v najglobljem vzorcu zvišala na 13,2 %. Frakcija, vezana na organske molekule ($\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$), je na površju vsebovala enak delež kot frakcija vezana na okside in hidrokside. V globljih plasteh so bili deleži kroma vezanega na organske molekule zelo blizu (4,1 - 5,7 %). Frakcija, vezana na karbonate (Na - EDTA), je vsebovala 2,9 % v ornici in se je zmanjšala do 1,5 % v globini 75 - 100 cm. Deleža v vodi topnega kroma (KH_2PO_4) in izmenljivega korma (NH_4Cl) sta bila zanemarljiva. Največji delež v vodi topne frakcije je vseboval komaj 0,03 % delež v globini 75 - 100 cm, medtem ko delež izmenljivega kroma v nobenem vzorcu ni dosegel niti 0,01 %.

Ekstrakti vzorca zemlje 0 - 25 cm so vsebovali največ kroma. Vsebnost kroma se je z globino hitro zmanjševala.

V frakciji preostanka je bil krom vezan na primarne in sekundarne minerale, katerih predstavnik kremen in glinasti minerali v zgornjih horizontih vežeta največje deleže celokupnega kroma. Glede na to, da je bilo pri površju gline manj kot v globini, je bil delež kroma v frakciji preostanka ravno obraten. Lahko bi rekli, da kationska izmenjalna kapaciteta glinastih mineralov še zdaleč ni bila dosežena. Posebej v globljih slojih se je krom vezal na druge snovi.

Količina kroma vezanega na sulfide je bila v vseh vzorcih na drugem mestu. Z globino se je delež kromovih sulfidov povečeval. Podatka o vsebnosti žvepla nismo imeli. Sklepali smo, da ga je globlje več kot pri površju. Vir žvepla bi lahko bile kamnine in minerali iz Zemljinega plašča. Kot vir žvepla moramo omeniti tudi kromov (III) hidrogen sulfat ($\text{Cr}(\text{HSO}_4)_3$), ki so ga uporabljali za strojenje kož. Sulfidi se zlahka vežejo s prehodnimi kovinami in produkti so karakteristično netopni (Sulfide, 2008). Količina kroma, vezanega na železove in manganove okside in hidrokside, je bila v vseh vzorcih približno enaka (39,9 - 42,6 $\mu\text{g}_{\text{Cr}}/\text{g s.s.}$). Z 62,4 $\mu\text{g}_{\text{Cr}}/\text{g s.s.}$ je izstopal le vzorec zemlje 0 - 25 cm. Vendar se je delež te frakcije z globino večal od 5,6 % pri površju do 13,2 % v najglobljem vzorcu. Zaradi podobnih vsebnosti te frakcije v vseh vzorcih lahko rečemo, da je bil krom vezan na okside in hidrokside naravnega izvora. Izjemo vzorca zemlje 0 - 25 cm bi lahko pripisali nehomogenosti vzorca. Vendar je najverjetnejši vzrok rezultatov te frakcije v računski napaki. Pri pripravi ekstrakcijskih raztopin smo namesto 34,7523 g trdega $\text{HONH}_2 \times \text{HCl}$ odtehtali le 14,7523 g. Ekstrakcijska kapaciteta raztopin je bila tako pri vseh ekstrahiranih vzorcih dosežena in del kroma vezanega na okside in hidrokside je v tej frakciji ostal neekstrahiran.

Delež organskega kroma je v primerjavi z ostalimi frakcijami predstavljal srednjo vrednost. V vseh vzorcih so bili deleži organskega kroma zelo podobni. Vsebnost organskega kroma se je v vzorcih zemlje z globino manjšala sorazmerno z manjšanjem deleža organske snovi v tleh. Iz tega bi lahko sklepali, da je bila kationska izmenjalna

kapaciteta organskih snovi dosežena. Poleg tega je majhen presežek pozitivnih H^+ ionov tekmoval s Cr^{3+} pri vezavi na negativne funkcionalne skupine organskih kislin.

Krom, vezan na karbonate, predstavlja krom zaestren z CO_3^{2-} ionom. Ugotovili smo, da se je vsebnost tega z globino konstantno zmanjševala. Deleži karbonatne frakcije niti na površju niso dosegli 3 % od celokupnega kroma in se z globino zmanjšali na 1,5 %. Glede na to, da so bila tla opredeljena kot polkarbonatna, je bilo pričakovati višje vrednosti. V tem primeru je lahko prišlo do ekstrakcije že z $Na_4P_2O_7$ v prejšnji fazi.

V vodi topni krom predstavlja kromove ione raztopljene v talni raztopini. V vodi topna frakcija je za nas najpomembnejša, ker je samo ta oblika kroma dostopna rastlinam. Rezultati analiz so pokazali, da sta bila vsebnost in delež v vseh vzorcih zanemarljiva. pH talne raztopine je bil blizu nevtralnega, kar onemogoča obstoj Cr(III) v topni obliki. Cr(VI) ioni so pri tem pH v topni obliki. Vendar je tudi adsorpcija Cr(VI) na glinaste minerale in organske snovi pri tem pH učinkovita. Ker nismo izvedli nobene tehnike ločevanja kemijskih vrst, ne vemo, kakšna sta bila deleža Cr(VI) in Cr(III) v tej frakciji. Štupar in sod. (1991) v ornici navaja 70 % Cr(VI) in ugotavlja, da se vsebnost z globino manjša. Ta podatek je lahko zaradi klimatskih dejavnikov in umetnega vnosa snovi skozi obdobje sedaj precej drugačen.

Rezultati za izmenljivi krom so bili tudi zanemarljivi. Deleži izmenljivega kroma niso nikjer presegali 0,01 %. Očitno je bil krom v tej zemlji povezan z močnimi vezmi na različne komponente.

Verjetno bi za boljše razumevanje razporeditve kroma morali meriti pH v vseh fazah ekstrakcij, saj ta bistveno vpliva na vse ekstrakcijske procese.

