

UNIVERZITET U BEOGRADU
TEHNOLOŠKO-METALURŠKI FAKULTET

Isidora V. Deljanin

**MONITORING ELEMENATA U TRAGOVIMA
U ŽIVOTNOJ SREDINI PRIMENOM
ODABRANIH BILJNIH VRSTA**

doktorska disertacija

Beograd, 2016.

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF TECHNOLOGY AND METALLURGY

Isidora V. Deljanin

**TRACE ELEMENT MONITORING IN THE
ENVIRONMENT USING SELECTED PLANT
SPECIES**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2016

Podaci o mentoru i članovima komisije

Mentor:

Dr Aleksandra Perić-Grujić, redovni profesor

Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet

Članovi komisije:

Dr Mirjana Ristić, redovni profesor

Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet

Dr Viktor Pocajt, vanredni profesor

Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet

Dr Milica Tomašević, naučni savetnik

Univerzitet u Beogradu, Institut za fiziku

Dr Mira Aničić Urošević, naučni saradnik

Univerzitet u Beogradu, Institut za fiziku

Datum odbrane: _____

Zahvalnica

Ova doktorska disertacija je rađena na Katedri za zaštitu životne sredine Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu, u periodu od 2010. do 2016. godine, u okviru projekta „Razvoj i primena metoda i materijala za monitoring novih zagađujućih i toksičnih organskih materija i teških metala“ (OI 172007, Ministarstvo za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije, 2011.-2016. god.).

Deo ove doktorske disertacije je urađen u okviru aktivnosti Laboratorije za fiziku životne sredine Instituta za fiziku u Beogradu, u okviru projekta III 43007 („Istraživanje klimatskih promena i njihovog uticaja na životnu sredinu - praćenje uticaja, adaptacija i ublažavanje“; potprojekat: Integralna istraživanja kvaliteta vazduha u urbanoj sredini, Ministarstvo za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije, 2011.-2016. god.), pod rukovođenjem dr Milice Tomašević i dr Mire Aničić Urošević, odakle je i potekla ideja za korišćenjem listova drvenastih biljaka i mahovina kao biomonitora zagađenja vazduha u gradskoj sredini, kao i osmišljavanje eksperimentalnih postavki.

Želela bih da se zahvalim prof. dr Aleksandri Perić-Grujić i prof. dr Mirjani Ristić na idejama, savetima i naučnoj i ličnoj podršci tokom izrade ove doktorske disertacije. Takođe bih želela da se zahvalim i članovima komisije, dr Milici Tomašević i dr Miri Aničić Urošević na pomoći, primedbama i korisnim sugestijama.

Veliku zahvalnost dugujem dr Davoru Antanasijeviću na strpljenju, razumevanju i pomoći tokom izrade ove doktorske disertacije, kao i tokom naše celokupne saradnje. Zahvaljujem se i prof. dr Miroslavu Nikoliću na pomoći oko pripreme uzoraka za hemijsku analizu i Andjeliki Bjelajac na pomoći oko izrade skenirajućih elektronskih mikrofotografija.

Posebnu zahvalnost dugujem svojoj porodici i prijateljima, koji su me uvek podržavali i verovali u mene. Al final, quiero expresar mi más sincero agradecimiento a mi novio, Fernando, quien fue un gran apoyo emocional durante el tiempo en que escribía esta tesis y quien me alentó para continuar, cuando parecía que me iba a rendir.

Rezime

Različite biljne vrste se sve više koriste kao pasivni ili aktivni biomonitori elemenata u tragovima u istraživanjima atmosferske depozicije zagađujućih materija. Prednosti biomonitoringa, u odnosu na referentni monitoring, su dobijanje informacija o uticaju zagađujućih materija iz vazduha na žive organizme i niži troškovi sprovođenja istraživanja. Praćenje koncentracija i izvora elemenata u tragovima je jedan od glavnih preduslova za formiranje adekvatnih zakonskih propisa kojima bi se regulisao prekomerni unos ovih supstanci u životnu sredinu.

U ovoj doktorskoj disertaciji su prikazani rezultati biomonitoringa elemenata u tragovima u vazduhu korišćenjem listova različitih biljnih vrsta, u periodu od 2002. do 2014. godine, a posebna pažnja je posvećena sadržaju i izvorima olova, kao jednog od najzastupljenijih elemenata u tragovima u vazduhu u Beogradu tokom ispitivanog perioda. Korišćene su četiri vrste listopadnog drveća – *Aesculus hippocastanum* (divlji kesten), *Tilia* spp. (*T. tomentosa* i *T. cordata*) (lipa), *Betula pendula* (breza) i *Acer platanoides* (norveški javor). Takođe je vršeno i indirektno upoređivanje koncentracija elemenata u tragovima u uzorcima listova i u uzorcima čestica iz vazduha, da bi se utvrdila pogodnost korišćenja listova drveća kao komplementarne metode standardnom praćenju elemenata u tragovima iz vazduha.

U okviru istraživanja rađena je morfološka i hemijska karakterizacija čestica na površini listova, korišćenjem SEM-EDS instrumenta (skenirajuća elektronska mikroskopija sa energo-disperzivnom spektroskopijom - *Scanning Electron Microscopy Energy Dispersive X-ray Spectroscopy*). Primenjeni su različiti načini pripreme uzoraka listova pre hemijske analize, sa ciljem: a) standardizacije metode pripreme uzoraka, što bi omogućilo lakše upoređivanje rezultata iz različitih istraživanja, b) da bi se izvršila hemijska karakterizacija istaloženih frakcija na površini listova i u voštanom sloju, kao i sadržaj elemenata u tkivu listova. Uklonjena količina elemenata u tragovima sa površine listova predstavlja frakciju rastvorljivu u vodi i/ili hloroformu i potiče iz vazduha. Uočena je najveća akumulacija elemenata u tragovima u tkivu listova *Tilia* spp., dok su listovi *A. hippocastanum* sadržali najmanju količinu elemenata. Najveći stepen uklanjanja elemenata u tragovima vodom i hloroformom je bio uočen za Al, V, Cr, Cu, Zn, As, Cd i Sb, dok je procedura kratkog ispiranja uzoraka listova dejonizovanom vodom značajno

uticala na smanjenje koncentracije Pb. Najmanji procenat ispiranja Pb vodom je uočen kod listova *B. pendula*, ukazujući na najveće zadržavanje finih i grubih čestica usled prisustva debelog voštanog sloja na površini listova.

Vršeno je multivarijantno klasifikovanje i rangiranje uzoraka, korišćenjem SON-a (samo-organizujuće mreže - *Self-Organizing Networks*), PROMETHEE-GAIA-e (*Preference Ranking Organization Method for Enrichment Evaluation - Geometrical Analysis for Interactive Aid*), kao i formiranje klastera pomoću SOM-a (samo-organizujuće mape - *Self-Organizing Maps*), i rezultati su pokazali da su pomenute tehnike koristan i pogodan alat za procenjivanje ukupnog sadržaja elemenata u tragovima u listovima. SON analiza je pružila jasnije podatke o sezonskoj akumulaciji i godišnjem trendu u koncentracijama elemenata u tragovima, pogotovo u kombinaciji drugim statističkim tehnikama (npr. SON-SOM). Pokazano je da je SOM osetljiva tehnika za određivanje razlika u koncentracijama elemenata u tragovima u listovima različitih biljnih vrsta, čak i u slučaju male razlike između uzoraka sa sličnim poreklom ili sa bliskih lokaliteta. GAIA mapa ima bolji vizuelni prikaz od SOM-a, jer se na osnovu nje mogu odrediti klasteri sličnih uzoraka, kao i nivoi koncentracije posmatranih elemenata u njima i njihovo poreklo.

U istraživanju koncentracija čestica u vazduhu i koncentracija elemenata u tragovima u njima, kao i koncentracija elemenata u tragovima u listovima drveća (*A. hippocastanum*), pokazano je da razlike u vrednostima koncentracija čestica i elemenata tokom ispitivanog perioda, nisu bile značajne, sa izuzetkom olova, koje je imalo opadajuće koncentracije tokom čitavog ispitivanog perioda, usled postepenog prestanka upotrebe olovnog benzina u Republici Srbiji. Može se pretpostaviti da je tokom posmatranog perioda, sagorevanje fosilnih goriva, pre svega goriva u automobilima, bio jedan od glavnih izvora posmatranih elemenata u Beogradu. Vrednosti koncentracija elemenata u tragovima u česticama su bile ispod propisanih graničnih vrednosti u pravilnicima Republike Srbije i Evropske unije. Na osnovu sličnih trendova koncentracija elemenata u tragovima u vazduhu i uzorcima listova, ustanovljeno je da listovi *A. hippocastanum* dobro oslikavaju promene u atmosferskim koncentracijama elemenata u tragovima.

Tokom posmatranog perioda je koncentracija olova u listovima ispitivanih vrsta imala opadajući trend, dok se odnos izotopa $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ povećavao tokom godina. Takođe,

odnosi izotopa $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ i $^{208}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ oslikavaju promenu korišćenog benzina u Beogradu. Benzin korišćen od 2002. do 2004. godine je sadržao aditive Pb koji su vodili poreklo iz australijskih ruda olova, dok je od 2005. godine korišćen benzin koji je sadržao olovo poreklom iz kineskih ruda. Shodno tome, povećanje odnosa izotopa $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ u listovima ispitivanih vrsta je samo delimično posledica smanjene upotrebe olovnog benzina, i posledično zagađenja vazduha, dok je drugi razlog promena izotopskog sastava korišćenih olovnih aditiva u benzinu.

Najviše vrednosti odnosa izotopa $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$, kao i najširi opseg ovog odnosa je zabeležen za neoprane i oprane uzorke listova *B. pendula*, a potom listova *A. hippocastanum*. *B. pendula* se može preporučiti kao pogodan indikator za identifikaciju izvora olova, usled postojanja najšireg opsega vrednosti odnosa izotopa $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$. Odnosi izotopa olova i analiza glavnih komponenti su ukazali na veliki uticaj labilno vezane frakcije nataloženih čestica na sadržaj olova u neopranim listovima, i prisustvo više izvora olova u prošlosti, što se ogleda u sadržaju olova u opranim uzorcima listova. SOM analiza izotopskog sastava Pb u uzorcima listova je pokazala slične rezultate kao i analiza korišćenjem odnosa izotopa, jer neoprani uzorci predstavljaju zagađenje tokom skorašnjeg perioda, dok s druge strane, oprani uzorci oslikavaju reprezentativniju sliku dugoročnijeg sadržaja elemenata u tragovima u listovima. Stoga se pranje uzoraka vodom može preporučiti ako je cilj istraživanja određivanje sadržaja olova tokom dužeg perioda vremena, dok neoprani uzorci daju uvid u sadržaj olova u određenom momentu.

Za dodatnu karakterizaciju olova i njegovih izotopa korišćene su vrećice sa mahovinama *Sphagnum girgensohnii*, postavljene na lokacijama u tunelu, javnim garažama i kanjonskim ulicama. U slučaju delimičnog preklapanja sastava izotopa olova iz mogućih izvora i/ili kada različiti izvori emisije imaju isti izotopski „potpis”, odnosi i opsezi izotopa olova ne mogu uvek da omoguće kompletno razumevanje raspodele olova. Stoga, SOM sa udelima izotopa i koncentracijom olova kao ulaznim vrednostima se može primeniti kao efikasan instrument za prostornu i vremensku identifikaciju i diferencijaciju zagađenja olovom u biomonitoring istraživanjima, zbog mogućnosti da prepozna male razlike u vremenu izlaganja, kao i horizontalnoj i vertikalnoj prostornoj distribuciji, između uzoraka mahovina. Rezultati eksperimenta u tunelu su pokazali da vreme izlaganja od 10 nedelja predstavlja pogodniji period za određivanje koncentracije i izotopskog sastava olova prilikom korišćenja tehnike kesica sa mahovinama.

Na osnovu rezultata analize elemenata u tragovima i izotopa olova u listovima, ustanovljeno je da vrsta *A. hippocastanum* predstavlja pogodniji biomonitor od ostalih ispitivanih vrsta jer su dobijeni dosledniji rezultati u analizama deponovanih frakcija, hemometrijskim analizama i prilikom poređenja rezultata sa referentnim monitoringom.

Ključne reči: biomonitoring, listovi, vrećice sa mahovinama, elementi u tragovima, izotopi olova, čestice u vazduhu, SOM, SON, PROMETHEE-GAIA, ICP-MS, SEM-EDS

Naučna oblast: Tehničko-tehnološke nauke

Uža naučna oblast: Inženjerstvo zaštite životne sredine

UDK broj: 581.5

Abstract

Different plant species are frequently used as passive or active biomonitors of trace elements in atmospheric deposition studies. Advantages of biomonitoring, in comparison with instrumental monitoring techniques, are better understanding of the effects of air pollutants on living organisms and lower costs of experiments. Assessment of concentrations and sources of trace elements is one of the major prerequisite for adequate regulations for controlling the emissions of these pollutants in the environment.

The results of trace element biomonitoring in air, from year 2002 to year 2014, using leaves of different plants species are shown in this thesis, with the special emphasis on lead content and isotopes, as one of the most abundant element in Belgrade air during the studied period. Four deciduous tree species were used - *Aesculus hippocastanum*, *Tilia* spp. (*T. tomentosa* and *T. cordata*), *Betula pendula* and *Acer platanoides*. Also, concentrations of trace elements in leaf and particulate matter samples were indirectly compared, to determine the possibility of using leaves as a complementary method to instrumental monitoring.

Morphological and chemical characterization of particles on the leaf surfaces was assessed using SEM-EDS technique. Different sample treatments prior to chemical analysis were applied in order to: a) provide standardized procedure of sample preparation, which would enable comparison of results from different studies, b) provide chemical characterization of leaf surface and in-wax fractions, as well as the leaf tissue element content. The removed amount of trace elements from the leaf surface represents the fraction dissolved in water and/or chloroform and originates from the air. Among the studied species, *Tilia* spp. was found to be the most effective in the accumulation of elements in leaf tissue, while *A. hippocastanum* had the lowest accumulation. After water and chloroform washing, the highest percentages of removal were observed for Al, V, Cr, Cu, Zn, As, Cd and Sb. The percentage of Pb removed by applied short rinsing with deionized water was significant, and the lowest percentage of removal of Pb was observed for *B. pendula*, indicating the highest retention for fine and coarse particulates due to thick epicuticular wax layer.

Multivariate classifying/ranking of the samples, using the SON and the PROMETHEE, and clustering using SOM was done and the results showed that these techniques might be appropriate tools in the interpretation of multiple element loads on/in the tree leaves. The SON provided more clear data on seasonal and temporal accumulation of trace elements in the leaves, especially in combination with other statistical techniques (e.g. SON-SOM). The SOM proved to be a suitable and sensitive tool for assessing differences in trace element concentrations in leaves of different species, since it is able to distinguish small differences between samples with similar origin or from close locations. GAIA provides a visually better output than SOM for sample clustering as well as the estimation of trace element loading and their potential sources.

In the study of concentration of airborne particulates and trace element concentration in them and in the leaves of *A. hippocastanum*, it was found that, during the study period, the differences among PM10 mass and trace element concentrations were not considerable, with the exception of Pb concentration, which had a decreasing trend during the whole period, due to the phasing out of leaded gasoline in Republic of Serbia. It seems that, during the studied period, fossil fuel combustion, especially combustion of gasoline in vehicles, was one of the major sources of the measured elements in Belgrade. The measured mass and trace elements concentrations in PM10 were below the Serbian and EU legislation limits. *A. hippocastanum* leaves showed good response to changes in atmospheric trace element pollution, with the similar trend in trace element concentrations as in the ambient air.