Rezultate vzorca 0 - 25 cm povp. vz. nismo ovrednotili, ker za ta vzorec ni bila opravljena pedološka analiza tal.

Štupar in sod. (1991) je ekstrakcije zastavil nekoliko drugače, zato lahko primerjamo le nekatere rezultate, npr. frakcije v vodi topnega, izmenljivega in organskega kroma. Frakcije amorfnega in kristaliničnega kroma so bile izvedene z drugimi ekstrahenti, zaporednimi ponovitvami ekstrakcij in ultrazvočno kopeljo. V ornici je izmeril 2 - 4 krat več v vodi topnega in 9 - 11 krat več izmenljivega kroma, organskega kroma pa tudi do 90 krat manj. V amorfni frakciji, ki smo jo mi zamenjali z ekstrakcijo z $HONH_2 \times HCl$, so bile vrednosti nižje, medtem ko so bile v kristalinični frakciji (naša HNO_3) 3 - 5 krat večje. Večja vsebnost kroma v HNO_3 frakciji bi lahko potrdila našo domnevo, da so vir žvepla odpadki strojenih kož. Vsebnost kroma v frakciji preostanka je izračunal na podoben način kot mi. Dobil je za četrtno nižje vrednosti. Količina ekstrahiranega kroma kot seštevek vseh frakcij se je z globino zelo zmanjševala, od 70 % na površju do 30 % na globini 1 m. Naši rezultati so pokazali ravno obratno. Delež z ekstrakcijami pridobljenega kroma je bil na površju okoli 35 %, v globini 1 metra pa se je povečal skoraj za 50 %. Razlika pove, da se je velik del usnjarskega kroma z leti premaknil v globino, kjer se je vezal predvsem na organske snovi, kovinske okside in hidrokside ter sulfide. V ornici je ostal le naravno prisoten krom vezan na minerale.

Glede na količino v vodi topnega kroma bi lahko trdili, da vodna telesa v bližini njive niso ogrožena. Mejna vrednost po uredbi o standardih kakovosti podzemne vode (Uredba o standardih ..., 2005) je $30 \mu g_{Cr}/l$, po popravku uredbe o kakovosti površinskih voda, ki se jih odvzema za oskrbo s pitno vodo (Popravek uredbe o ...; 2001) $50 \mu g_{Cr}/l$ in po pravilniku o pitni vodi (Pravilnik o pitni ..., 2004) $50 \mu g_{Cr}/l$. Ob spremembah fizikalnokemijskih parametrov tal bi se lahko topnost kroma v vodi povečala in tako

ogrožala kakovost voda. Štupar in sod. (1991) je izpostavil klimatske pogoje kot vpliven dejavnik, ki ga moramo upoštevati pri vrednotenju kemijskih vrst kroma v tleh.

4.3 REZULTATI CELOKUPNE VSEBNOSTI KROMA V VZORCIH ZEMLJE

V vzorcih zračno suhe zemlje smo določali celokupno vsebnost kroma s tremi različnimi metodami. Rezultati ekstrakcije z zlatotopko in razkroja z mikrovalovi niso podani, ker nam niso dali zadovoljivih rezultatov. Razkroj pri teh dveh metodah ni bil popoln. Vedno je ostala manjša količina peska. Pesek pa je znan nosilec kovin. Čas obdelave, masa vzorca in različne kombinacije reaktantov niso bistveno vplivali na razkroj vzorca. Temperature in tlaka med mikrovalovnim razklopom nismo neposredno spremljali. Zato se postavlja dvom o zadostni T in p med postopkom. Rezultati metode mokrega razkroja pri normalnem tlaku so v preglednici 23.

Preglednica 23: Rezultati celokupne vsebnosti kroma v vzorcih zračno suhe zemlje (Vranja Peč, leta 2005), ki so bili razkrojeni z metodo mokrega razkroja pri normalnem tlaku

Vzorci zemlje	Paralelka	Vsebnost Cr v suhi snovi [$\mu\text{g}_{\text{Cr}}/\text{g s.s.}$]	Povprečna vsebnost [$\mu\text{g}_{\text{Cr}}/\text{g s.s.}$]
0 - 25 cm povp. vz.	A	797	751 ± 66
	B	704	
0 - 25 cm	A	1124	1109 ± 22
	B	1093	
25 - 50 cm	A	531	532 ± 0,7
	B	532	
50 - 75 cm	A	411	408 ± 4,2
	B	405	
75 - 100 cm	A	306	302 ± 6,4
	B	297	
ref. vz. S Joaquin Soil NIST-SRM 2709	101 (certificirano 130 ± 4)		/
ref. vz. Montana II Soil NIST-SRM 2711	46 (informativno 47)		/

Povprečni vzorec ornice cele njive je v povprečju vseboval 751 $\mu\text{g}_{\text{Cr}}/\text{g s.s.}$

Vzorec ornice, odvzet samo na enem mestu, je vseboval največ kroma, 1109 $\mu\text{g}_{\text{Cr}}/\text{g s.s.}$

Vzorec zemlje na globini 25 - 50 cm je vseboval povprečno 532 $\mu\text{g}_{\text{Cr}}/\text{g s.s.}$ V primerjavi z ornico je bila vsebnost kroma v tem vzorcu za polovico manjša.

Vzorec zemlje na globini 50 - 75 cm je vseboval 408 $\mu\text{g}_{\text{Cr}}/\text{g s.s.}$ V primerjavi s prejšnjim vzorcem je bila vsebnost kroma manjša za četrtno, v primerjavi z ornico pa celo za 65 %.

Najmanjšo vsebnost kroma smo določili v vzorcu zemlje z globine 75 - 100 cm, in sicer 302 $\mu\text{g}_{\text{Cr}}/\text{g s.s.}$ V primerjavi s prejšnjim vzorcem je bila vsebnost kroma manjša za četrtno, v primerjavi z ornico pa za 75 %.

Ugotavljamo, da analizirane vsebnosti kroma v vzorcih odvzetih na enem mestu niso bile odraz cele njive, saj je imel vzorec 0 - 25 povp. vz. manj kroma kot vzorec 0 - 25 cm, odvzet na enem mestu. Domnevamo, da so bile zato tudi povprečne vsebnosti kroma s cele njive tudi v profilu drugačne od naših rezultatov.

Z uporabo standardnih referenčnih materialov smo preverjali pravilnost analiznih postopkov. NIST-SRM 2709 za krom navaja potrditveno oz. certificirano vrednost s 95 % območjem zanesljivosti. NIST-SRM 2711 navaja nepotrjeno oz. informativno vrednost.

Rezultati standardnih referenčnih materialov nam niso potrdili pravilnosti rezultatov v proučevanih vzorcih. Rezultat analize referenčnega vzorca NIST-SRM 2709 je bil 22,3 % nižji od certificirane vrednosti. Rezultat analize referenčnega vzorca NIST-SRM 2711 je bil zelo blizu informativni vrednosti. Možne so izgube analita z odparevanjem, filtracijo pred meritvijo, adsorpcijo na posode ali zaradi kemijskih interferenc med meritvijo.

Ugotovili smo, da je bil večji del kroma v zgornjih dveh plasteh zemlje. Do enakih ugotovitev je prišel Štupar in sod. (1991). V ornici je nameril od 1443 - 1823 $\mu\text{g}_{\text{Cr}}/\text{g}$ s.s., v globini 25 - 50 cm od 145 - 216 $\mu\text{g}_{\text{Cr}}/\text{g}$ s.s., v globini 50 - 75 cm od 115 - 143 $\mu\text{g}_{\text{Cr}}/\text{g}$ s.s. in v globini 75 - 100 cm 134 - 139 $\mu\text{g}_{\text{Cr}}/\text{g}$ s.s. Vsebnost Cr v ornici je bila 8 - 10 krat večja kot v neonesnaženem vzorcu. V nižjih plasteh pa so bile razlike zelo majhne. S primerjavo rezultatov vidimo, da se je velik del kroma v 15 letnem obdobju premaknil iz površja v globino. Vendar se ga zaradi nevtralnega pH zemlje še vedno veliko zadržuje v ornici.

Veliko nižje rezultate je dobil Sinha in sod. (2006). Po dolgoletnem vnašanju odpadnih usnjarskih vod na polje je v povprečju izmeril le 170 $\mu\text{g}_{\text{Cr}}/\text{g}$ s.s., kar je bilo le 5 krat več kot v neonesnaženem vzorcu. Zaznal je povečanje v vodi topnega/izmenljivega kroma.

V republiki Sloveniji imamo na področju onesnaževanja in vnašanja kroma v tla naslednje veljavne predpise: Uredba o mejnih, opozorilnih in kritičnih imisijskih vrednostih nevarnih snovi v tleh (Uredba o mejnih, ..., 1996). Ta uredba za vse vrste in rabe tal uvaja pojme mejna imisijska vrednost (100), opozorilna imisijska vrednost (150) in kritična imisijska vrednost (380 $\mu\text{g}_{\text{Cr}}/\text{g}$ s.s.). Navedene vrednosti veljajo za celokupni krom. Uredba določa še kritično imisijsko vrednost (25 $\mu\text{g}_{\text{Cr}}/\text{g}$ s.s.) za Cr^{6+} . Kritična imisijska vrednost označuje mejo, ko tla niso primerna za pridelavo rastlin, namenjenih prehrani ljudi ali živali ter za zadrževanje ali filtriranje vode. Tla, ki smo jih analizirali po tej uredbi, niso primerna za kmetijske dejavnosti.

4.4 REZULTATI IZRAČUNANIH DELEŽEV KROMA V POSAMEZNIH EKSTRAKTIH ZEMLJE

V preglednici 24 podajamo vsebnosti in izračunane masne deleže kroma v posamezni frakciji, za vse analizirane vzorce zemlje, glede na celokupno vsebnost kroma.

Preglednica 24: Vsebnost kroma in izračunani masni deleži kroma v posamezni frakciji, glede na celokupno vsebnost kroma v vzorcih zemlje (Vranja Peč, leta 2005)

Vzorci zemlje	Merske enote	Celokupni Cr	KH_2PO_4	NH_4Cl	$\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$	Na-EDTA	$\text{HONH}_2 \times \text{HCl}$	HNO_3	Rezidual. Cr
0 - 25 cm povp. vz.	$\mu\text{g}_{\text{Cr}}/\text{g}$ s.s.	751	0,10	0,03	32,4	17,1	44,5	160	496
	ut. %	100	0,01	< 0,01	4,3	2,3	5,9	21,3	66,1
0 - 25 cm	$\mu\text{g}_{\text{Cr}}/\text{g}$ s.s.	1109	0,14	0,04	63,0	32,3	62,4	257	694
	ut. %	100	0,01	< 0,01	5,7	2,9	5,6	23,1	62,6
25 - 50 cm	$\mu\text{g}_{\text{Cr}}/\text{g}$ s.s.	532	0,08	0,01	21,7	12,4	42,5	104	351
	ut. %	100	0,01	< 0,01	4,1	2,3	8,0	19,6	65,9
50 - 75 cm	$\mu\text{g}_{\text{Cr}}/\text{g}$ s.s.	408	0,08	0,02	20,5	6,8	42,6	97,1	241
	ut. %	100	0,02	< 0,01	5,0	1,7	10,3	23,8	59,0
75 - 100 cm	$\mu\text{g}_{\text{Cr}}/\text{g}$ s.s.	302	0,09	0,01	13,4	4,5	39,9	81,0	163
	ut. %	100	0,03	< 0,01	4,4	1,5	13,2	26,9	53,9

Delež ekstrahirane kroma iz zgornjih dveh plasti zemlje je bil od 31,1 do 37,6 %. V vzorcih najgloblje plasti se je delež ekstrahirane kroma povečal na 46,6 %. Štupar in sod. (1991) je dobil rezultate od 64,0 do 68,3 % v zgornji pasti. Ekstrakcijski delež se je v globini zmanjšal na 30 %. 81,4 % ekstrakcijski delež kroma je izmeril v kromovih odpadkih. S temi podatki lahko pritrdimo Changu in sod. (1984), ki pravi, da je majhen odstotek vnesenega kroma dostopen rastlinam. Dostopnost pa se z leti še zmanjšuje.