While the Pb content in the leaves decreased during the studied period, the $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ isotopic ratio increased throughout the years. Also, isotopic ratios $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ and $^{208}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ followed the switch of the Pb ore used as the gasoline lead additive. Gasoline used from 2002 to 2004 had Pb additives originating from Australian Pb ore, while from 2005 gasoline additives originating from Chinese Pb ore were used. Thus, the $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ ratio in the investigated tree leaves during the studied period is only partly a consequence of the reduced use of the leaded gasoline, and thus atmospheric lead contamination, but also due to the changed isotopic composition of the used lead gasoline additives.

The highest $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ ratios, and the widest range, were obtained in *B. pendula* for both, unwashed and washed leaves, followed by *A. hippocastanum*. *B. pendula* may be suggested as the most appropriate indicator for the Pb source identification having the widest $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ isotopic ratio. Lead isotopic ratios and PCA indicated a high influence of labile bound particulate fraction on lead content in unwashed leaves, and multiple sources of the past emissions in the washed samples. SOM analysis gave similar results as the isotope ratio analysis, since unwashed samples represent recently deposited pollution, while washed samples show more accurate picture of air pollution. The washing of samples could be recommended if screening for the leaf element content on a larger time scale, while unwashed samples give an insight in the element content in leaves in a particular time.

For further characterization of Pb and its isotopes, *Sphagnum girgensohnii* moss bags were exposed in several sites in tunnel, public garages and street canyons. In case of partial overlapping of Pb isotopic compositions from possible sources and/or when different emission sources have the same isotopic signature, the Pb isotopic ratios and ranges could not always provide a complete understanding of Pb distribution. Therefore, SOM which uses both Pb isotopes and concentration data as inputs can be applied as an effective tool for spatio-temporal identification and differentiation of Pb pollution in biomonitoring studies, by recognizing slight differences among moss samples regarding exposure time, horizontal and vertical spatial distribution. The results for tunnel moss samples showed that 10 weeks exposure time represents a more suitable period for assessing Pb concentration and isotopic composition in moss bags studies.

Based on the results of trace elements and Pb isotope studies in leaves, it can be concluded that *A. hippocastanum* is the most appropriate of the investigated species, since it showed more consistent results in the analysis of deposited fractions, chemometric analyses and in comparison with instrumental monitoring.

Keywords: biomonitoring, leaves, moss bags, trace elements, lead isotopes, PM10, SOM, SON, PROMETHEE-GAIA, ICP-MS, SEM-EDS

Scientific area: Technical-technological sciences

Scientific sub-area: Environmental Engineering

UDK number: 581.5

Sadržaj

Spisak skraćenica i simbola.....	i
Spisak slika.....	iv
Spisak tabela.....	viii
1. Uvod.....	1
2. Teorijski deo.....	6
2.1. Zagađenje životne sredine i zagađenje vazduha.....	6
2.1.1. Čestice kao zagađujuće materije vazduha.....	10
2.1.2. Elementi u tragovima kao zagađujuće materije vazduha.....	14
2.2. Biomonitori i bioindikatori.....	18
2.2.1. Mahovine kao biomonitori.....	21
2.2.2. Više biljke kao biomonitori.....	23
2.2.3. Elementi u tragovima u biljkama.....	29
2.2.4. Depozicija čestica i usvajanje elemenata.....	33
2.3. Olovo i izotopi olova u životnoj sredini.....	37
2.3.1. Biomonitoring olova i izotopa olova.....	41
2.4. Platina u životnoj sredini.....	45
2.5. Sakupljanje i priprema uzoraka za hemijsku analizu.....	49
2.6. Analitičke tehnike.....	53
2.6.1. Masena spektrometrija sa indukovano spregnutom plazmom – ICP-MS.....	53
2.6.2. Skenirajuća elektronska mikroskopija sa energo-disperzivnom spektroskopijom – SEM-EDS.....	59
2.7. Statistička analiza.....	63
2.7.1. Korelaciona analiza.....	63
2.7.2. Analiza glavnih komponenti.....	64
2.7.3. Statistički testovi.....	68
2.7.4. Samo-organizujuće mape (SOM) i samo-organizujuće mreže (SON).....	70
2.7.5. PROMETHEE-GAIA.....	72
3. Eksperimentalni deo.....	74
3.1. Opis ispitivanog područja.....	74
3.2. Postavke eksperimenta za biomonitoring – odabir lokaliteta, biljnih vrsta i vremena uzorkovanja.....	76
3.3. Uzorkovanje listova i priprema za dalju analizu.....	77

3.4. Aktivni biomonitoring korišćenjem mahovina.....	80
3.5. Uzorkovanje čestica iz vazduha i određivanje koncentracija teških metala u filterima.....	83
3.6. Određivanje koncentracija elemenata i odnosa izotopa olova u uzorcima.....	86
3.7. Određivanje koncentracije platine u uzorcima.....	90
3.8. SEM-EDS analiza.....	93
3.9. Statistička analiza.....	94
3.9.1. Formiranje klasa i klastera uzoraka – SON i SOM.....	94
3.9.1.1. Pretpriprema podataka.....	94
3.9.1.2. Samoorganizujuće mreže – SON.....	95
3.9.1.3. Samoorganizujuće mape – SOM.....	95
3.9.2. Rangiranje uzoraka – PROMETHEE-GAIA i PMC.....	96
3.9.2.1. PROMETHEE-GAIA.....	96
3.9.2.2. Srednja verovatna koncentracija – PMC.....	98
3.9.3. Obrada rezultata primenom analize glavnih komponenti.....	98
3.9.4. Obrada rezultata primenom korelacione analize.....	99
3.9.5. Ostali statistički testovi.....	99
4. Rezultati i diskusija.....	100
4.1. Karakterizacija površine listova i deponovanih frakcija.....	100
4.1.1. Morfološka karakterizacija površine listova i deponovanih čestica.....	100
4.1.2. Određivanje elementarnog sastava čestica na površini listova.....	102
4.1.3. Hemijska analiza deponovanih frakcija.....	105
4.1.3.1. Koncentracija olova u neopranih i opranim uzorcima listova.....	105
4.1.3.2. Koncentracije elemenata u tragovima u netretiranim listovima i listovima opranim vodom i hloroformom.....	108
4.1.4. Primena Kohonenovih neuronskih mreža i metoda rangiranja na osnovu više parametara u biomonitoringu.....	115
4.1.4.1. Klasifikacija i rangiranje uzoraka.....	115
4.1.4.2. Klasterska analiza.....	124
4.1.4.2.1. SOM.....	124
4.1.4.2.2. GAIA i analiza glavnih komponenti.....	135
4.2. Koncentracije elemenata u tragovima u česticama iz vazduha i uzorcima listova tokom višegodišnjeg perioda.....	140

4.2.1. Koncentracije čestica u vazduhu i elemenata u tragovima u njima.....	140
4.2.2. Elementi u tragovima u uzorcima listova.....	145
4.2.3. Koncentracije elemenata u tragovima u uzorcima listova u periodu od 2002. do 2014. godine.....	149
4.2.4. Koncentracija platine u uzorcima listova.....	152
4.3. Koncentracija i izotopi olova u listovima drveća i uzorcima mahovina.....	155
4.3.1. Odnos koncentracije i izotopa olova tokom ispitivanog perioda.....	155
4.3.2. Odnosi izotopa olova u zavisnosti od pripreme uzoraka.....	159
4.3.3. Koncentracija i izotopi olova u uzorcima mahovina – odnosi izotopa i primena SOM-a.....	167
4.3.4. SOM analiza izotopa u uzorcima listova.....	177
5. Zaključci.....	184
6. Literatura.....	191
Prilozi.....	226
Biografija autora	

Spisak skraćenica i simbola

ANNs – Veštačke neuronske mreže (*Artificial Neural Networks*)

AEI – Indikator prosečne izloženosti (*average exposure indicator*)

BMU – Jedinica najboljeg podudaranja (*best-matching unit*)

BSE - „Backscattered” elektroni

clr – „Centrirana” logaritamska transformacija (*centered logratio transformation*)

CLRTAP – Konvencija o prekograničnom transportu zagađenju vazduha (*Convention on Long-range Transboundary Air Pollution*)

CoDa – Podaci o sastavu (*compositional data*)

cps – Broj udara jona u detektor/pulseva fotona po sekundi (*counts per second*)

EDS – Energo-disperzivna spektroskopija (*Energy Dispersive X-ray Spectroscopy*)

EEA – Evropska agencija za životnu sredinu (*European Environment Agency*)

ETC/CDS – Evropski centar za prikupljanje podataka o stanju životne sredine u Evropi (*European Topic Centre on Catalogue of Data Sources*)

EU – Evropska unija

FAAS – Plamena atomska apsorpciona spektrometrija (*flame atomic absorption spectrometry*)

F_z – factor zagađenja

GAIA – *Geometrical Analysis for Interactive Aid*

GEMET – Opšti višejezični rečnik životne sredine (*General Multilingual Environmental Thesaurus*)

GFAAS – Grafitna atomska apsorpciona spektrometrija (*Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*)

IAEA – Internacionalna agencija za atomsku energiju (*International Atomic Energy Agency*)

ICP-MS – Indukovano spregnuta plazma sa masenom spektrometrijom (*Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*)

ICP-OES – Indukovano spregnuta plazma sa optičkom emisijom spektrometrijom (*Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*)

λ – Svojstvena vrednost (*eigenvalue*) matrice korelacija

λ – Geografska dužina

LOD – Granica detekcije (*limit of detection*)

K-S – Kolmogorov-Smirnov test

M – Broj jedinica na SOM mapi

MCDM – Više-kriterijumska metoda za odlučivanje (*Multicriteria Decision Making Method*)

MMT – Metil-ciklopentadienil mangan trikarbol

NIST – Nacionalni institut za standarde i tehnologiju Sjedinjenih Američkih Država (*National Institute of Standards and Technology*)

NMVOC – Nemetanska isparljiva jedinjenja (*non-methane volatile organic compound*)

NAA – Neutron aktivaciona analiza (*neutron activation analysis*)

ORS – Oktopolna reakciona ćelija (*Octopole Reaction System*)

P – Preferentna vrednost u PROMETHEE-u

PAHs – Policiklični aromatični ugljovodonici (*polycyclic aromatic hydrocarbons*)

PC – Komponenta u analizi glavnih komponenti

PCA – Analiza glavnih komponenti (*Principal Component Analysis*)

PGE – Platinska grupa elemenata

PM – Čestice (*particulate matter*)

PM_{2,5} – Čestice dijametra manjeg ili jednakog 2,5 µm

PM₁₀ – Čestice dijametra manjeg ili jednakog 10 µm

PMC – Srednja verovatna koncentracija (*Probable Mean Concentration*)

POPs – Postojane organske zagađujuće materije (*persistent organic pollutants*)

PROMETHEE – *Preference Ranking Organization Method for Enrichment Evaluation*

QA – Obezbeđenje kvaliteta (*quality assurance*)

QC – Kontrola kvaliteta (*quality control*)

RB – Referentna biljka

RSD – Relativna standardna devijacija

SD – Standardna devijacija

SEM – Skenirajuća elektronska mikroskopija (*Scanning Electron Microscopy*)

SEM-EDS – Skenirajuća elektronska mikroskopija sa energo-disperzivnom spektroskopijom (*Scanning Electron Microscopy Energy Dispersive X-ray Spectroscopy*)

SOM – Samo-organizujuće mape (*Self-Organizing Maps*)

SON – Samo-organizujuće mreže (*Self-Organizing Networks*)

TENT – Termoelektrana „Nikola Tesla”

TIMS – Maseni spektrometar sa termalnom jonizacijom (*Thermal Ionization Mass Spectrometers*)

UNEP – Program Ujedinjenih Nacija za životnu sredinu (*United Nations Environment Programme*)

US EPA – Agencija za zaštitu životne sredine Sjedinjenih Američkih Država (*United States Environmental Protection Agency*)

VOC – Isparljiva organska jedinjenja (*volatile organic compounds*)

Φ – Ukupan tok rangiranja u PROMETHEE-u

$\Phi+(a)$ – Pozitivni tok rangiranja u PROMETHEE-u

$\Phi-(a)$ – Negativni tok rangiranja u PROMETHEE-u

φ – Geografska širina

W – Težinski koeficijenti u PROMETHEE-u

WHO – Svetska zdravstvena organizacija (*World Health Organization*)

XRF – Fluorescencija x zraka (*X-ray Fluorescence*)

Spisak slika

Slika 1. Protok materije i energije u osnovnim delovima životne sredine, atmosferi, hidrosferi, litosferi i biosferi

Slika 2. Poređenje čestica PM_{2,5} i PM₁₀ po veličini

Slika 3. Drvo divljeg kestena (*A. hippocastanum*) i oblik i raspored listova

Slika 4. Drvo lipe (*Tilia* spp.) i oblik i raspored listova

Slika 5. Drvo breze (*B. pendula*) i oblik i raspored listova

Slika 6. Drvo norveškog javora (*A. platanoides*) i oblik i raspored listova

Slika 7. Razlike u morfologiji površine listova: lice – a) *A. platanoides*, b) *Tilia* spp.; naličje – c) *A. hippocastanum*, d) *B. pendula*

Slika 8. Šematski prikaz preseka lista

Slika 9. Šematski prikaz rada katalizatora

Slika 10. Šematski prikaz izgleda instrumenta ICP-MS

Slika 11. Šematski prikaz ICP baklje

Slika 12. Šematski prikaz kvadrupola i detektora

Slika 13. Šematski prikaz SEM-a

Slika 14. Princip rada SEM-a

Slika 15. Arhitektura SOM-a

Slika 16. Mapa oblasti istraživanja sa označenim lokalitetima: B – Botanička bašta, K – Karađorđev Park, S – Studentski Park, Z – Zemunski Park, KO – Košutnjak

Slika 17. Priprema uzoraka za analizu: a) dejonizovana voda pre ispiranja uzoraka, b) dejonizovana voda nakon prvog ispiranja, c) dejonizovana voda nakon drugog ispiranja; d) hloroform pre pranja uzoraka, e) hloroform nakon pranja uzoraka; f)-h) sušenje uzoraka u laboratoriji

Slika 18. Postavljeni uzorci mahovina kod Terazijskog tunela: a) u unutrašnjosti tunela, b) na ulazu u tunel, c) van tunela, u Prizrenskoj ulici

Slika 19. Mapa lokaliteta; kanjonske ulice – prazni krugovi: DJ – Dragoslava Jovanovića, M – Masarikova, OV – Obilićev venac, KN – Kraljice Natalije, KM – Knez Mihailova; javne garaže – puni krugovi: PP – Pionirski park, MA – Masarikova, OV – Obilićev venac, ZV – Zeleni venac; i Terazijski tunel – puni krugovi: ST – van (spoljašnjost) tunela, UT – ulaz u tunel, T – unutrašnjost tunela

Slika 20. a) Merne stanice za monitoring kvaliteta vazduha, OB – Obrenovac, GZJZ – Gradski zavod za javno zdravlje, DT – Trg Dimitrija Tucovića, i njihov položaj u odnosu na mesta uzorkovanja listova, BB – Botanička bašta, KP – Karađorđev park; b) Godišnja ruža vetrova i brzina vetra za područje Beograda

Slika 21. Korelacija Hf na masama 179 i 195

Slika 22. Priprema *matrix match* kalibracionih standard

Slika 23. Šematski prikaz primene SOM-a za analizu izotopa i koncentracije olova

Slika 24. SE mikrografije površina listova i čestica na njima – a) *A. hippocastanum* (lice lista), čestice na neravnim delovima; b) *A. platanoides* (lice lista), čestice u blizini glavne nervature lista; c) *A. platanoides* (naličje lista), čestice na neravnim delovima; d) *A. hippocastanum* (naličje lista), čestice u blizini stoma; e) *A. platanoides* (naličje lista), čestice u blizini stoma; f) i g) *Tilia* spp. (lice lista), trihomi; h) *B. pendula* (lice lista), povrede na površini lista. Strelice i elipse označavaju povrede i trihome

Slika 25. SE mikrografije najčešće uočenih čestica na površini listova, sa njihovim ED spektrima. Brojevi pulseva fotona (eng. *counts per second – cps*) su prikazani u gornjem levom uglu ED spektara

Slika 26. Šematski prikaz ispiranja uzoraka listova i frakcija na površini listova

Slika 27. Srednje vrednosti koncentracije olova (sa standardnim devijacijama) u neopranih (*C_{neoprani}*) i opranim (*C_{oprani}*) uzorcima listova i njihova razlika (ΔC)

Slika 28. Koncentracije elemenata ($\mu\text{g g}^{-1}$ suve mase) u uzorcima listova četiri biljne vrste sakupljenih na lokalitetu Botanička bašta, septembra 2014. godine. Vrste: AH – *A. hippocastanum*, T – *Tilia* spp., BP – *B. pendula*, AP – *A. platanoides*

Slika 29. Poređenje koncentracija Al, Fe, As i Sb ($\mu\text{g g}^{-1}$ suve mase) u prolećnim i jesenjim uzorcima (sakupljenim 2014. godine) četiri ispitivane vrste (netretirani i uzorci oprani vodom) sa vrednostima „Referentne biljke” RB (Markert, 1992) (crvena linija)

Slika 30. Rezultati SON-a za faktore zagađenja elemenata u tragovima u uzorcima listova: a) *A. hippocastanum* b) *Tilia* spp. I, II, i III – klase SON-a; klasa I predstavlja najviši, klasa II srednji i klasa III najniži nivo zagađenja. SP – Studentski park, KP – Karađorđev park, BB – Botanička bašta

Slika 31. Rezultati SOM-a za faktore zagađenja elemenata u tragovima u uzorcima listova (2002.-2006. godina): a) *A. hippocastanum* b) *Tilia* spp. I, II, i III – klase SON-a, klasa I predstavlja najviši, klasa II srednji i klasa III najniži nivo zagađenja

Slika 32. Mape komponenti SOM-a za faktore zagađenja elemenata u tragovima u uzorcima listova *A. hippocastanum*. Mape komponenti odgovaraju SOM-u prikazanom na Slici 31a. Boje ukazuju na vrednosti faktora zagađenja elemenata u tragovima (skala na desnoj strani mape komponenti)

Slika 33. Mape komponenti SOM-a za faktore zagađenja elemenata u tragovima u uzorcima listova *Tilia* spp. Mape komponenti odgovaraju SOM-u prikazanom na Slici 31b. Boje ukazuju na vrednosti faktora zagađenja elemenata u tragovima (skala na desnoj strani mape komponenti)

Slika 34. SOM analiza koncentracije elemenata u uzorcima listova iz 2014. godine za sve biljne vrste u kombinaciji: a) sa SON-om, b) sa PROMETHEE-jem, c) sa PMC-om; I, II i III – SON, PROMETHEE i PMC klase, klasa III odgovara najvišim, klasa II srednjim i klasa I najnižim koncentracijama. PROMETHEE rangovima i vrednostima PMC su dodeljene klase na osnovu broja uzoraka koji pripadaju klasama u SON-u. Skraćenice: vrste: AH – *A. hippocastanum*, T – *Tilia* spp., BP – *B. pendula*, AP – *A. platanoides*; lokaliteti: B - Botanička bašta, K - Karađorđev park, S - Studentski park, Z - Zemunski park; sezona uzorkovanja: M – maj, S – septembar; priprema uzoraka: 1 - netretirani, 2 – oprani deionizovanom vodom, 3 – oprani hloroformom. Kompletan lista skraćenica u nazivima uzoraka je prikazana u Prilogu 1. Tabela 3.

Slika 35. Rezultati SOM analize za koncentracije elemenata u tragovima u uzorcima listova pojedinačnim biljnih vrsta iz 2014. godine: a) *A. hippocastanum*, b) *Tilia* spp., c) *B. pendula*, d) *A. platanoides*

Slika 36. 2D GAIA prikaz uzoraka listova ispitivanih biljnih vrsta. Uvećani deo u gornjem desnom uglu (levi deo slike) sadrži uzorke sa najnižim koncentracijama elemenata, i njihov raspored. Uzorci listova – kvadrati u boji, elementi u tragovima – ose, crvena linija – osa „odluke”. Boje kvadrata predstavljaju različite vrste: zelena – *A. hippocastanum*, ljubičasta – *Tilia* spp., braon – *B. pendula*, narandžasta – *A. platanoides*, Spisak uzoraka listova sa skraćenicama je dat u Prilogu 1. Tabela 3.

Slika 37. Biplot analize glavnih komponenti sa primenjenom clr transformacijom

Slika 38. Koncentracija PM10 u vazduhu tokom ispitivanog perioda

Slika 39. Srednje godišnje koncentracije elemenata u tragovima u PM10 tokom ispitivanog perioda

Slika 40. Analiza glavnih komponenti elemenata u tragovima u PM10 u periodu 2002.-2006. godina

Slika 41. Srednje vrednosti koncentracija elemenata u tragovima u listovima *A. hippocastanum* tokom ispitivanog perioda

Slika 42. Analiza glavnih komponenti elemenata u tragovima u uzorcima listova *A. hippocastanum* sakupljenim kod Botaničke bašte u periodu 2002-2006. godina

Slika 43. Koncentracije elemenata u uzorcima listova *A. hippocastanum* sakupljenim u Karađorđevom parku

Slika 44. Promena koncentracija Pb sa vremenom, u uzorcima listova *A. hippocastanum*, sakupljenim u Karađorđevom parku

Slika 45. Koncentracija platine (ng g^{-1} suve mase) u uzorcima listova *A. hippocastanum*

Slika 46. Opseg izmerenih koncentracija Pt u uzorcima *A. hippocastanum* u poređenju sa opsezima koncentracije Pt u drugim biljnim materijalima i sa drugih lokaliteta

Slika 47. Promena odnosa izotopa olova ($^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$) tokom ispitivanog perioda u uzorcima listova *A. hippocastanum*, sakupljenim u Karađorđevom parku

Slika 48. Trend promene vrednosti odnosa izotopa $^{208}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ vs. $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ od 2002. do 2009. godine u uzorcima listova: a) *A. hippocastanum* i b) *Tilia* spp. Odnosi izotopa u PM10 česticama uzorkovanim u blizini termoelektrane „Nikola Tesla” u Obrenovcu su prikazani karo šrafiranom elipsom. Elipse označavaju odnose izotopa u aerosolima iz Australije (siva) i u aerosolima iz Kine (bela) (Bollhöfer & Rosman, 2000, 2001). Odnosi izotopa u zemljištu su prikazani šrafiranom elipsom (Reimann *et al.*, 2012).

Slika 49. Dijagrami odnosa izotopa $^{208}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ vs. $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ u opranim (uokvireni simboli) i neopranim (puni simboli) uzorcima listova: a) Studentski park, b) Karađorđev park, c) Botanička bašta. Nepopunjena elipsa predstavlja odnose izotopa u aerosolima iz Kine (Bollhöfer & Rosman, 2001). Odnosi izotopa u PM10 česticama uzorkovanim u blizini termoelektrane „Nikola Tesla” u Obrenovcu su prikazani sivom elipsom.

Slika 50. Odnosi izotopa olova ($^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ vs. $^{208}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$) u uzorcima mahovina postavljenih u Terazijском tunelu: kvadrat – 5 nedelja izloženosti, trougao – 10 nedelja izloženosti

Slika 51. Odnosi izotopa olova ($^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ vs. $^{208}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$) u uzorcima mahovina postavljenim u javnim garažama: trougao – rampa, krug – unutrašnjost garaže

Slika 52. Odnosi izotopa olova ($^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ vs. $^{208}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$) u uzorcima mahovina postavljenim u kanjonskim ulicama na 4 m (kvadrat), 8 m (krug) i 16 m (trougao)

Slika 53. Rezultati SOM-a za uzorke mahovina u kesicama: a) udeli izotopa olova, b) udeli izotopa i koncentracija olova (javne garaže: R – rampa, U – unutrašnjost)

Slika 54. Rezultati SOM-a za doprinose izotopa i koncentraciju olova u uzorcima listova a) *A. hippocastanum* b) *Tilia* spp.

Slika 55. Mape komponenti SOM-a za doprinose izotopa i koncentraciju olova u uzorcima listova a) *A. hippocastanum* b) *Tilia* spp.

Slika 56. Rezultati SOM-a za uzorke listova (2009. godina): SP – Studentski park, KP – Karađorđev park, BB – Botanička bašta, KO – Košutnjak

Slika 57. Mape komponenti SOM-a za uzorke listova (2009. godina)

Spisak tabela

Tabela 1. Neki esencijalni elementi u tragovima u biljkama: oblici u kojim se javljaju i osnovne funkcije pojedinih elemenata

Tabela 2. Sadržaj odabranih elemenata u tragovima u „Referentnoj biljci” (mg kg⁻¹ suve mase)

Tabela 3. Smernice za odabir procedure pranja u istraživanjima akumulacije elemenata korišćenjem biomonitoringa višim biljkama (kombinacije ovih metoda su često neophodne)

Tabela 4. Pregled testova koji se koriste za određivanje statističke značajnosti

Tabela 5. Broj registrovanih motornih i priključnih vozila u Beogradu u 2006., 2009., 2012. i 2013. godini

Tabela 6. Spisak uzorkovanih vrsta i perioda uzorkovanja po godinama. M – maj, S – septembar, J – jul

Tabela 7. Merne stanice zagađujućih materija u vazduhu sa njihovim osnovnim karakteristikama

Tabela 8. Mereni elementi u biljnim uzorcima

Tabela 9. Granice detekcije ICP-MS tehnike (LOD) za merene elemente

Tabela 10. Izmerene koncentracije elemenata u tragovima u uzorcima i u referentnom materijalu lišaja

Tabela 11. Izmerene koncentracije elemenata u tragovima u uzorcima i u referentnom materijalu NIST 1643e

Tabela 12. Merenje signala Hf na masama 179 i 195

Tabela 13. Parametri za rangiranje PROMETHEE tehnike

Tabela 14. Udeo (u %) uklonjenih i akumuliranih frakcija elemenata u tragovima po biljnim vrstama

Tabela 15. Uočena sezonska akumulacija u listovima *A. hippocastanum* i *Tilia* spp.

Tabela 16. Rangiranje uzoraka na osnovu SON-a, PROMETHEE-a i PMC-a. Skraćenice naziva lokaliteta: B - Botanička bašta, K - Karađorđev Park, S - Studentski Park, Z - Zemunski Park; Oznake načina pripreme uzoraka: **1** - netretirani, **2** – oprani dejonizovanom vodom, **3** – oprani hloroformom; vrednosti u zgradama: (rang PROMETHEE-a) i [PMC vrednost]. Klase SON-a: III - uzorci sa najvišim koncentracijama, II - uzorci sa srednjim koncentracijama, I - uzorci sa najnižim koncentracijama

Tabela 17. Rangiranje uzoraka SON-om, PROMETHEE-om i PMC-om, kao u ukupno rangiranje. Skraćenice naziva uzoraka su prikazane po redosledu – biljna vrsta, lokalitet, sezona i priprema uzoraka. T, AH, AP i BP - *Tilia* spp., *A. hippocastanum*, *A. platanoides* i *B. pendula*; Z, S, K, B - Zemunski park, Studentski park, Karađorđev park i Botanička bašta; S i M – septembar i maj; 1, 2, 3 – netretirani, oprani dejonizovanom vodom, oprani hloroformom. I, II, i III – klase nivoa zagađenja, klasa III odgovara najvišim (podebljano), klasa II srednjim (kurziv) i klasa I najnižim (podvučeno) vrednostima koncentracija elemenata. Skraćenice naziva uzoraka su prikazane u Prilogu 1. Tabela 3.

Tabela 18. Rezultati korelacione analize za uzorke *A. hippocastanum* (2002.-2006. godina)

Tabela 19. Rezultati korelacione analize za uzorke *Tilia* spp. (2002.-2006. godina)

Tabela 20. Analiza glavnih komponenti (sa ortogonalnom rotacijom) elemenata u tragovima u uzorcima listova svih ispitivanih biljnih vrsta

Tabela 21. Sezonske koncentracije elemenata u tragovima u PM10 2012. godine ($\mu\text{g g}^{-1}$; RSD su prikazane u %)

Tabela 22. Analiza glavnih komponenti sa ortogonalnom rotacijom za elemente u tragovima u: a) neopranim i b) opranim uzorcima listova svih ispitivanih biljnih vrsta sakupljenih 2009. godine. Udeli elemenata $>0,5$ su podebljani kao značajne vrednosti

Tabela 23. Opsezi odnosa izotopa $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ u uzorcima listova biljnih vrsta sakupljenih 2009. godine

Tabela 24. Koncentracija olova u uzorcima mahovina iz tunela (srednja vrednost $\pm$ standardna devijacija u $\mu\text{g g}^{-1}$, suva masa). Kontrolnu vrednost predstavlja koncentracija Pb izmerena u neizloženim uzorcima mahovine

Tabela 25. Opsezi koncentracije olova u uzorcima mahovina izloženim u javnim garažama i u kanjonskim ulicama ($\mu\text{g g}^{-1}$)

Tabela 26. Opsezi odnosa izotopa ($^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ i $^{208}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$) u uzorcima mahovina u vrećicama

1. Uvod

Kruženje elemenata u prirodi je od presudnog značaja za funkcionisanje života na zemlji, te je znanje o ovom fenomenu neophodno za razumevanje globalnih procesa koji se odigravaju u životnoj sredini. Elementi se u prirodi javljaju u različitim koncentracijama, u zavisnosti od njihovog sadržaja u Zemljinoj kori, dok je njihov sadržaj u živim bićima određen uglavnom njihovom funkcijom u metabolizmu. Tako neki elementi predstavljaju esencijalne elemente, dok su drugi toksični za žive organizme. Ipak, čak se i esencijalni elementi mogu smatrati toksičnim ako su prisutni u visokim koncentracijama, obično usled prekomernog ispuštanja u životnu sredinu. Praćenje koncentracija i izvora elemenata u tragovima je jedan od glavnih preduslova za formiranje adekvatnih zakonskih propisa kojima bi se regulisao prekomerni unos ovih supstanci u životnu sredinu. Instrumentalne tehnike monitoringa koje se primenjuju za razne medijume životne sredine trenutno predstavljaju jedini oblik praćenja potencijalnih zagađujućih materija, koji se koristi kao osnova za definisanje graničnih vrednosti imisije i graničnih vrednosti koncentracija zagađujućih materija u životnoj sredini. Poslednjih decenija se sve više koriste biljni materijali za potrebe monitoringa, pre svega zagađenja vazduha, zbog mogućnosti biljaka da usvajaju materije iz vazduha koje se talože na nadzemnim delovima biljke. Korišćenje biljaka je pogodno za dobijanje podataka o zagađenju prisutnom tokom određenog vremenskog perioda, od početka vegetacionog ciklusa biljke, kao i o sinergističkom delovanju više zagađujućih materija na žive organizme.

Osnovni cilj istraživanja ove doktorske disertacije je ispitivanje/određivanje mogućnosti korišćenja različitih biljnih materijala za biomonitoring elemenata u tragovima u vazduhu. Predmeti ove disertacije su: a) određivanje najpogodnije biljne vrste za biomonitoring elemenata u tragovima u vazduhu, b) praćenje koncentracija odabranih elemenata u listovima drvenastih vrsta tokom višegodišnjeg perioda, c) praćenje izotopskog sastava olova u listovima listopadnog drveća pre i nakon izbacivanja olovnog benzina iz upotrebe u Republici Srbiji i d) poređenje rezultata dobijenih instrumentalnim monitoringom sa rezultatima biomonitoringa. Takođe su razmatrani i različiti načini pripreme uzoraka listova pre hemijske analize i vršena je hemijska karakterizacija istaloženih frakcija čestica na površini listova i u voštanom sloju, kao i sadržaj elemenata u tkivu listova. Cilj ove karakterizacije je određivanje mogućnosti

ispitivanih biljnih vrsta da zadržavaju elemente u tragovima na površini listova ili u njihovom tkivu, kao i standardizacija metode pripreme uzoraka listova koja bi omogućila lakše upoređivanje rezultata iz različitih istraživanja.