4.5 REZULTATI VSEBNOSTI KROMA V POLJŠČINAH

V preglednici 25 so podane vsebnosti kroma v teflonskih posodah in reaktantih. Povprečno vsebnost vseh slepih vzorcev smo odšteli kot je opisano v enačbi 11.

Preglednica 25: Rezultati vsebnosti kroma v slepih vzorcih

Slepi vzorci	Vsebnost v raztop. [ng _{Cr} /ml]	Povprečna vsebnost v raztopini [ng _{Cr} /ml]
C _{s.v.t.l.1}	0,41	0,34 ± 0,11
C _{s.v.t.l.2}	0,34	
C _{s.v.t.l.4}	0,13	
C _{s.v.t.l.5}	0,32	
C _{s.v.t.l.8}	0,31	
C _{s.v.t.l.9}	0,49	
C _{s.v.t.l.12}	0,39	

V preglednici 26 so zajeti rezultati vsebnosti celokupnega kroma v rastlinskih vzorcih obdelanih z metodo mokrega razkroja v mikrovalovni pečici.

Preglednica 26: Rezultati vsebnosti kroma v analiziranih poljščinah (Vranja Peč, leta 2005)

Vzorci poljščin	Masa vzorca [g]	Vsebnost v raztop. [ng _{Cr} /ml]	Vsebnost v suhi snovi [ng _{Cr} /g s.s.]	Vsebnost v svežem vzorcu [ng _{Cr} /g sv.vz.]	
pesa (krmna)	0,3855	3,76	212	30,6	
repa (krmna)	0,2925	3,89*	1633	165	
hren (navadni)	0,3079	2,03*	797	186	
ref.vz. Apple Leaves NIST-SRM 1515	0,2948	3,33	254 (info. 300)	232 ± 31	/
ref.vz. Apple Leaves NIST-SRM 1515	0,3057	2,90	209 (info. 300)		/
fižol (rjavi, zrnje)	0,3471	0,73	28,09	23,8 ± 6,1	2,5
fižol (rjavi, zrnje)	0,3348	0,60	19,41		

Legenda: * - vzorci so 5 kart redčeni.

Ker vzorcem poljščin nismo določili vsebnosti vode in energijske vrednosti smo za izračun vsebnosti Cr na gram svežega in na 100 kcal vzorca uporabili podatke iz prehranskih tablic, ki so navedeni v preglednici 27.

Preglednica 27: Vsebnost vode in kroma v jedilnih delih rastlin (Souci in sod., 2000)

Vzorci poljščin	Vsebnost vode		Vsebnost kroma		Povpr. energ. vrednost [kcal/100 g]
	Interval [ut. %]	Povprečna vsebnost [ut. %]	Interval [$\mu\text{g}_{\text{Cr}}/\text{g s.s.}$]	Povprečna vsebnost [$\mu\text{g}_{\text{Cr}}/\text{g s.s.}$]	
pesa (krmna)	82,9 - 91,7	86,2	0,1 - 8,0	2,8	41
repa (krmna)	/	89,9	0,5 - 9,0	8,1	25
hren (navadni)	/	76,6	2,0 - 4,0	3,0	63
fižol (zrnje)	/	89,5	/	2,2	33

Po pričakovanjih je vsebovalo zrnje fižola najmanj kroma, 23,8 $\text{ng}_{\text{Cr}}/\text{g s.s.}$ Ponovljivost meritev je slabša, kar je pri tako majhnih koncentracijah običajno. Korenina krmne pese je vsebovala 212 $\text{ng}_{\text{Cr}}/\text{g s.s.}$ in korenina hrena 797 $\text{ng}_{\text{Cr}}/\text{g s.s.}$ Največ, 1633 $\text{ng}_{\text{Cr}}/\text{g s.s.}$ smo namerili v vzorcu repe. Po pričakovanju so imeli zemeljski plodovi znatno večje vsebnosti kroma kot nadzemni. Razlike so velike tudi med zemeljskimi plodovi. Mnogi avtorji poudarjajo odvisnost akumulacije kroma od rastlinske vrste. Naši rezultati so te navedbe potrdili. Za potrditev teh ugotovitev bi bilo potrebno analizirati še več vrst poljščin. Za standardni referenčni material NIST-SRM 1515 je za krom podana le informativna vrednost. Poleg tega je rok veljavnosti standarda potekel že pred analizami. Certifikat priporoča uporabo HF, ker je v SRM prisotna majhna količina težko topnih silikatov. Ker pri razkroju nismo uporabili HF, smo verjetno nekaj kroma izgubili z neraztopljenimi silikati.

Primerjava naših rezultatov z rezultati Štuparja in sod. (1991) kaže, da so bili njegovi rezultati višji: v fižolu 430 $\text{ng}_{\text{Cr}}/\text{g s.s.}$, repi 830 $\text{ng}_{\text{Cr}}/\text{g s.s.}$, hrenu 1240 $\text{ng}_{\text{Cr}}/\text{g s.s.}$ in v pesi 1880 $\text{ng}_{\text{Cr}}/\text{g s.s.}$ Te večje vsebnosti se ujemajo z večjo vsebnostjo v vodi topnega kroma v tistem času.