Posebna pažnja je posvećena primeni različitih hemometrijskih metoda i softvera za statističku analizu, kao i primeni odabranih veštačkih neuronskih mreža za analizu koncentracije elemenata u tragovima i izotopa olova u uzorcima, kao novog pristupa u određivanju prostornih i vremenskih obrazaca i izvora elemenata u tragovima u biomonitoringu.

Prema dosadašnjim saznanjima, za većinu elemenata u tragovima koji su akumulirani u listovima, nije dovoljno poznato da li su apsorbovani iz zemljišta, preko korena ili iz vazduha, preko listova. Jedan od ciljeva u okviru ove doktorske disertacije bio je da se ispita korelacija između koncentracija elemenata u tragovima u biljnom tkivu i nivoa prisustva tih elemenata u vazduhu. Takođe, pretpostavljeno je da elementi u tragovima u vazduhu potiču uglavnom iz antropogenih izvora, kao i da priprema uzoraka pre hemijske analize predstavlja bitan korak u razvoju metodologije biomonitoringa. Još jedna od polaznih pretpostavki ove doktorske disertacije je bila da se na osnovu izotopskog sastava olova može odrediti njegovo poreklo u životnoj sredini, tj. izvor njegove emisije. Konačno, od interesa je bilo da se ispita u kojoj meri odabrani biljni materijal primenjen u biomonitoringu oslikava kvalitet životne sredine u pogledu zagađenosti elementima u tragovima.

Prvo poglavlje doktorske disertacije je Uvod, u kome su date osnovne postavke i polazne pretpostavke same disertacije. U okviru ovog poglavlja su definisani predmet i cilj istraživanja, kao i struktura disertacije.

Drugo poglavlje predstavlja Teorijski deo, koji je podeljen na više potpoglavlja: Zagađenje životne sredine i zagađenje vazduha, Biomonitori i bioindikatori, Olovo i izotopi olova u životnoj sredini, Platina u životnoj sredini, Sakupljanje i priprema uzoraka za hemijsku analizu, Analitičke tehnike i Statistička analiza. U okviru svakog potpoglavlja dat je pregled relevantne literature i detaljnije su opisani posmatrani procesi i fenomeni. Potpoglavlje Zagađenje životne sredine i zagađenje vazduha sadrži dva dela: Čestice kao zagađujuće materije vazduha i Elementi u tragovima kao

zagađujuće materije vazduha, u kojima su opisani najznačajniji izazovi u pogledu zagađenja vazduha, trenutno stanje u praksi, kao i glavni zakonodavni okviri kojima se reguliše kvalitet vazduha. U okviru potpoglavlja Biomonitori i bioindikatora je definisan pojam, prednosti i nedostaci biomonitoringa, sa osvrtom na pasivan i aktivan biomonitoring, a posebna pažnja je posvećena višim biljkama i mahovinama kao biomonitorima. Takođe su u okviru ovog potpoglavlja opisane uloge elemenata u tragovima u biljkama i njihova potencijalna toksičnost, kao i načini unošenja u biljke. U naredna dva potpoglavlja, Olovo i izotopi olova u životnoj sredini i Platina u životnoj sredini, posebna pažnja se posvećuje ovim elementima i njihovom unošenju u biljna tkiva, ponašanju i uticaju na životnu sredinu. Poseban akcenat je stavljen na izotope olova kao pogodan alat za određivanje porekla olova u životnoj sredini, koje je poslednjih decenija predstavljalo jedan od najzastupljenijih i najtoksičnijih elemenata u tragovima u životnoj sredini. U okviru potpoglavlja Analitičke tehnike dat je pregled korišćenih tehnika u radu, dok su u okviru potpoglavlja Statističke analize opisane i navedene hemometrijske metode korišćene tokom izrade ove doktorske teze, i dati su osnovni podaci o neuronskim mrežama primenjenim u obradi rezultata.

Poglavljje Eksperimentalni deo, treće poglavljje doktorske disertacije, sadrži potpoglavlja: Opis ispitivanog područja, Postavke eksperimenata biomonitoringa, Uzorkovanje listova i priprema za dalju analizu, Aktivni biomonitoring korišćenjem mahovina, Uzorkovanje čestica i određivanje koncentracija teških metala u filterima, Određivanje koncentracija elemenata i odnosa izotopa olova u uzorcima, Određivanje koncentracije platine u uzorcima, SEM-EDS analiza, Statistička analiza. Prvo potpoglavlje, Opis ispitivanog područja, daje osnovne geografske i demografske podatke o Beogradu, kao i potencijalne izvore zagađenja vazduha u njemu, sa posebnim osvrtom na saobraćaj. Naredna tri potpoglavlja u Eksperimentalnom delu se odnose na postavke eksperimenata (odabir lokacija za sakupljanje uzoraka, odabir biljnih vrsta, trajanje eksperimenata i vreme sakupljanja uzoraka) i opis pripreme uzoraka (pretpriprema uzoraka i priprema za samu hemijsku analizu) pasivnog i aktivnog biomonitoringa. U sledećem poglavljju opisano je sakupljanje uzoraka čestica iz vazduha, njihova priprema i hemijska analiza. Potpoglavlja Određivanje koncentracija elemenata i odnosa izotopa olova u uzorcima i Određivanje koncentracije platine u uzorcima daju detaljan opis metodologije merenja posmatranih elemenata u tragovima i izotopa olova, tehnikom masene spektrometrije sa

indukovano spregnutom plazmom (ICP-MS), kao i podatke vezane za obezbeđivanje i kontrolu kvaliteta merenja. U potpoglavlju SEM-EDS analiza prikazani su opis pripreme uzoraka, način snimanja mikrofografija SEM tehnikom i parametri merenja sadržaja elemenata EDS tehnikom. U potpoglavlju Statistička analiza opisana je priprema podataka za potrebe klasifikovanja i njihovog grupisanja primenom neuronskih mreža, kao i optimizaciji parametara za rangiranje podataka primenom metoda rangiranja. Deo ovog potpoglavlja se odnosi i na primenu statističkih analiza i testova.

U četvrtom poglavlju, Rezultati i diskusija, prikazani su i prodiskutovani rezultati dobijeni tokom izrade doktorske disertacije. Ovo poglavlje je podeljeno na tri potpoglavlja: Karakterizacija površine listova i deponovanih frakcija, Koncentracije elemenata u tragovima u česticama u vazduhu i uzorcima listova tokom višegodišnjeg perioda i Koncentracija i izotopi olova u listovima drveća i uzorcima mahovina. U okviru prvog potpoglavlja prikazani su rezultati SEM-EDS analize, tj. prikazana je morfološka karakterizacija površine listova i deponovanih čestica, kao i elementarni sastav tih čestica. Takođe, prikazani su i rezultati hemijske analize deponovanih frakcija na površini listova, frakcije na samoj površini lista i frakcije zadržane u voštanom sloju, kao i sadržaj elemenata u tragovima u tkivu listova. Pored toga, prikazani su i rezultati klasifikacije, rangiranja i grupisanja uzoraka na osnovu sadržaja elemenata u tragovima u njima, primenom neuronskih mreža i metoda za rangiranje. U okviru drugog potpoglavlja su prikazani rezultati analize koncentracija čestica u vazduhu, kao i elemenata u tragovima u česticama u vazduhu i u uzorcima listova tokom višegodišnjeg perioda. Takođe je vršeno i poređenje metode biomonitoringa sa referentnim monitoringom ispitivanih elemenata u tragovima u vazduhu. U trećem potpoglavlju, Koncentracija i izotopi olova u listovima drveća i uzorcima mahovina, prikazani su trendovi koncentracije i izotopa olova u uzorcima listova tokom ispitivanog perioda, kao i trend promene odnosa izotopa u periodu pre i posle zabrane upotrebe olovnog benzina u Republici Srbiji. U okviru ovog potpoglavlja prikazani su i rezultati odnosa izotopa olova u zavisnosti od načina pripreme uzoraka listova. Rezultati aktivnog biomonitoringa sadržaja i izotopskog sastava olova korišćenjem mahovina su prikazani na klasičan način, ali su takođe prikazani i rezultati dobijeni nakon primene neuronskih mreža za određivanje sadržaja olova u urbanoj sredini. Poslednji deo prikazanih

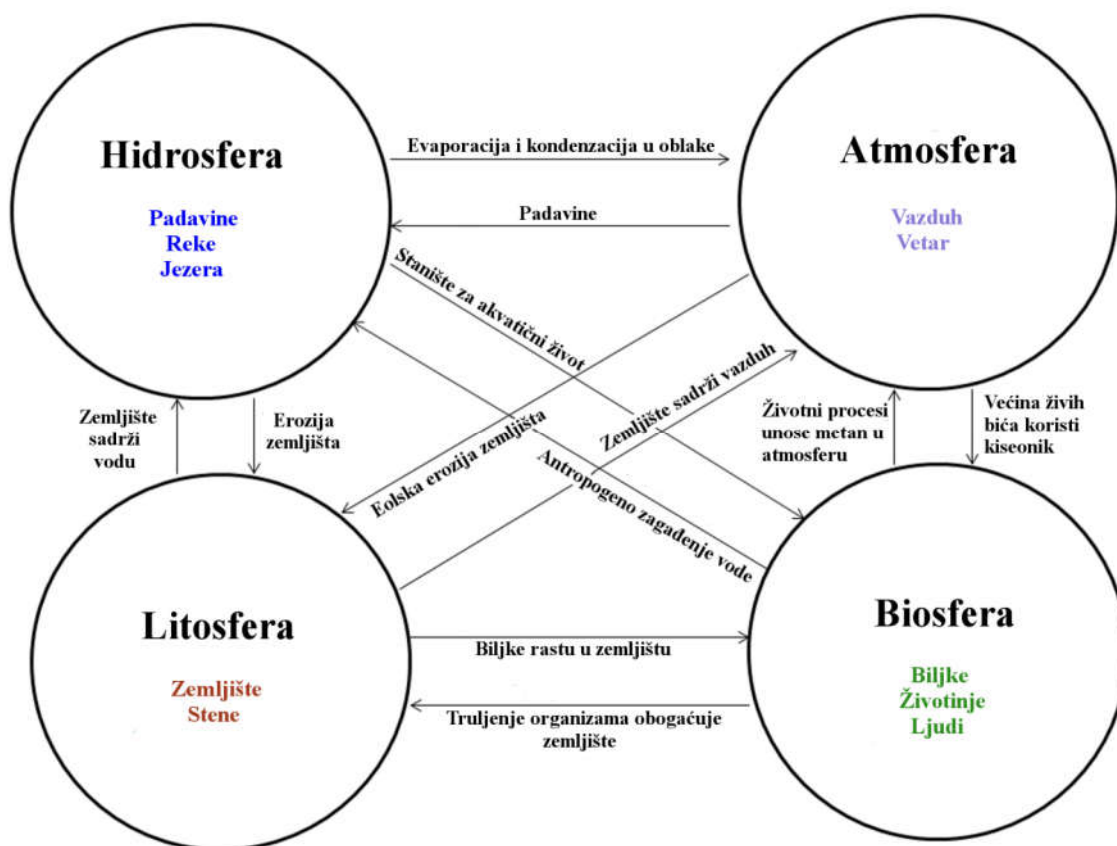
rezultata u okviru poglavlja Rezultati i diskusija se odnosi na primenu neuronskih mreža na sadržaj i izotope olove u uzorcima listova različitih biljnih vrsta.

Peto poglavlje doktorske disertacije sadrži kratak pregled istraživanja i glavne zaključke proistekle iz disertacije. U posljednjem, šestom poglavlju dat je spisak korišćene literature tokom sprovođenja istraživanja i pisanja ove doktorske disertacije.

2. Teorijski deo

2.1. Zagađenje životne sredine i zagađenje vazduha

Protok materije i energije u osnovnim delovima životne sredine, atmosferi, hidrosferi, litosferi i biosferi, se odigrava u svakoj sferi ponaosob i između sfera, u oba smera (Slika 1.). Različiti procesi, biotički i abiotički, koji se takođe odigravaju u ovim sferama, su odgovorni za transformacije materije i energije, čineći sistem kompleksnim i utičući na raspodelu i protok i materije i energije.



Slika 1. Protok materije i energije u osnovnim delovima životne sredine, atmosferi, hidrosferi, litosferi i biosferi (<http://www.americangeosciences.org>)

Porast populacije na globalnom nivou u poslednjih 100 godina, urbanizacija i porast globalne potrebe za korišćenjem energije, su doveli do velikih promena u životima ljudi i životnoj sredini. Antropogeni uticaj na životnu sredinu se ogleda u promeni uslova životne sredine koji mogu da pogoduju malobrojnim vrstama i ekosistemima, poboljšavajući uslove rasta za ove vrste (npr. eutrofikacija) ili da štete drugim vrstama

usled uništavanja njihovih prirodnih uslova za život (Ernst, 2003). Ipak, uticaj ljudi se pre svega odnosi na unošenje ksenobiotika u životnu sredinu, supstanci koje prethodno nisu postojale u prirodi, kao i jedinjenja čije količine i koncentracije u životnoj sredini prevazilaze dosadašnje nivoe i mogu potencijalno da ugroze životnu sredinu i ljudsko zdravlje. Ova jedinjenja često imaju kumulativni efekat i/ili sinergističko dejstvo, usled kojeg dolazi do zajedničkog delovanja dva ili više štetnih jedinjenja, što dovodi do prevazilaženja granica tolerancija organizama ili mogućnosti da se prilagode na novonastale promene (Markert *et al.*, 2003).

Prisustvo hemikalija, čestica i biološkog materijala u vazduhu može da dovede do zagađenja atmosfere. Efekti zagađenja vazduha su nekad i globalnih razmera, kao na primer povećanje efekta staklene bašte i smanjivanje debljine sloja stratosfernog ozona, koji predstavljaju neke od najozbiljnijih problema u životnoj sredini. Jedna od posledica trenutnog stepena industrijalizacije i potreba za poboljšanjem kvaliteta života je i povećana izloženost zagađenju vazduha poreklom iz industrijskih aktivnosti, saobraćaja i proizvodnje energije (WHO, 2007).

Zagađenje vazduha se definiše kao prisustvo zagađujuće materije ili jedinjenja u vazduhu u koncentracijama koje ometaju ljudsko zdravlje ili dovode do drugih štetnih efekata u životnoj sredini (Gunn, 1990). Ova definicija je uvršćena u Opšti višejezični rečnik životne sredine (*General Multilingual Environmental Thesaurus – GEMET*) na 19 jezika, koji su sastavili Evropska agencija za životnu sredinu (*European Environment Agency – EEA*) i Evropski centar za prikupljanje podataka o stanju životne sredine u Evropi (*European Topic Centre on Catalogue of Data Sources – ETC/CDS*), u saradnji sa zemljama članicama Evropske unije i projektom *INFOTERRA*, koji predstavlja projekat programa Ujedinjenih Nacija za životnu sredinu (*United Nations Environment Programme – UNEP*) za globalnu razmenu podataka o životnoj sredini (Ristić *et al.*, 2013). Zagađujuća materija predstavlja svaku neželjenu čestičnu, tečnu ili gasovitu materiju, koja se kao posledica delovanja ljudskih aktivnosti, javlja u čvrstom, tečnom ili gasovitom medijumu životne sredine, čak i ako se ne zapažaju štetni efekti. U određenom kontekstu se može smatrati sinonimom pojmu „zagađujuće jedinjenje”, pogotovo u malim razmerama (Nordberg *et al.*, 2009).

Zagađenje vazduha predstavlja ozbiljan problem u mnogim delovima sveta, utičući na ljude i ekonomije država, dovodeći do smanjenja šuma, gubitka u poljoprivrednoj proizvodnji i ugoržavajući zdravlje populacije i stanje kompletne životne sredine. Zagađujuće materije u vazduhu vode poreklo iz prirodnih i antropogenih izvora, i mogu biti prisutne u čvrstom, tečnom i gasovitom stanju, bilo na otvorenom ili u zatvorenom prostorima. Različite zagađujuće materije iz antropogenih izvora mogu da reaguju međusobno, kao i sa materijama emitovanim iz prirodnih izvora, i pod uticajem su lokalnih vremenskih prilika, što dovodi do različitih nivoa zagađenja u određenim prostornim i vremenskim odrednicama. Vrsta emisije i tip emitera, kao i vremenske prilike u toj oblasti, su samo neki od faktora koji utiču na ove procese (Carnevale *et al.*, 2012).

Zagađujuće materije u vazduhu se dele na primarna jedinjenja, ona koja se emituju direktno iz izvora, i sekundarna jedinjenja, koja se stvaraju u vazduhu u interakciji dva ili više primarnih jedinjenja ili u reakciji sa sastavnim delovima atmosfere. Većina primarnih zagađujućih jedinjenja, uključujući i čestice (*particulate matter* – PM) se emituju usled ljudskih aktivnosti (Pacyna, 1986; Seinfeld & Pandis, 1998; Pacyna & Pacyna, 2001; Vukmirović *et al.*, 2004). Atmosfera u urbanim sredinama je pod uticajem velikog unosa antropogenih zagađujućih materija, koje se emituju iz stacionarnih i mobilnih izvora, a uglavnom su u vezi sa emisijama iz saobraćaja (Seinfeld & Pandis, 1998; Tasić *et al.*, 2006; Saeedi *et al.*, 2012).

Negativni uticaji saobraćaja na kvalitet vazduha su najizraženiji u urbanim sredinama. Razlozi za to su: a) veliki intenzitet saobraćaja, b) specifičan režim gradske vožnje (sa čestim zaustavljanjem i ponovnim kretanjem, koje utiče na rad motora i veću potrošnju goriva), c) postojanje tzv. „kanjonskih ulica” sa visokim zgradama sa obe strane saobraćajnica. U velikim gradovima, drumski saobraćaj spada u dominantne izvore emisije zagađujućih materija u vazduh, sa velikim brojem faktora koji na tu emisiju utiču (vrsta i kvalitet goriva, kategorija i starost vozila, tehničko održavanje vozila, lokalni klimatski uslovi, kvalitet kolovoza, itd.). Najznačajnije zagađujuće materije koje emituju drumska transportna vozila su (Querol *et al.*, 2008; Viana *et al.*, 2008; EEA, 2014):

- prekursori ozona – CO, NO, nemetanska isparljiva jedinjenja (*non-methane volatile organic compound* – NMVOC);

- gasovi koji povećavaju efekat staklene bašte – CO₂, CH₄, N₂O;
- kisele supstance – NH₃, SO₂;
- čestice – PM;
- pol ciklični aromatični ugljovodonici (*polycyclic aromatic hydrocarbons* – PAHs) i postojeće organske zagađujuće materije (*persistent organic pollutants* – POPs);
- toksične supstance – dioksini i furani;
- elementi u tragovima.

Uporedo sa povećanjem zagađenosti vazduha, usled povećane potrebe za fosilnim izvorima energije i porasta proizvodnje i upotrebe hemikalija, došlo je do porasta javne svesti i brige o štetnim efektima zagađenja vazduha na ljudsko zdravlje i životnu sredinu (WHO, 2000). Naime, efekti zagađenja vazduha na zdravlje su vrlo kompleksni (Pandey *et al.*, 2005) jer zagađen vazduh može da izazove akutne i hronične štetne efekte na ljudsko zdravlje putem ingestije, kontakta preko kože ili udisanjem (Hu *et al.*, 2012). Ustanovljena je potreba za smanjenjem zagađenja vazduha, sa ciljem umanjenja štetnih efekata na ljudsko zdravlje, pri čemu se posebna pažnja poklanja osetljivim grupama, i smanjenju štete u životnoj sredini kao celini.

Mnoge države u Evropi imaju slične probleme sa zagađenjem vazduha, delimično usled sličnih izvora zagađenja, ali i usled prekograničnog transporta istog (WHO, 2000). Pitanje prekograničnog transporta zagađujućih materija vazduha je dospelo u žižu interesovanja u Evropi poslednjih decenija. Preduzeti su međudržavni napor za smanjenje emisija zagađujućih materija u okviru Konvencije o prekograničnom transportu zagađenju vazduha (*Convention on Long-range Transboundary Air Pollution* – CLRTAP), koju je osnovala Ekonomska komisija za Evropu Ujedinjenih Nacija (*United Nations Economic Commission for Europe*) (UNECE, 1995, 1998). Cilj konvencije je bio da ustanovi mere za smanjenje koncentracije zagađujućih materija u atmosferi, sa ciljem prevencije štetnih efekata na ljudsko zdravlje i životnu sredinu. Konvencija predlaže mere i najbolje dostupne tehnike za kontrolu emisija, i ukazuje na programe, strategije i propise za dostizanje graničnih vrednosti zagađujućih materija navednih u protokolu (WHO, 2007).

Kao posledica preduzetih mera, emisije zagađujućih materija u vazduhu, u Evropi su značajno opale u periodu od 1990. do 2009. godine, posebno emisije SO₂ i Pb, što je

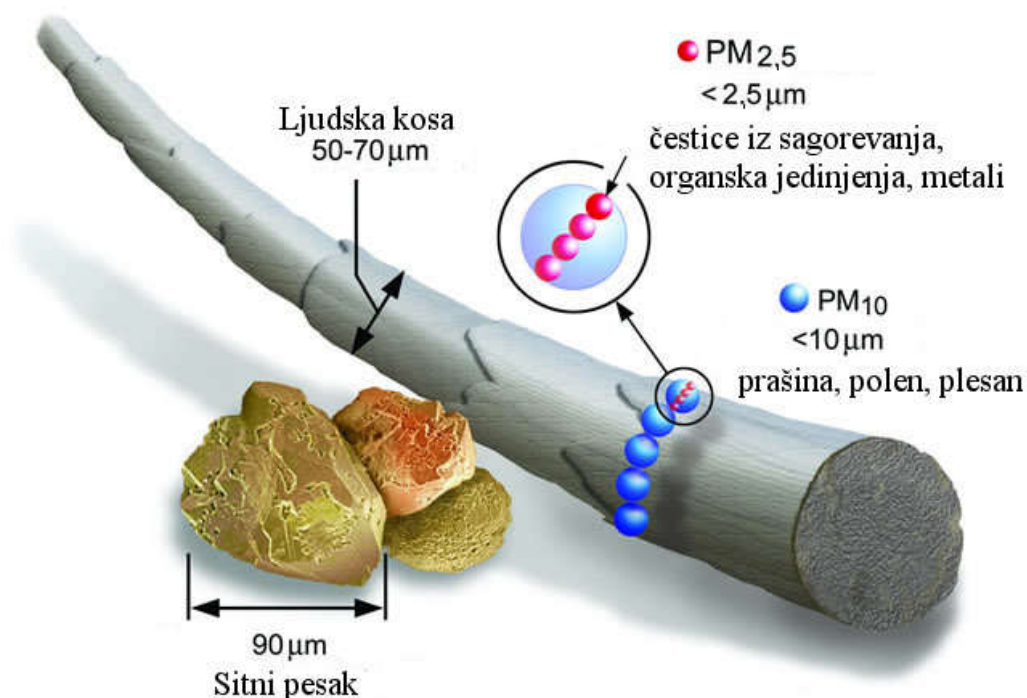
dovelo do poboljšanja kvaliteta vazduha. Trenutno su čestice u vazduhu i ozon najproblematičnije zagađujuće materija u pogledu štetnosti po zdravlje (EEA, 2011). Nasuprot tome, sa povećanjem industrijskih aktivnosti u zemljama u razvoju, emisije zagađujućih materija su u porastu, što često dovodi do pogoršanja kvaliteta životne sredine u oblastima gde ne postoje nikakve mere protiv zagađenja vazduha (Rodriguez *et al.*, 2012).

Zagađujuće materije iz vazduha, kao i životne sredine u celini, utiču na biološke sisteme na različitim nivoima organizacije, počev od pojedinačnih enzima i sistema enzima, preko ćelija, tkiva, organa, pojedinačnih organizama, populacija, do celokupnih ekosistema (Markert *et al.*, 2003). Značajne razlike između delova životne sredine utiču na mobilnost, redistribuciju, transformaciju, skladištenje i praćenje zagađujućih materija. Razvoj savremenih analitičkih tehnika, kao i znanje o uticaju različitih hemikalija na ljudsko zdravlje i životnu sredinu, su doveli do značajnijih poboljšanja u oblasti detekcije zagađujućih materija i zaštiti životne sredine.

2.1.1. Čestice kao zagađujuće materije vazduha

Čestice u vazduhu predstavljaju mešavinu čvrstih i tečnih aerosola različitih veličina, morfologije i hemijskog sastava, često i iz različitih izvora (Vallero, 2008). Za razliku od drugih zagađujućih supstanci u vazduhu, koje su podeljene na osnovu njihovog hemijskog sastava, čestice se klasifikuju na osnovu njihovih fizičkih osobina. Na osnovu veličine se dele na: „krupne” (2,5-10 μm), „fine” (0,1-2,5 μm) i „ultra fine” ($\leq 0,1 \mu\text{m}$) (Beckett *et al.*, 1998). U praksi, razlikuju se (Brunekreef & Holgate, 2002) (Slika 2.):

- PM10 čestice, tzv. „torakalne čestice”, dijametra manjeg ili jednakog 10 μm , koje mogu da dospeju u gornje delove respiratornog sistema, i
- PM2,5 čestice, tzv. „respirabilne čestice”, dijametra manjeg ili jednakog 2,5 μm , koje mogu da dospeju u donje delove respiratornog sistema.



Slika 2. Poređenje čestica PM_{2,5} i PM₁₀ po veličini
<http://www.epa.gov/airquality/particlepollution/basic.html>

Čestične materije se emituju direktno iz antropogenih izvora, kao što su izduvni gasovi vozila, prašina sa puta, sagorevanje uglja, industrija i proizvodnja đubriva, i iz prirodnih izvora, poput erupcija vulkana, šumskih požara, peščanih oluja i erozije zemljišta i stena. Sekundarne čestice nastaju tokom nukleacije, kondenzacije i koagulacije azotovih i sumpornih oksida, amonijaka i isparljivih organskih jedinjenja (prisutni u vazduhu kao gasovita zagađujuća jedinjenja), i uglavnom pripadaju klasi $\leq$ PM_{2,5} (US EPA, 2004).

Nakon emisije, odigravaju se fizičke, hemijske i fotohemijske promene čestica, koje utiču na njihov sudbinu i atmosferske koncentracije. Emitovane čestice se uglavnom ne zadržavaju u blizini izvora emisije već se raznose na velike razdaljine, u zavisnosti od njihove veličine, zatim topografije terena i meteoroloških uslova, posebno pravca i brzine vetra, i vertikalnih i horizontalnih termalnih gradijenata. Veće čestice se uglavnom talože, i na taj način uklanjaju iz vazduha, bliže izvorima emisije, dok se čestice veličine manje od 10 μm prenose na velike razdaljine i često ostaju u vazduhu od

nekoliko dana do nekoliko meseci. Velika pažnja se posvećuje mobilnosti i transportu čestica na regionalnom nivou, a uočene su razlike i u sezonskoj distribuciji čestica (Nriagu & Pacyna, 1988; Alcamo, 1992; Cong *et al.*, 2010; Ewing *et al.*, 2010).

Najviše koncentracije čestica su uglavnom zabeležene u urbanim i industrijskim oblastima. Čestice u urbanim sredinama se u najvećoj meri sastoje od elemenatarnog ugljenika koji formira jezgro čestice (Pandey *et al.*, 2005), a potom i od metala, organskih jedinjenja i materijala biološkog porekla (Tasić *et al.*, 2006). Ove čestice mahom vode poreklo iz izduvnih gasova vozila, resuspenzije prašine sa puta i različitih proizvodnih procesa, usled čega često dolazi do prekoračenja dozvoljenih koncentracija čestica u vazduhu, što urbane i industrijske sredine čini „crnim tačkama” u pogledu zagađenja vazduha. Udeo elemenata u česticama u vazduhu na različitim lokacijama može da se razlikuje do tri reda veličine, što ukazuje na veliki uticaj lokalnih izvora.

Čestice u vazduhu uzrokuju ozbiljne zdravstvene posledice kod izložene populacije. Brojna epidemiološka istraživanja (Schwartz *et al.*, 2001; Pope & Dockery, 2006) su pokazala da je pojava akutnih i hroničnih zdravstvenih problema u vezi sa izlaganjem ljudi u urbanim sredinama česticama iz vazduha, koje se mogu uneti u organizam preko disajnih puteva. Čestice se smatraju štetnim po ljudsko zdravlje jer mogu da izazovu respiratorna i kardiovaskularna oboljenja, pogotovo kod osetljivih grupa, kao što su deca i stariji ljudi i nije određen bezbedan nivo njihove koncentracije. Koncentracije čestica čak i ispod trenutnih smernica za kvalitet vazduha predstavljaju zdravstveni rizik (WHO, 2006). Mortalitet koji se dovodi u vezu sa zagađenjem vazduha je oko 15-20 % veći u gradovima sa višim nivoima zagađenja, u poređenju sa čistijim gradovima (EEA, 2011). Veoma male čestice prodiru veoma duboko u respiratorni sistem i dospevaju do sistema cirkulacije (Kampa & Castanas, 2008) i tim putem dolaze do različitih organa (Nemmar *et al.*, 2002). Osim toga, ove čestice često sadrže toksične elemente u tragovima ili organska jedinjenja, kao što su PAH-ovi (EPA, 2004). Istraživanja su pokazala da se zbog hroničnog izlaganja PM10 povećava rizik od pojave kardiovaskularnih i respiratornih oboljenja i raka pluća (Pope *et al.*, 2002), dok akutna izlaganja mogu da dovedu doardiopulmonarnih oboljenja (WHO, 2005). Ipak, još uvek je nedovoljno istraženo, i za sitne i za krupne čestice, koje fizičke i hemijske osobine određuju njihovo nepovoljno dejstvo na zdravlje. Neke od mogućih karakteristika su: veličina čestica, struktura, količina, masena koncentracija, rastvorljivost, hemijski sastav,

prisutne individualne komponente, itd. (Pöschl, 2005). Neki autori navode da je efekat ultrasitnih čestica u boljoj korelaciji sa površinom čestica nego sa brojem i masom čestica (Moshhammer & Neuberger, 2003; Sinclair & Tolsma, 2004). Analiza elementarnog sastava PM10 omogućava procenu zdravstvenih rizika (karcinogenih i nekarcinogenih), koji se dovode u vezu sa izlaganjem ljudi elementima u tragovima, vezanim za čestice, putem disanja. Pored toga, PM10 mogu biti apsorbirane u nadzemnim delovima povrća i na taj način unete u lanac ishrane (Kabata-Pendias & Mukherjee, 2007).