Na primerljivih tleh je Sinha in sod. (2006) dobil 100 - 1000 krat večje vsebnosti kroma v jedilnih delih rastlin. Listnate rastline so vsebovale od 25,2 - 55,2 $\mu\text{g}_{\text{Cr}}/\text{g s.s.}$, podzemne rastline od 11,9 - 32,5 $\mu\text{g}_{\text{Cr}}/\text{g s.s.}$ in fižol kot rastlina z nadzemnim plodom 19,4 $\mu\text{g}_{\text{Cr}}/\text{g s.s.}$ Posledica vnosa odpadnih usnjarskih vod je bila velika količina mobilnega kroma, kar je mogoče povezati z visokimi rezultati. Večje vsebnosti v listnati zelenjavi je pripisal adsorpciji kroma iz onesnaženega zraka bližnjih tovarn.

V preglednici 27 so podatki iz prehranskih tablic, ki jih je objavil Souci in sod. (2000). Če te podatke primerjamo z našimi rezultati, vidimo, da so naši rezultati mnogo nižji. V hrenu smo namerili 4 krat, v repi 5 krat, v pesi 13 krat in v fižolu kar 92 krat manj kroma.

Na podlagi zgornjih primerjav lahko zaključimo, da so naši rezultati zelo nizki. Menimo, da so tako velike razlike posledica zanemarljivo majhnih količin rastlinam dostopnega kroma, ki smo ga določili v tleh.

S pomočjo podatkov iz preglednic 26 in 27 smo izračunali vsebnost kroma na gram svežega vzorca. Ugotavljamo, da je bilo največ kroma v vzorcu hrena (186 $\text{ng}_{\text{Cr}}/\text{g}$), nekoliko manj v vzorcu krmne repe (165 $\text{ng}_{\text{Cr}}/\text{g}$), precej manj v krmni pesi (30,6 $\text{ng}_{\text{Cr}}/\text{g}$) in najmanj fižol (2,5 $\text{ng}_{\text{Cr}}/\text{g}$).

Živila se ne smejo dati v promet, če vsebujejo onesnaževalo, katerega vrednosti presegajo mejno vrednost, ki jo določa uredba o izvajanju uredb Sveta in Komisije (ES) o onesnaževalih v živilih (Uredba o izvajanju ..., 2007). Krom v teh predpisih ni omenjen. Iz tega lahko sklepamo, da krom kot onesnaževalec živil v RS in EU ni problematičen. Določa ga pravilnik o živilih za posebne zdravstvene namene (Pravilnik o živilih ..., 2002). Po tem pravilniku lahko prehransko popolna živila vsebujejo do 10 $\mu\text{g}_{\text{Cr}}/100 \text{ kcal}$

za dojenčke, oziroma $1,25 - 15 \mu\text{g}_{\text{Cr}}/100 \text{ kcal}$ za otroke in bolnike. Če vsebnosti Cr v analiziranih poljščinah preračunamo na 100 kcal, ugotovimo, da se vsebnosti gibljejo od $66,0 \mu\text{g}_{\text{Cr}}/100 \text{ kcal}$ v repu, $29,6 \mu\text{g}_{\text{Cr}}/100 \text{ kcal}$ v hrenu, $7,5 \mu\text{g}_{\text{Cr}}/100 \text{ kcal}$ v pesi, do $0,75 \mu\text{g}_{\text{Cr}}/100 \text{ kcal}$ v fižolu. Iz tega lahko sklepamo, da repa in hren ne ustrezata zahtevam predpisa.

5. SKLEPI

Na osnovi opravljenih analiz smo prišli do naslednjih sklepov:

- posledice onesnaževanja tal z usnjarskimi odpadki v 70-ih in 80-ih letih prejšnjega stoletja so danes delno dokazljive. Povečane vsebnosti kroma so bile izmerjene v vzorcih zemlje, medtem ko pri rastlinskih vzorcih ne moremo govoriti o posledicah onesnaževanja,
- vsebnost kroma je bila v vzorcih zemlje največja v ornici, 751 - 1109 $\mu\text{g}_{\text{Cr}}/\text{g}$ s.s. in se je z globino manjšala do 302 $\mu\text{g}_{\text{Cr}}/\text{g}$ s.s. v najgloblji plasti,
- delež ekstrahiranega kroma iz zgornjih plasti je bil za 35 % manjši kot pred 17-imi leti, delež v globljih plasteh pa za 16 % večji,
- čeprav se je velik del kroma v 17-ih letih izpral v globlje plasti, tla še vedno niso primerna za kmetijske dejavnosti in zbiranje pitne vode,
- pedološke analize tal so pokazale na lastnosti tal, ki onemogočajo obstoj kroma v toksičnih Cr^{6+} oblikah, zato je biodostopnost kroma v analizirani zemlji ekstremno majhna,
- metode razkroja vzorcev suhe zemlje za določitev celokupnega kroma med seboj niso primerljive. Za najbolj učinkovito se je izkazala metoda mokrega razkroja pri normalnem tlaku, kot najslabša pa ekstrakcija z zlatotopko,
- za rastlinske vzorce je najbolj primeren moker razkroj v mikrovalovni pečici, predvsem zaradi manjše možnosti kontaminacije in izgube analita, kar je v vzorcih s tako majhnimi vsebnostmi kroma ključnega pomena,
- v analiziranih poljščinah je bila vsebnost Cr od 23,8 $\text{ng}_{\text{Cr}}/\text{g}$ s.s. v zrnju fižola, 212 $\text{ng}_{\text{Cr}}/\text{g}$ s.s. v krmni pesi, 797 $\text{ng}_{\text{Cr}}/\text{g}$ s.s. v korenini hrena do 1633 $\text{ng}_{\text{Cr}}/\text{g}$ s.s. v korenini krmne repe,
- vsebnost kroma v enakih vrstah poljščin je bila precej manjša kot pred 17-imi leti in kot poročajo drugi avtorji,
- rezultati so potrdili odvisnost akumulacije kroma od vrste rastline in dela rastline. Podzemni deli rastlin zadržijo večji del absorbiranega kroma.