Štetni efekat koji čestice iz vazduha mogu da imaju na ljudsko zdravlje dovodi do potrebe za strogim zakonskim propisima u vezi sa njihovim koncentracijama u vazduhu. Agencija za zaštitu životne sredine Sjedinjenih Američkih Država (*United States Environmental Protection Agency* – US EPA) je postavila Nacionalne standarde za kvalitet vazduha (*National Ambient Air Quality Standards*) za šest glavnih zagađujućih jedinjenja, koja se nazivaju „kriterijumska” zagađujuća jedinjenja: ugljen-monoksid (CO), kao primarno zagađujuće jedinjenje; olovo (Pb), primarno i sekundarno zagađujuće jedinjenje; azot-dioksid (NO₂), primarno zagađujuće jedinjenje za prosečno vreme od 1 sata i primarno i sekundarno na godišnjem novou; ozon (O₃), primarno i sekundarno zagađujuće jedinjenje; čestice veličine 2,5 i 10 µm (PM_{2,5} i PM₁₀), primarna i sekundarna zagađujuća materija; i sumpor-dioksid (SO₂) primarno i sekundarno zagađujuće jedinjenje. Za razliku od drugih zagađujućih materija, poput O₃, CO, SO₂, NO₂ i Pb, čestice ne predstavljaju zasebnu supstancu ili jedinjenje već predstavljaju mešavinu čestica iz različitih izvora, različite veličine, sastava i osobina. Od 1990-ih, godišnje emisije zagađujućih jedinjenja u vazduhu na nivou SAD-a su opale, sa najvećim padom emisije olova (83 %). Emisije PM_{2,5} su opale za više od polovine, dok su emisije PM₁₀ i SO₂ opale za više od 60 %, a emisije NO_x i VOC (*volatile organic compounds* – isparljiva organska jedinjenja) za više od 40 % (US EPA, 2010).

Tokom poslednjih decenija primenjene su brojne mere i uvedeni su standardi kvaliteta vazduha u zakonodavstvu Evropske unije sa ciljem smanjenja koncentracije čestica u vazduhu i njihovog uticaja na ljudsko zdravlje i životnu sredinu. U okviru LRTAP konvencije definisana je obaveza izveštavanja na nacionalnom nivou o emitovanim količinama PM₁₀ čestica, što podrazumeva poznavanje emitovanih količina PM₁₀ čestica, kao i doprinosa pojedinačnih sektora njihovoj emisiji. U EU je u okviru Propisa o

kvalitetu vazduha (*Air Quality Directive*) iz 2008. godine, ustanovljenja ciljna vrednost za izloženost ljudi česticama PM_{2,5}, na osnovu indikatora prosečne izloženosti (*average exposure indicator* – AEI), i usvojena je na nivou cele Evropske unije (Directive 2008/50/EC, 2008). Takođe, propisana je i granična vrednost prosečne godišnje koncentracije PM₁₀, koja iznosi 40 µg m⁻³ (Directive 2008/50/EC, 2008) i dnevna granica koncentracije PM₁₀, koja ne sme da se pređe tokom više od 35 dana u godini i koja iznosi 50 µg m⁻³. U zakonu Republike Srbije propisane su iste dnevne i godišnje granične vrednosti kao i u Evropskoj uniji, ali njihova primena počinje od januara 2016. godine (Vlada Republike Srbije, Službeni glasnik 11/10 i 75/10). S druge strane, smernice kvaliteta vazduha Svetske zdravstvene organizacije (*World Health Organization* – WHO) za koncentraciju PM₁₀ iznose 20 µg m⁻³, izražene u vidu godišnjeg proseka, i mnogo su niže od vrednosti propisanih zakonima EU; one se odnose pre svega na ciljne vrednosti, jer ne postoji prag vrednosti za koncentraciju PM ispod kojeg nikakvi štetni uticaji na ljudsko zdravlje nisu primećeni (WHO, 2006).

Kao rezultat donetih propisa, emisija čestica i njihovih prekursora konstantno opada u EU (Monks *et al.*, 2009), kao i koncentracije PM₁₀ u vazduhu. Međutim, uprkos ovim pozitivnim trendovima, granične vrednosti koncentracije PM₁₀ se i dalje često prekoračuju u različitim delovima Evrope (Putaud *et al.*, 2010).

2.1.2. Elementi u tragovima kao zagađujuće materije vazduha

Termin elementi u tragovima se uglavnom odnosi na elemente koji su prisutni u prirodnim i narušenim životnim sredinama u malim količinama, ali ako se nalaze u prekomernim biodostupnim koncentracijama mogu biti toksični za žive organizme (Blum *et al.*, 2009). Metali u tragovima su metali koji se javljaju u zemljištu, biljkama, tkivima, podzemnim vodama, itd., u niskim koncentracijama, obično ppm nivoa ili nižim (Duffus, 2002). Ponekad se ovaj termin koristi i za niske nutritivne potrebe pojedinih organizama za određenim elementima.

Atmosferska depozicija elemenata u tragovima, uglavnom metala u tragovima, doprinosi zagađenju ostalih komponenti biosfere (voda, zemljište i vegetacija). Elementi se adsorbuju za neorganske i organske čestice u vazduhu (osim Hg, koja se javlja uglavnom u gasovitom stanju), a potiču iz prirodnih i antropogenih izvora u životnoj sredini.

Prirodne izvore elemenata predstavljaju vulkanske erupcije, kosmička i terestrična prašina, prirodni požari, so iz mora i okeana, itd. Glavni antropogeni izvori elemenata u tragovima su emisije iz brojnih industrijskih procesa i motornog saobraćaja. Pojedinačni izvori metala u tragovima su emisije izduvnih gasova (Ba, Cr, Cu, Fe, Mn, Pb, Zn), stacionarno sagorevanje fosilnih goriva (Cr, Mn, Ni, V), proizvodnja nebojenih metala (Cd, Cu, Zn) i sagorevanje benzina (Pb) (Schauer *et al.* 1996; Bilos *et al.* 2000; Pacyna & Pacyna 2001). Neki od izvora emisije elemenata u tragovima u vazduh iz saobraćaja su (Sternbeck *et al.*, 2002; Ravindra *et al.*, 2004; Hjortenkrans *et al.*, 2006; Thorpe i Harrison, 2008; Harrison *et al.*, 2012; Pulles *et al.*, 2012; Lawrence *et al.*, 2013; Wiseman *et al.*, 2013):

- proces sagorevanja goriva (As, Cd, Cr, Cu, Hg, Mn, Ni, Pb, Zn) i malih količina maziva u motorima sa unutrašnjim sagorevanjem (Zn);
- habanje delova motora (Al, Ag, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Pb, Sn, Ti) ili automobilskih katalizatora (Pt, Pd, Rh);
- habanje kočionih obloga (Ba, Cu, Pb, Sb, Zn), trenja asfalta i guma (Cr, Co, Cu, Mn, Ni, Pb, Zn);
- korozija metalnih delova motornih vozila;
- curenje ulja, goriva;
- resuspenzija prašine i zemljišta sa i pored saobraćajnica (Al, Fe, Mn, Sr, Ba, Pb);
- oštećenja opreme puta (npr. zaštitne ograde) i saobraćajne signalizacije;
- bela boja (Ti) i žuta boja (Pb) za obeležavanje horizontalne signalizacije;
- sredstva protiv klizanja (Pb, Cd, Zn);
- materije koje se oslobađaju pri udesu (mineralna ulja, sredstva za gašenje požara, roba koja se prevozi, hemikalije, otpad, itd.);
- herbicidi i pesticidi koji se koriste za održavanje zelenih površina pored puteva.

U razvijenim zemljama u kojima se koristi samo bezolovni benzin, odnosno goriva poboljšanih karakteristika i u kojima se primenjuju odgovarajući emisijski standardi (npr., u EU se od decembra 2013. godine primenjuje EURO 6 standard u vozilima), najveća emisija elemenata u tragovima potiče iz habanja kočionih obloga (Thorpe &

Harrison, 2008; Gietl *et al.*, 2010). Može se pretpostaviti da su emisije elemenata u tragovima putem izduvnih gasova iz motornih vozila znatno veće u Republici Srbiji, s obzirom na drugačiju zakonsku regulativu u odnosu na EU u pogledu kvaliteta goriva, koja omogućava korišćenje goriva znatno lošijeg kvaliteta.

Za supstituciju Pb-aditiva u benzinu koriste se razna alternativna rešenja, među kojima je i organsko jedinjenje mangana, metil-ciklopentadienil mangan trikarbol (MMT). MMT se primarno koristi za povećanje oktanskog broja i kao antidetonator. Međutim, pokazalo se da, upotrebom MMT-a kao aditiva u bezolovnom benzinu, dolazi do porasta koncentracije mangana u vazduhu, što može imati negativne posledice po ljudsko zdravlje. Pored toga, MMT izaziva oštećenja na katalitičkim konvertorima i značajno umanjuje njihovu efikasnost. Zabrana upotrebe MMT-a je do sada zakonski regulisana jedino u Kanadi. Maksimalna dozvoljena koncentracija MMT-a u benzinu u EU je 2 mg L⁻¹ od januara 2014. godine (European Commission, Directive 2009/30/EC).

Tokom poslednjih par decenija, istraživanja totalne (vlažne i suve) atmosferske depozicije metala u urbanim sredinama su često korišćena za procenu uticaja atmosferskih unosa metala u životnu sredinu (Golomb *et al.*, 1997; Wong *et al.*, 2003; Motelay-Massei, *et al.* 2005; Azimi *et al.*, 2005; Rossini *et al.*, 2005; Sharma *et al.*, 2008). Količina teških metala poreklom iz prirodnih izvora je praktično zanemarljiva u poređenju sa antropogenim izvorima. Elementi u tragovima, posebno teški metali, su zagađujuće materije od velikog značaja, zbog njihovih potencijalno štetnih uticaja na životnu sredinu (Järup, 2003; Wei & Yang 2010; Milosavljević *et al.* 2011). Dugogodišnji prekomerni unosi ovih elemenata mogu da predstavljaju opterećenje za životnu sredinu, jer ulaze i kruže u biogeohemijskim ciklusima, akumuliraju se kroz lanac ishrane usled nemogućnosti biodegradacije, i u zavisnosti od njihove koncentracije i toksičnosti, predstavljaju rizik za ekosistem i ljudsko zdravlje (Cong *et al.*, 2010; Milosavljević *et al.*, 2010; Nica *et al.*, 2012). Teški metali, kao što su As, Cd, Cr i Pb, su od najvećeg značaja zbog njihove toksičnosti i potencijalnih karcinogenih osobina (Melaku *et al.*, 2008). Osim toga, metali poput Cd, Cr, Ni i Pb imaju kumulativne efekte, uzrokujući zaostalost u rastu kod dece, bolesti bubrega, rak i mnoge druge štetne zdravstvene efekte (Jiries, 2003).

Izlaganje povišenim koncentracijama olova utiče na pojavu razvojnih i neurobiheviornalnih promena kod fetusa, beba i dece, kao i na porast krvnog pritiska kod

odraslih ljudi. Glavni izvor emisije olova u atmosferu tokom mnogo godina je bio olovni benzin koji je korišćen u automobilima. S obzirom da je sadržaj olova u benzinu regulisan u većini evropskih zemalja od 2000. godine (Hjortenkrans *et al.*, 2006), industrija i sagorevanje goriva su postali glavni uzročnici emisije olova u vazduh. Ipak, olovni benzin je i dalje korišćen u Republici Srbiji tokom prethodne decenije, iako je njegova potrošnja smanjena poslednjih godina usled povećanog broja automobila koja koriste bezolovni benzin. Potrošnja bezolovnog benzina u Republici Srbiji je u porastu od 2000. godine, ali je olovni benzin zvanično zabranjen početkom 2011. godine. Ipak, starost vozila u Republici Srbiji tokom 2000-ih godina je i dalje bila velika. Od ukupnog broja vozila u 2008. godini, broj vozila starijih od 10 godina je iznosio preko 65 %, dok je samo 17 % bilo mlađe od 5 godina (Prvulović *et al.*, 2008).

Izloženost arsenu se dovodi u vezu sa povećanim rizikom od melanoma i raka pluća. Glavni antropogeni izvor arsena je stacionarno sagorevanje fosilnih goriva, posebno sagorevanje uglja i u manjoj meri metalurška industrija. Kadmijum izaziva oštećenja bubrega i kostiju, a utvrđeno je i da predstavlja potencijalni karcinogen, izazivajući rak pluća. Nikl je poznati karcinogen, a negativno utiče i na endokrini sistem (EEA, 2011). Jedinjenja kadmijuma i nikla u česticama iz vazduha uglavnom potiču iz procesa sagorevanja uglja i lož ulja, metalurške industrije i saobraćaja (EEA, 2011). Jedinjenja Cr (VI) se često dovode u vezu sa toksičnim i karcinogenim efektima na „bronhijalno drvo”. Ipak, prilikom merenja koncentracije Cr u česticama u vazduhu, dobijene vrednosti koncentracije predstavljaju ukupni sadržaj tog elementa, kao što je navedeno u propisima Republike Srbije za praćenje kvaliteta vazduha (Vlada Republike Srbije, Službeni glasnik 54/92, 30/99, 19/06, 11/10 i 75/10).

Evropska unija je propisala godišnje granične vrednosti koncentracije Pb (500 ng m^{-3}) (Directive 2008/50/EC, 2008), i ciljne vrednosti koncentracija As (6 ng m^{-3}), Cd (5 ng m^{-3}) i Ni (20 ng m^{-3}), izmerenih u PM10 (Directive 2004/107/EC, 2004). Naznačene vrednosti su maksimalne godišnje prosečne vrednosti, koje su zemlje članice bile u obavezi da ispune do 2013. godine, osim granične vrednosti koncentracije Pb, koju je trebalo ispuniti do 2005. godine. U propisu Republike Srbije o sadržaju elemenata u tragovima u PM10, godišnja granična vrednost koncentracija Pb je trebalo da bude ispunjena do januara 2016. godine, dok se ciljne vrednosti koncentracija As, Cd i Ni proveravaju od januara 2012. To znači da su podaci iz 2012. prvi koji će se koristiti u

određivanju saglasnosti izmerenih vrednosti sa ciljnim vrednostima u periodima od 3 do 5 godina, u zavisnosti od potreba monitoringa (Vlada Republike Srbije, Službeni glasnik 11/10 i 75/10).

Iako su atmosferski nivoi elemenata u tragovima uglavnom niski, oni doprinose taloženju i akumulaciji u zemljištu, sedimentima i živim organizmima. S druge strane, stepen apsorpcije nekih elemenata, kao što su Pb i Cd, je mnogo veći putem inhalacije (do 50-60 %) nego putem ingestije (između 3 i 10 %) (WHO, 2000).

Velika pažnja se posvećuje i transportu i mobilizaciji elemenata u tragovima (Nriagu & Pacyna, 1988; Alcamo, 1992) i uočavaju se razlike u regionalnim i sezonskim distribucijama elemenata. Elementi u tragovima, kao što su Pb, Cd i Hg, se mogu prenositi na velike razdaljine putem atmosferskog strujanja vazduha, nakon čega dolazi do njihovog taloženja daleko od izvora emisije (Nriagu & Pacyna, 1988; Alcamo, *et al.* 1992). Postoje dokazi da su elementi u tragovima poreklom iz antropogenih izvora široko rasprostranjeni u atmosferi i mogu se javiti i na velikim visinama u planinskim oblastima, kao i na Arktiku (Kabata-Pendias & Mukherjee, 2007).

2.2. Biomonitori i bioindikatori

Da bi se sprovela adekvatna zaštita životne sredine, potrebno je imati pouzdane podatke o stanju životne sredine. Pored standardnih tehnika i metoda monitoringa, koje uključuju instrumentalna merenja kvaliteta različitih medijuma životne sredine, koja su u većini zemalja propisana zakonima i uspostavljena nizom propisa, u poslednjih nekoliko decenija raste interesovanje i za monitoring kvaliteta životne sredine korišćenjem bioloških indikatora/monitora (Markert, 1993; Bargagli, 1998). Sa razvitkom pogodnih analitičkih tehnika, biomonitoring je uspostavljen kao tehnika komplementarna referentnom praćenju zagađenja vazduha (Markert, 1995; Berlizov *et al.*, 2007). Poznato je da biljke usvajaju elemente u tragovima iz atmosfere i korišćene su u velikom broju istraživanja omogućavajući dobijanje podataka o kvalitetu životne sredine uz jednostavno uzorkovanje i niske troškove (Markert 1993; Bargagli 1998; Weiss 2003; Rucandio *et al.* 2011).

Biološki monitoring ili biomonitoring predstavlja redovno, sistematsko korišćenje organizama, delova ili zajednice organizama, kao i različitog materijala biološkog

porekla sa svrhom određivanja kvaliteta životne sredine (Cairns, 1979). Postoje dve vrste biomonitoringa: aktivni i pasivni biomonitoring. Aktivni biomonitoring uključuje korišćenje organizama, uzgojenih ili prethodno pripremljenih u laboratoriji za praćenje kvaliteta životne sredine na terenu, u definisanim uslovima i tokom određenog perioda. Sa druge strane, u pasivnom biomonitoringu se koriste organizmi koji se prirodno pojavljuju u određenom ekosistemu i vrši se praćenje njihove reakcije na promene u istom (Markert *et al*, 2003). Biomonitoring je brz i ekonomičan metod koji se često koristi za procenu kvaliteta životne sredine i potencijalne štetne uticaje zagađujućih jedinjenja na biosferu (Wolterbeek 2002; Szczepaniak & Biziuk, 2003).

Bioindikator je organizam (ili deo organizma ili zajednica organizama) koji daje informaciju o kvalitetu životne sredine (ili dela životne sredine). Prisustvo ili odsustvo indikatorske vrste, kao i određene promene fiziološkog sastava, se posmatraju kao naznaka o promenjenim fizičkim i hemijskim uslovima u ekosistemu. Sa druge strane, biomonitori su organizmi, delovi ili zajednice organizama koje omogućavaju kvalitativno i kvantitativno određivanje uticaja zagađujućih supstanci na životnu sredinu, putem uspostavljenih mreža za praćenje kvaliteta životne sredine (Markert *et al*, 2003). Uticaj zagađujućih supstanci se određuje na osnovu akumulacije elemenata ili jedinjenja na različitim nivoima organizacije posmatranog organizma, kao i na osnovu promena unutarćelijskih fizioloških i biohemijskih procesa, mikroskopskih i morfoloških promena ćelijskih organela ili organa i promena u obliku i funkcionisanju čitavog organizma. Dakle, biomonitori su uvek i bioindikator, dok bioindikator ne predstavljaju uvek i biomonitor. Pored toga postoje i test organizmi koji se koriste u toksikološkim testovima, da bi se kvantitativno odredili ekološki efekti određenih hemijskih supstanci (Fränzle, 2003).

Idealni bioindikator bi trebalo da ima sledeće karakteristike (Witting, 1993; Zimmermann *et al*, 2000; Zhou *et al*, 2008):

- osetljivost na zagađujuće supstance koje se posmatraju,
- mogućnost akumulacije visokih koncentracija zagađujućih supstanci bez rizika da nastupi smrt jedinke,
- sesilan način života,

- široku rasprostranjenost i dovoljnu količinu biomase, da bi se omogućila ponavljanja i upoređivanja rezultata,
- dovoljno dugačak životni vek za upoređivanje jedinki ili delova jedinki različite starosti,
- jednostavno uzorkovanje ili uzgajanje u laboratoriji,
- postojanje korelacije između akumulacije i unosa u ekosistem,
- pouzdanost rezultata za datu vrstu i/ili zagađujuću materiju.

Bioindikatori se najčešće dele na grupu vrsta sa reakcijom na stres i grupu akumulatorskih vrsta. Vrste sa reakcijom na stres imaju nizak nivo tolerancije promena ekološkim faktorima i reaguju na fizički ili hemijski stres uočljivom ili merljivom promenom. S druge strane, akumulatorske vrste pokazuju određeni nivo tolerancije na stres, što omogućava unošenje potencijalno štetnih supstanci tokom određenog vremena, bez štetnih efekata (Markert *et al.*, 2003).

Jedna od prednosti biomonitoringa u odnosu na referentni monitoring su niži troškovi sprovođenja, čak i u slučaju aktivnog biomonitoringa. Metode referentnog uzorkovanja su često ograničene visokim troškovima i poteškoćama u izvođenju obimnog monitoringa tokom dužeg vremena i na velikim prostorima. Stoga je danas veliko interesovanje za korišćenje indirektnih metoda monitoringa, kao što je primena organizama kao bioakumulatora. Bitna prednost je i mogućnost posmatranja efekta povišene koncentracije zagađujuće supstance na organizam, koji oslikava njegovo ukupno vreme izlaganja, za razliku od referentnog merenja, gde se dobija vrednost određenog parametra u određenom vremenskom okviru. Biomonitori daju uvid i u združeni efekat svih zagađujućih supstanci koje deluju na organizam. Još jedan od bitnih aspekata prilikom korišćenja biljaka u monitoringu zagađujućih materija u vazduhu je stepen, trajanje i promene u atmosferskom zagađenju. Na koncentracije zagađujućih materija u biljkama utiče i da li su u pitanju kratkotrajni ili dugotrajni unos zagađujućih materija u vazduh, hronične niske doze ili pojedinačni akutni unosi.

Koncentracije zagađujućih materija u biljkama često omogućavaju bolju procenu rizika od postojećeg zagađenja, posebno u slučaju onih jedinjenja koja su fitotoksična i/ili uglavnom utiču na životinje i ljude koji konzumiraju te biljke. Takođe, za brojne štetne materije često ne postoje fizičke i hemijske metode za njihovo merenje ili su veoma

komplikovane, zahtevne i skupe ili su pak manje osetljive od tehnika bioindikacije (Kabata-Pendias, 2011). S druge strane, jedna od glavnih mana biomonitoringa je velika varijabilnost u osetljivosti i pogodnosti različitih vrsta za korišćenje u monitoringu štetnih supstanci, što nepovoljno utiče na mogućnost upoređivanja rezultata (Fränzle, 2003).

2.2.1. Mahovine kao biomonitori

Mahovine (Lat. *Bryophyta*) su veoma osetljivi biomonitori zagađenja teškim metalima jer mogu da akumuliraju velike količine ovih elemenata u svom tkivu. Pored lišajeva, smatraju se najboljim bioindikatorima kvaliteta vazduha, jer akumuliraju elemente u količinama koje nadmašuju njihove fiziološke potrebe (Rühling & Tyler, 1968; Berg i Steinnes, 1997; Harmens *et al.*, 2008). Prednosti mahovina kao biomonitora se ogledaju u nekoliko karakteristika (Fränzle, 2003):

- imaju široku geografsku distribuciju u prirodnim staništima, ali se mogu naći i u urbanim i industrijskim zonama;
- joni metala lako prolaze kroz ćelijski zid mahovina koje ne poseduju epidermis i kutikulu;
- mahovine ne poseduju pravi korenov sistem, te uglavnom ne dolazi do usvajanja minerala iz supstrata na kome rastu već ih usvajaju putem suve i vlažne depozicije iz vazduha;
- ne dolazi do transporta minerala kroz mahovine, jer ne poseduju pravi vaskularni sistem;
- mahovine akumuliraju metale pasivnim putem po principu izmenjivača jona.

Većina mahovina je male veličine, ali poseduju brojne sitne listiće i filoidne nastavke koji su često izgrađeni od samo jednog sloja ćelija, pa imaju veliki odnos površine i zapremine. Zbog njihove male veličine, uslovi mikro sredine u kojoj se nalaze su često značajniji od uslova makro sredine. Većina mahovina su ektohidridne vrste, jer usvajaju vodu i minerale putem atmosferske depozicije. Vezivanje metala u mahovinama zavisi od broja dostupnih jono-izmenjivačkih mesta i morfološke strukture mahovine, koja se razlikuje od vrste do vrste. Unošenje elemenata u ćelije mahovine zavisi od afiniteta

nosača jona, kompeticije između prisutnih elemenata za slobodna mesta na nosačima, gradijenta koncentracije elemenata i energetskog statusa (Zechmeister *et al.*, 2003).

Zbog njihovog visokog kapaciteta akumulacije i osjetljivosti na brojna toksična jedinjenja, mahovine se mogu koristiti kao akumulacioni indikatori i kao osjetljivi indikatori (Markert, 2003) za brojne promene u životnoj sredini izazvane ljudskim faktorom, pre svega emisije zagađujućih materija. Koriste se najviše kao akumulatorske vrste za teške metale, radionuklide i toksična organska jedinjenja. Pokazano je da su mahovine korisne za određivanje trenutnog stanja zagađenja životne sredine teškim metalima na većim ili manjim oblastima, kao i za ocenjivanje nivoa zagađenja u prošlosti (Zechmeister *et al.*, 2003).

Mahovine se najčešće koriste u tzv. pasivnom biomonitoringu, gde se koriste autohtone vrste za potrebe monitoringa na velikim prostorima, kao i za potrebe određivanja zagađenja na lokalnom nivou, u blizini potencijalnih izvora zagađenja. Prilikom pasivnog monitoringa, mahovine se uzorkuju sa odabranih lokaliteta gde prirodno rastu i određuje se sastav i koncentracija elemenata u njima (Barandovski *et al.*, 2015).

Pored pasivnog biomonitoringa mahovinama, koriste se i dve metode aktivnog biomonitoringa:

- Metoda transplantiranih mahovina – mahovine se sa njihovim supstratom sakupljaju u nezagađenim predelima i transplantiraju u zagađena područja. Ostavljaju se tokom određenog perioda i potom analiziraju koncentracije teških metala u njima.
- Metoda „vrećica sa mahovinom“ (eng. *moss bag technique*) – uzorci svežih ili devitalizovanih mahovina sakupljenih u nezagađenim područjima se stavljaju u najlonske mrežaste vrećice i izlažu u zagađenoj sredini tokom određenog perioda vremena. Ova tehnika se uglavnom koristi u urbanim i industrijskim sredinama gde prirodne populacije mahovina često izostaju. Aktivni biomonitoring korišćenjem tehnike vrećica sa mahovinama je razvijen sa ciljem praćenja zagađenja vazduha u urbanim i veoma zagađenim sredinama, s obzirom da su mahovine često odsutne u urbanim zonama (Goodman i Roberts, 1971). Aktivni biomonitoring sa vrećicama sa mahovinama je ekonomičan metod koji pruža

dobar preliminarni uvid u kvalitet vazduha (Ares *et al.*, 2012). Ova tehnika je posebno pogodna za procenu dugoročnih vremenskih i prostornih promena u atmosferskoj depoziciji elemenata u tragovima. Ključni faktor upotrebe ove tehnike je vreme izloženosti vrećica sa mahovina, jer proces usvajanja elemenata iz vazduha zavisi od brojnih faktora, kao što su vremenski uslovi, fiziološko stanje mahovine i razlike u atmosferskim nivoima zagađujućih materija (Ares *et al.*, 2012). Stoga je teško utvrditi pogodno vreme izlaganja kesica sa mahovinama koje omogućava adekvatnu akumulaciju elemenata iz vazduha i mogućnost ponavljanja eksperimenta.

Vrste roda *Sphagnum*, poznate i kao „bele mahovine“, su najčešće korišćene vrste mahovina u aktivnom biomonitoringu elemenata u tragovima (Ares *et al.*, 2012) zbog svojih morfoloških i hemijskih svojstava; izuzetno velika kontaktna površina, kao i brojna jono-izmenjivačka mesta na membranama ćelija omogućavaju efikasne procese izmene katjona i zadržavanje finih čestica iz vazduha (Bargagli, 1998, Gonzales & Pokrovski, 2014). Tehnika vrećica sa mahovinom *Sphagnum girgensohnii* Rusow je primenjena u brojnim istraživanjima akumulacije elemenata u tragovima u urbanim sredinama (Culicov *et al.*, 2005; Culicov & Yurkova, 2006; Aničić *et al.*, 2009a,b,c), kao i istraživanjima vertikalnih i horizontalnih distribucija elemenata u tragovima i kvaliteta vazduha u urbanim sredinama (Saitanis *et al.*, 2013; Vuković *et al.*, 2013, 2014, 2015a).

2.2.2. Više biljke kao biomonitori

Više biljke igraju važnu ulogu u ishrani i životu na planeti. Kao sesilni organizmi, uvek su izložene različitim uslovima u životnoj sredini, kao što su prisustvo zagađujućih materija u vazduhu, na mestima gde žive. Osobine njihovih nadzemnih delova i priroda zagađujućih materija su odgovorne za akumulaciju brojnih štetnih jedinjenja u biljkama. Biljke imaju velike površine listova, jer je površina listova na biljkama mnogo veća od površine zemlje koja je pokrivena nadzemnim delovima biljaka (Kimmins, 1987). Zbog toga, nadzemni delovi biljaka predstavljaju efikasan „filter“ za zagađujuće materije vazduha.

U industrijskim i urbanim sredinama više biljke mogu da daju kompleksnije informacije od nebioloških uzoraka. Glavne prednosti korišćenja viših biljaka u monitoringu

kvaliteta vazduha su velika dostupnost biološkog materijala, jednostavnost određivanja vrsta i široka rasprostranjenost nekih rodova, relativno jednostavno uzorkovanje i priprema, itd. (Bargagli, 1998; Berlizov *et al.*, 2007; Rucandio *et al.*, 2011; Hoodaji *et al.*, 2012). Stoga više biljke kao indikatori u monitoringu zagađenja vazduha imaju niz prednosti u veoma zagađenim sredinama, gde su lišajevi i mahovine često odsutni usled predominantno asfaltiranih i uređivanih površina. Više biljke takođe pokazuju veću toleranciju na promene u životnoj sredini, što je od posebnog značaja za oblasti sa povećanim antropogenim uticajem (Berlizov *et al.*, 2007).

Kao što je već istaknuto, biljke imaju sposobnost da „filtriraju“ zagađujuće materije iz vazduha i zadržavaju ih na listovima (Beckett *et al.*, 1998). Naime, drveće je veoma efikasno u „hvatanju“ atmosferskih čestica, što je od posebne važnosti u urbanim sredinama (Coe & Lindberg, 1987; Freer-Smith *et al.*, 1997; Bargagli, 1998). Drveće se smatra najefikasnijim tipom vegetacije u zadržavanju zagađujućih materija, odnosno ima ulogu biološkog „filtera“ (Nowak *et al.*, 2006; McDonald *et al.*, 2007; Reimann *et al.*, 2007). Specifična svojstva vrsta, kao što su morfološke i anatomske osobine listova, utiču na proces zadržavanja čestica. Listovi predstavljaju aktivne kolektore zagađujućih materija, jer mogu da usvajaju gasovita zagađujuća jedinjenja putem stoma, koje se nalaze pod uticajem interakcije između biljke i okoline (Kardel *et al.*, 2010; Morani *et al.*, 2011). S druge strane, listovi predstavljaju i pasivne akumulatore zagađujućih materija, koje se talože na njihovoj površini (Simon *et al.*, 2014). Od širokolisnih vrsta drveća, vrste sa hrapavim listovima su efikasnije u hvatanju čestica od vrsta sa glatkim listovima (Hwang *et al.*, 2011), dok su četinarske vrste, zbog voštanog sloja i specifičnosti rasporeda iglica, efikasnije od širokolisnih vrsta (Sæbø *et al.*, 2012). Listove listopadnog drveća karakteriše vegetacioni period, dok su četinari dodatno pogodni i za praćenje zagađenja vazduha tokom zime. S obzirom na navedena svojstva drveća, listovi zimzelenih i listopadnih vrsta se sve češće koriste u biomonitoringu zagađenja vazduha (Bargagli, 1998; Weiss *et al.*, 2003). Takođe, ispituje se njihova pogodnost za primenu u proceni efekata specifičnih izvora zagađenja, diferenciranju nezagađenih i zagađenih lokacija i praćenju nivoa zagađenja u nekoj oblasti (Turan *et al.* 2011).