6 POVZETEK

Analitski del raziskave je obsegal analize vsebnosti kroma v vzorcih zemlje in poljščin. Vzorčenje je zajelo 5 vzorcev zemlje in 7 vzorcev poljščin. En vzorec zemlje je predstavljal povprečje s celotne njive, odvzet je bil na 25 mestih na globini 0 - 25 cm. Ostali vzorci zemlje so predstavljali vzorce odvzete na enem mestu, na različnih globinah, in sicer 0 - 25 cm, 25 - 50 cm, 50 - 75 cm in 75 - 100 cm. Vzorci poljščin so zajeli endivijo, zrnje fižola, krmno peso, krmno korenje, navadni hren, glavnat zeleni radič in krmno repo. Analizirali pa smo samo zrnje fižola, krmno peso, krmno repo in navadni hren.

Pred samo analizo vsebnosti kroma smo proučevali različne pogoje in metode razkroja zemlje in poljščin in učinkovitost različnih ekstrahentov za ekstrakcijo kroma iz vzorcev zemlje. Rezultati so bili močno odvisni od metode razkroja.

Rezultate smo primerjali z rezultati podobne raziskave iz leta 1988. Ornica je najpomembnejši sloj zemlje za kmetijske dejavnost. Tu je bila povprečna vsebnost kroma na celotni njivi $751 \mu\text{g}_{\text{Cr}}/\text{g}$ s.s. V primerjavi s podatki starejše raziskave smo ugotovili, da se je v dobrem desetletju in pol iz ornice v globino izpralo do 40 % kroma.

Rezultati analiz posameznih plasti zemlje so pokazali, da se je vsebnost kroma z globino hitro zmanjševala in je bila na globini 1 m okoli $300 \mu\text{g}_{\text{Cr}}/\text{g}$ s.s., kar je še enkrat več kot leta 1988. Mobilnost in posledično biodostopnost kroma je bila zelo majhna. V ornici je bil delež nemobilnega kroma vezanega na minerale okoli 65 %. Užitni plodovi poljščin so vsebovali majhne količine kroma. Dokazali smo odvisnost akumulacije kroma od vrste rastline in močno omejen transport kroma po rastlini. Zemeljski plodovi (pesa, repa, hren) so vsebovali precej več kroma, od $212 \text{ ng}_{\text{Cr}}/\text{g}$ s.s. do $1633 \text{ ng}_{\text{Cr}}/\text{g}$ s.s., kot nadzemni plodovi (fižol), v katerem je bilo $23,8 \text{ ng}_{\text{Cr}}/\text{g}$ s.s. Vsebnost kroma v nobenem vzorcu ni preseгла $2 \mu\text{g}_{\text{Cr}}/\text{g}$ s.s. in $0,2 \mu\text{g}_{\text{Cr}}/\text{g}$ svežega vzorca. Rezultati so nižji kot rezultati izpred 17 let (Štupar in sod., 1991) in mnogo nižji kot so jih objavili nekateri avtorji.

Poljska tla bodo še dolgo označena kot onesnažena in neprimerna za gojenje rastlin. V praksi pa se zdi, da povečana vsebnost kroma v tleh nima negativnih posledic na okolje.

7 VIRI

- Bartlett R. J., James B. R. 1988. Mobility and bioavailability of chromium in soil. V: Chromium in the natural & human environments. Nriagu J. O., Nieboer E. (eds.). Toronto, John Wiley & Sons Inc.: 267-304
- Bossche V. V., Gavend G., Burn M., Aitio A. 2005. Appendix B. V: Chromium (VI) handbook. Guertin J., Jacobs J. A., Avakian C. P. (eds). Boca Raton, CRC Press: 585-634
- Butcher D. J. 2005. Atomic absorption spectrometry - interferences and background correction. V: Encyclopedia of analytical science. 2nd ed. Vol. 1. Worsfold P., Townshend A., Poole C. (eds.). Oxford, Elsevier Ltd: 157-163
- CEM corporation. 1991. Installation and operation manual: microwave sample preparation system: model MDS - 2000. Matthews, CEM corporation: loč.pag.
- Chatterjee J., Chatterjee C. 2000. Phytotoxicity of cobalt, chromium and copper in cauliflower. Environmental Pollution, 109: 69-74
- Chang A. C., Page A. L., Warneke J. E., Grgurevic E. 1984. Sequential extraction of soil heavy metals following a sludge application. Journal of Environmental Quality, 13, 1: 33-38
- Chromium. 2008. Wikipedia. (28.5.2008).
<http://en.wikipedia.org/wiki/Chromium> (28.5.2008): 7str.
- Clay minerals. 2008. Wikipedia. (10.5.2008).
http://en.wikipedia.org/wiki/Clay_mineral (10.5.2008): 2 str.
- Fifield F. W., Kealey D. 1995. Principles and practice of analytical chemistry. 4th ed. London, Glasgow, Weinheim, New York, Tokyo, Melbourne, Madras. Blackie Academic & Profesional: 317-331
- Harris D. C. 1999. Quantitative chemical analysis. 5th ed. New York, W. H. Freeman and Company: 899 str.
- Hill S. J. 2005. Atomic absorption spectrometry - flame. V: Encyclopedia of analytical science. 2nd ed. Vol. 1. Worsfold P., Townshend A., Poole C. (eds.). Oxford, Elsevier Ltd: 163-170
- Ivanova E. H. 2005. Atomic absorption spectrometry - principles and instrumentation. V: Encyclopedia of analytical science. 2nd ed. Vol. 1. Worsfold P., Townshend A., Poole C. (eds.). Oxford, Elsevier Ltd: 149-190
- ISO11466. Soil quality - Extraction of trace elements soluble in aqua regia. 1995: 6 str.

- Jacobs J. A., Motzer W. E., Abbott D. W., Guertin J. 2005. Chromium sampling and analysis. V: Chromium (VI) handbook. Guertin J., Jacobs J. A., Avakian C. P. (eds). Boca Raton, CRC Press: 235-273
- Jacobs J. A., Testa S. M. 2005. Overview of chromium(VI) in the environment: background and history. V: Chromium (VI) handbook. Guertin J., Jacobs J. A., Avakian C. P. (eds). Boca Raton, CRC Press: 1-21
- Lahouti M., Peterson P. J. 1979. Chromium accumulation and distribution in crop plants. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 30: 136-142
- Lake D. L., Kirk P. W. W., Lester J. N. 1984. Fractionation, characterization and speciation of heavy metals in sewage sludge and sludge - amended soils: a review. *Journal of Environmental Quality*, 13, 2 : 175-183
- Lazarini F., Brenčič J. 1989. Splošna in anorganska kemija. Ljubljana, DZS: 460-472
- Motzer E. W. 2005. Chemistry, geochemistry and geology of chromium and chromium compounds. V: Chromium (VI) handbook. Guertin J., Jacobs J. A., Avakian C. P. (eds). Boca Raton, CRC Press: 23-91
- Nriagu J. O. 1988a. Historical perspective. V: Chromium in the natural & human environments. Nriagu J. O., Nieboer E. (eds.). Toronto, John Wiley & Sons Inc.: 1-19
- Nriagu J. O. 1988b. Production and uses of chromium. V: Chromium in the natural & human environments. Nriagu J. O., Nieboer E. (eds.). Toronto, John Wiley & Sons Inc.: 81-103
- Nieboer E., Jusys A. A. 1988. Biologic chemistry of chromium. V: Chromium in the natural & human environments. Nriagu J. O., Nieboer E. (eds.). Toronto, John Wiley & Sons Inc.: 21-79
- Ojeda C. B., Rojas F. S. 2005. Sample dissolution for elemental analysis: microwave digestion. V: Encyclopedia of analytical science. 2nd ed. Vol. 8. Worsfold P., Townshend A., Poole C. (eds.). Oxford, Elsevier Ltd: 131-163
- Pacyna J. M., Nriagu J. O. 1988. Atmospheric emission of chromium from natural and anthropogenic sources. V: Chromium in the natural & human environments. Nriagu J. O., Nieboer E. (eds.). Toronto, John Wiley & Sons Inc.: 105-123
- Pedološka karta Slovenije. 2007. Pedološka karta Slovenije - Vranja Peč. Ljubljana, Biotehniška fakulteta - Oddelek za agronomijo.
http://www.bf.uni-lj.si/cpvo/Novo/main_PodatkiTalSlovenije.htm: 1 str.
- Peterson P. J. 1975. Element accumulation by plants and their tolerance of toxic mineral soils. V: International conference on heavy metals in the environment. October 27-31, 1975, Toronto, Canada. Ottawa , National Research Council of Canada: 39-54

- Photomultiplier. 2007. Wikipedia. (10.08.2007).
<http://en.wikipedia.org/wiki/Photomultiplier> (17.08.2007): 3 str.
- Popravek uredbe o kakovosti površinskih voda, ki se jih odvzema za oskrbo s pitno vodo. 2001. Uradni list Republike Slovenije, 11, 4: 473-474
- Pravilnik o pitni vodi. 2004. Uradni list Republike Slovenije, 14, 19:2155-2166
- Pravilnik o živilih za posebne zdravstvene namene. 2002. Uradni list Republike Slovenije, 12, 46:4659-4664
- Rapin F., Tessier A., Campbell P. G. C., Carignan R. 1986. Potential artifacts in the determination of metal partitioning in sediments by a sequential extraction procedure. *Environmental Science and Technology*, 20, 8: 836-840
- Rauret G., Rubio R., Lopez-Sanchez J. F. 1989. Optimization of tessier procedure for metal solids speciation in river sediments. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 36: 69-83
- Rosenberg E., Ariese F. 2001. Quality control in speciation analysis V: Trace element speciation for environment, food and health. Ebdon L., Pitts L., Cornelis R., Crews H., Donard O.F.X., Quevauviller P. (eds.). Cambridge, The Royal Society of Chemistry: 17-50
- Salt E. D., Prince C. R., Pickering J. I. 2002. Chemical speciation of accumulated metals in plants: evidence from X-ray absorption spectroscopy. *Microchemical Journal*, 71, 2-3: 255-259
- Schröter W., Lautenschläger K. H., Bibrack H., Schnabel. A. 1993. Kemija: splošni priročnik. Ljubljana, Tehniška založba Slovenije: 447-447
- Sharma A. D., Brar M. S., Malhi S. S. 2005. Critical toxic ranges of chromium in spinach plants and in soil. *Journal of Plant Nutrition*, 28: 1555-1568
- Shewry P. R., Peterson P. J. 1974 The uptake and transport of chromium by barley seedlings (*Hordenum Vulgare L.*). *Journal of Experimental Botany*, 25, 87: 785-797
- Sinha S., Gupta A. K., Bhatt K., Pandey K., Rai U. N., Singh K.P. 2006. Distribution of metals in the edible plants grown at Jajmau, Kanpur (India) receiving treated tannery wastewater: relation with physico - chemical properties of the soil. *Environmental Monitoring and Assessment*, 115: 1-22
- Skoog D. A., Holler J. F., Nieman T. A.. 1998. Principles of instrumental analysis. 5th ed. Philadelphia, Ft. Worth, Chicago, San Francisco, Austin, Montreal, Toronto, London, Sydney, Tokyo, Saunders College Publisher: 206-228

- Skoog D. A., West D. M., Holler F. J. 1994. Analytical chemistry - An introduction. 6th ed. Philadelphia, Ft. Worth, Chicago, San Francisco, Montreal, Toronto, London, Sydney, Tokyo, Saunders College Publisher: 453-480
- Smith S., Peterson P. J., Kwan K. H. M. 1989. Chromium accumulation, transport and toxicity in plants. *Toxicological and Environmental Chemistry*, 24, 4:241-251
- Souci S. W., Fachmann W., Kraut H. 2000. Food composition and nutrition tables. 6nd ed. Scherz H., Senser F. (eds.). Stuttgart, Medpharm Scientific Publisher: 658, 676, 685, 759
- Sperling M. 2005. Chromium. V: *Encyclopedia of analytical science*. 2nd ed. Vol. 2. Worsfold P., Townshend A., Poole C. (eds.). Oxford, Elsevier Ltd: 113-126
- Statin T. F. 2005. The transport and fate of chromium(VI) in the environment. V: *Chromium (VI) handbook*. Guertin J., Jacobs J. A., Avakian C. P. (eds.). Boca Raton, CRC Press: 165-214
- Sueker J. K. 2006. Chromium. V: *Environmental forensics: Contaminant specific guide*. Morrison R. D., Murphy B. L. (eds.). Burlington, Elsevier Inc: 81-93
- Sulfide. 2008. Wikipedia (12.04.2008).
<http://en.wikipedia.org/wiki/Sulfide> (19.04.2008): 3 str.
- Štupar J., Ajlec R., Glazer I., Korošič J. 1991. The fate of chromium in chromium waste treated soils. *Interno gradivo*. Ljubljana, Institut Jožef Stefan: 22 str.
- Tessier A., Campbell P. G. C., Bisson M. 1979. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. *Analytical Chemistry*, 51, 7: 844-851
- Testa S. M. 2005. Sources of chromium contamination in soil and groundwater. V: *Chromium(VI) handbook*. Guertin J., Jacobs J. A., Avakian C. P. (eds.). Boca Raton, CRC Press: 143-163
- Tomas B., Roughan J. A., Watters E. D. 1974. Cobalt, chromium and nickel content of some vegetable foodstuffs. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 25: 771-776
- Twyman R. M. 2005. Sample dissolution for elemental analysis: wet digestion V: *Encyclopedia of analytical science*. 2nd ed. Vol. 8. Worsfold P., Townshend A., Poole C. (eds.). Oxford, Elsevier Ltd: 146-153
- Uredba o emisiji snovi in toplote pri odvajanju odpadne vode iz naprav za proizvodnjo usnja in krzna. 2007. Uradni list Republike Slovenije, 17, 45: 6201-6205
- Uredba o izvajanju uredb Sveta in Komisije (ES) o onesnaževalih v živilih. 2007. Uradni list Republike Slovenije, 17, 27: 3585-3586

Uredba o mejnih, opozorilnih in kritičnih imisijskih vrednostih nevarnih snovi v tleh.
1996. Uradni list Republike Slovenije, 6, 68: 5773-5774

Uredba o mejnih vrednostih vnosa nevarnih snovi in gnojil v tla. 2005. Uradni list
Republike Slovenije, 15, 84: 8709-8717

Uredba o standardih kakovosti podzemne vode. 2005. Uradni list Republike Slovenije,
15,100: 10553-10558

Uredba o ravnanju z odpadki. 2008. Uradni list Republike Slovenije, 18, 34: 3194-3241

Uredba o vrsti dejavnosti in naprav, ki lahko povzročajo onesnaževanje okolja večjega
obsega. 2004. Uradni list Republike Slovenije, 14, 97: 11767-11772

Vauquelin L. N. 1809. Memoire sur la meilleure methode pour decomposer le chromate de
fer, obtenir l'oxide de chrome, preparer l'acide chromique, et sur quelques combinaisons
de ce dernier. *Annales de Chimie*, 70: 70-94. Cit. po: Nriagu J. O. 1988a. Historical
perspective. V: *Chromium in the natural & human environments*. Nriagu J. O., Nieboer
E. (eds.). Toronto, John Wiley & Sons Inc.: 1-19

Weast R. C. 1975. *Handbook of chemistry and physics*. 56th ed. Cleveland, CRC Press:
B-3, B-4, B-12, B-170, B-171

Williams I. 2001. *Earth's vital resorces - minerals, metals and fossil fuels V:
Environmental chemistry: A modular approach*. Williams I. (ed.). Chichester, John
Wiley & Sons Inc: 159-221

Willist C. O. 1951. Methods for determination of moisture - oven drying. *Analytical
Chemistry*, 23, 8: 1058-1062

Zayed A., Lytle M.C., Qian J. H., Terry N. 1998. Chromium accumulation, translocation
and chemical speciation in vegetable crops. *Planta*, 206: 293-299

Zeeman effect. 2008. Wikipedia (21.11.2008)
http://en.wikipedia.org/wiki/Zeeaman_effect (22.11.2008): 5 str.

Zupan M., Grčman H., Kočevar H. 1999. Navodila za vaje iz naravoslovja - pedologije:
Za študente arheologije. Ljubljana, Biotehniška fakulteta - Oddelek za agronomijo:
62 str.

ZAHVALA

Za uspešno izvedeno diplomsko delo se zahvaljujem mentorici prof. dr. Tereziji Golob, recenzentu doc. dr. Rajku Vidrihu in prvotnemu, a žal preminulemu mentorju prof. dr. Janezu Štuparju. Zahvala gre tudi Katedri za vrednotenje živil, Katedri za biotehnologijo na Oddelku za živilstvo na Biotehniški fakulteti Univerze v Ljubljani, Centru za pedologijo in varstvo okolja na Oddelku za agronomijo na Biotehniški fakulteti Univerze v Ljubljani, laboratoriju za raziskave v okolju na Fakulteti za znanosti o okolju na Univerzi v Novi Gorici in agrokemijskem laboratoriju na Kmetijskem inštitutu Slovenije, ki so mi omogočili uporabo svojih prostorov in inventarja.

Hvala staršem, ki so mi omogočili študij in vsem ki so kakorkoli sodelovali pri tem diplomskem delu.