Odabir drvenaste biljne vrste za potrebe biomonitoringa generalno zavisi od geografske oblasti i cilja istraživanja (UNECE, 2010; VDI, 2004, 2007). Ipak, poželjno je koristiti samo one vrste kod kojih su detaljno ispitane karakteristike vezane za akumulaciju

zagađujućih materija koja se proučavaju. Aktivni i pasivni putevi unošenja elemenata u biljke se razlikuju u zavisnosti od biljne vrste, što može da dovede do različitih koncentracija ovih elemenata kod različitih biljnih vrsta na istom lokalitetu. Stoga bi za poređenje zagađenja između posmatranih lokaliteta trebalo koristiti jednu biljnu vrstu (Tarricone *et al.*, 2015). Ipak, složenost ekoloških uslova na nekom području se uglavnom ne može pratiti na osnovu samo jedne biljne vrste. U tom slučaju se paralelno vrši uzorkovanje dve ili više vrsta po lokalitetu ili se vrši normalizacija dobijenih rezultata sa prirodnim sadržajem elemenata za biljku ili sa vrednostima dobijenim za korišćene biljne vrste u nezagađenim sredinama (Tarricone *et al.*, 2015).

Neki autori preporučuju da se, u zavisnosti od zagađujuće materije koja se prati, koriste različite biljne vrste (Rucandio *et al.*, 2011). U istraživanjima se često sprovode komparativne analize različitih biljnih vrsta i upoređuje njihova pogodnost kao biomonitora određenog zagađujućeg jedinjenja ili grupe jedinjenja. Određivanje pogodnosti vrste kao biomonitora je složen zadatak i obuhvata brojne aspekte, kao što su nivo koncentracije jedinjenja u biljci, doslednost u vremenskim trendovima nivoa zagađenja istim tokom višegodišnjeg perioda, itd. (Aničić *et al.*, 2011).

Vrsta *Aesculus hippocastanum* L. (divlji kesten) je listopadno drvo iz porodice *Sapindaceae*. Drvo je visoko i do 30 m, sa gustom zaobljenom krunom. Dostiže starost do 200 godina. Listovi su veliki, 13-30 cm dužine, prstasto složeni, od pet do sedam sedećih, elipsasto izduženih i po obodu testerastih listića, na dugim peteljka (7-20 cm) (Slika 3.). Cvetovi su sakupljeni u metličaste, krupne i uspravne cvasti. Plod je kožasta, bodljikava, okrugla, zelena čahura u kojoj su smeštena obično dva krupna semena. Seme je kestenjaste boje, okruglo i sjajno. *A. hippocastanum* je arktotercijarni endemit južnog Balkanskog poluostrva. Uzgaja se u parkovima i ulicama u oblastima sa umerenom klimom. Predstavlja često korišćenu biljnu vrstu u biomonitoring istraživanjima, pogotovo na području Balkanskog poluostrva (npr. Baycu *et al.*, 2006; Šućur *et al.*, 2010; Aničić *et al.*, 2011; Tomašević *et al.*, 2004, 2005, 2008, 2011; Petrova *et al.*, 2014).



Slika 3. Drvo divljeg kestena (*A. hippocastanum*) i oblik i raspored listova

Rod *Tilia* (lipa) pripada porodici *Malvaceae* i obuhvata oko 30 vrsta listopadnog drveća u severnoj umerenoj zoni. Lipe dosežu visinu od 25 do 30 m, a starost do nekoliko stotina godina. Listovi su sa dugom peteljkom, većinom srcasti i po obodu testerasti, veličine 6-20 cm, u zavisnosti od vrste (Slika 4.). Cvetovi lipe su mali, petočlani, zelenkastožute boje, prijatnog mirisa, u štitovima sa zajedničkim priperkom cvasti do pola sraslim sa drškom. Cvetanje u junu traje 2 do 3 nedelje, a nekad se desi da prođe i za 5 do 6 dana. Plod je orašica nastala srastanjem pet karpela. U našim krajevima rastu bela ili srebrna lipa (*Tilia tomentosa* Moench), krupnolisna lipa (*Tilia platyphyllos* Scop.) i sitnolisna lipa (*Tilia cordata* Mill.). U biomonitoringu zagađenja vazduha su često korišćene vrste roda *Tilia* bez navođenja konkretne vrste koja je uzorkovana (npr., *Tilia* spp.) (Tomašević *et al.*, 2004; Šućur *et al.*, 2010; Tomašević & Aničić, 2010; Alagić *et al.*, 2013; Serbula *et al.*, 2013). Takođe, listovi vrste *T. cordata* su korišćeni kao potencijalni bioindikator u nekim ispitivanjima zagađenja vazduha (Tomašević *et al.*, 2011; Chwil *et al.*, 2015).



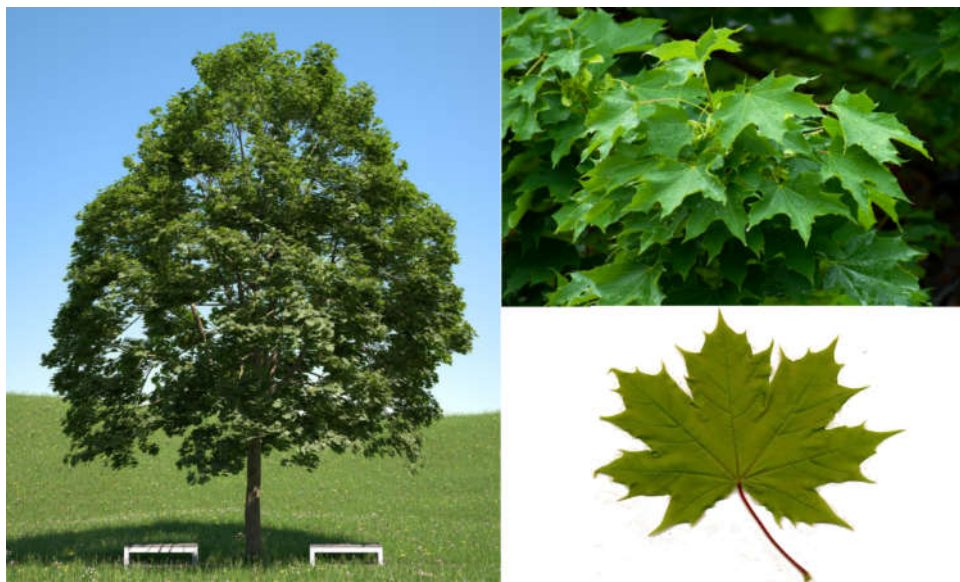
Slika 4. Drvo lipe (*Tilia* spp.) i oblik i raspored listova

Vrsta *Betula pendula* Roth (bela breza) je listopadno drvo iz porodice *Betulaceae*, rasprostranjeno u Evropi i jugozapadnoj Aziji. Može da naraste i do 30 metara, tankog je stabla, sa nepravilnom, ovalnom, retkom krošnjom i sa tankim, savitljivim, crvenosmeđim granama. Obim stabla je 40-60 cm. Kora je prvo bela, a kasnije sve više puca i postaje crna. Listovi su dugi 4-7 mm i široki 2,5-4 mm, široki, zaobljeno trouglasti, pri osnovni široko klinasti, na vrhu zašiljeni, dvostruko testerastog oblika, s peteljka dugim 2-3 cm (Slika 5.). Cvetovi se razvijaju u proleće zajedno sa listovima i žućkastosmeđi su i jednodomni. Muške rese duge su do 10 cm, a vise obično po dve na kraju grančice i formiraju se u jesen. Ženske rese su manje, duge su oko 2 cm, stoje uspravljene, pojedinačno, a pojavljuju se u proleće. Listovi vrste *B. pendula* su često korišćeni u biomonitoringu zagađenja elementima u tragovima u vazduhu i zemljištu; u istraživanjima uticaja kontaminiranog zemljišta na sadržaj elemenata u listovima biljke (Evangelou *et al.*, 2013), sadržaja elemenata u listovima kao posledice zagađenja vazduha u urbanim i industrijskim oblastima (Hrdlicka & Kula, 2004; Marguí *et al.*, 2007; Dmuchowski *et al.*, 2011; Petrova *et al.*, 2014) i uticaja pripreme uzoraka na rezultate analize (Tomašević *et al.*, 2011).



Slika 5. Drvo breze (*B. pendula*) i oblik i raspored listova

Acer platanoides L. (norveški javor) je listopadna vrsta iz familije *Sapindaceae*. Rasprostranjena je na području istočne i središnje Europe, kao i jugozapadne Azije. Nastanjuje duboka, sveža, humusna zemljišta u brdskim područjima. Dostiže visinu od 20 do 35 metara. Krošnja je jajolika i izdužena. Deblo je ravno i okruglo, kora je sivkastosmeđe boje i na površini ima brojne plitke, uzdužne brazde. Listovi su lepezastog oblika, dugi 7-14 cm, široki 8-20 cm, sa pet vrhova. Peteljka listova je duga 8-20 cm (Slika 6.). Cvetovi rastu u uspravnim cvastima koji se zovu gronje, a na jednoj gronji obično ih ima 15-30. Plod je u obliku krilatog pucavca. Najčešće se sadi kao usamljeno stablo ili u drvoredima uz ulice ili u parkovima. Korišćena je u biomonitoringu elemenata u tragovima u vazduhu uglavnom u istočnoj i jugoistočnoj Evropi (Piczak *et al.*, 2003; Tomašević *et al.*, 2011; Petrova *et al.*, 2014).



Slika 6. Drvo norveškog javora (*A. platanooides*) i oblik i raspored listova

2.2.3. Elementi u tragovima u biljkama

Značaj elemenata u tragovima u metabolizmu i razvoju biljaka je predmet brojnih istraživanja dugi niz godina. Esencijalni elementi u tragovima su oni elementi koji imaju posebnu ulogu u biohemijskim procesima i direktan uticaj na biljni organizam, pa ne može doći do zamene tog elementa nekim drugim, jer metabolički ciklusi ne bi mogli da se odvijaju i biljka ne bi mogla da se razvija. Trenutno je poznato da je 17 elemenata u tragovima (Al, B, Br, Cl, Co, Cu, F, Fe, I, Mn, Mo, Ni, Rb, Si, Ti, V i Zn) esencijalno za biljke, dok je za neke dokazano da ih koriste samo određene vrste ili da imaju stimulirajuće efekte na rast biljaka, ali njihove funkcije još uvek nisu u potpunosti razjašnjene (Tabela 1.) (Kabata-Pendias, 2011). Elementi za koje je potrebno još istraživanja da bi se ustanovila njihova neohodnost i uloga u biljkama su uglavnom elementi koji su potrebni u jako niskim koncentracijama ($\mu\text{g kg}^{-1}$ ili ng kg^{-1}) ili elementi koji su esencijalni za samo neke biljne vrste (Kabata-Pendias, 2011). Ipak, iako su mnogi elementi u tragovima potrebni biljkama u njihovoj fiziologiji, mogu da imaju toksične efekte na biljke ako su prisutni u povišenim koncentracijama. Određivanje toksičnih sadržaja i efekata na biljke je veoma kompleksan zadatak jer zavisi od brojnih spoljašnjih i unutrašnjih faktora.

Tabela 1. Neki esencijalni elementi u tragovima u biljkama: oblici u kojim se javljaju i osnovne funkcije pojedinih elemenata (adaptirano iz Kabata-Pendias, 2011)

Element	Jedinjenja u kojima se nalazi	Uloga
Al	-	Kontroliše propustljivost membrane i fizička svojstva citoplazme; moguća aktivacija nekih dehidrogenaza i oksidaza
As	Fosfolipidi (u algama)	Metabolizam ugljenih hidrata u algama i gljivama
Co	Koenzim kobamid	Simbiotska fiksacija N ₂ , moguće fiksacija azota i kod biljaka bez nodula u korenu; transfer elektrona kod sinteze hlorofila i proteina
Cu	Brojne oksidaze, plastocianini	Oksidacija, fotosinteza, metabolizam proteina i ugljenih hidrata; moguća uloga u simbiotskoj fiksaciji azota i transferu elektrona; metabolizam ćelijskog zida
Fe	Hemoproteini, dehidrogenaze i ferodoksin	Fotosinteza; fiksacija N ₂ , transfer elektrona
Mn	Brojni enzimski sistemi	Fotoprodukcija kiseonika u hloroplastima i indirektno NO ₃ ⁻ prilikom redukcije
Mo	Nitratne reduktaze, nitrogenaze, oksidaze i molibdo-ferodoksin	Fiksacija N ₂ , redukcija NO ₃ ⁻ , transfer elektrona
Ni	Enzim ureaza (u semenima roda <i>Canavalia</i>)	Moguća uloga u aktivaciji hidrogenaze i translokaciji N
Sr	-	Uloga slična ulozi Ca u nekim biljkama
V	Porfirini, hemoproteini	Metabolizam lipida; fotosinteza (kod zelenih algi); moguće u fiksaciji N ₂
Zn	Anhidraze, dehidrogenaze, proteinaze i peptidaze	Metabolizam ugljenih hidrata, nukleinskih kiselina i lipida

Bowen (1979) je podelio elemente u tragovima koji se javljaju u biljkama na osnovu njihovih oblika i uloga:

- elementi inkorporirani u strukturne materijale biljke - Si, Fe, i ponekad Ba i Sr.
- elementi koji se kombinuju sa velikim molekulima, uglavnom proteinima, uključujući enzime sa katalitičkim osobinama - Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Se, Ni i Zn.
- elementi vezani za velike molekule, koji imaju ulogu u skladištenju i transportu ili nepoznate funkcije - Cd, Co, Cu, Fe, Hg, I, Mn, Ni, Se i Zn.

- elementi u vezi sa organelama (mitohondrije, hloroplasti, neki enzimski sistemi) ili njihovima delovima - Cu, Fe, Mn, Mo i Zn.
- elementi vezani za male molekule, kao što su porfirini ili antibiotici; neki elementi su esencijalni za samo neke grupe biljaka - As, B, Br, Cu, Co, F, Fe, Hg, I, Se, Si i V.

Za neke elemente, kao što su Al, As, Ni, Sr i V, je poznato da su esencijalni za neke biljne vrste ili grupe vrsta, ali nije sasvim utvrđeno da li su neophodni u metabolizmu svih biljaka. Ako je količina esencijalnih elemenata u tragovima nedovoljna, rast biljke se zaustavlja ili dolazi do abnormalnog rasta, i dolazi do poremećaja daljeg razvoja biljke i metaboličkih procesa. Najčešći simptomi nedostatka mikronutrijenata u osetljivim biljkama su: hloroza i nekroza uglavnom mladih listova ili ivica listova, promena boje, zakržljalogost, deformacija listova i uvenuće (Kabata-Pendias, 2011).

Pored metala esencijalnih za metabolizam, biljke usvajaju i metale koji im nisu potrebni za rast i razvoj (Al, Cd, Pb, Tl) (Ernst, 2003). Biljne vrste koje prirodno rastu na staništima gde se javlja povišena koncentracija metala u zemljištu, u odnosu na prirodne nivoe mikronutrijenata i metala koji se javljaju u tragovima, se nazivaju metalofite.

Nedostatak i toksičnost elemenata u tragovima u biljkama su uglavnom rezultat kompleksnih faktora koji zavise od uslova u životnoj sredini. Uopšteno gledano, biljke su mnogo otpornije na povišene koncentracije nego na nedostatak određenog elementa. Fiziološke reakcije koje se javljaju u biljkama kao odgovor na toksične efekte izazvane previsokim koncentracijama elementa u tragovima su (Foy *et al.*, 1978; Bowen, 1979; Prasad i Strzalka, 1999):

- promene u propustljivosti ćelijske membrane – Ag, Au, Br, Cd, Cu, F, Hg, I, Pb, U,
- reakcije tiol grupa sa katjonima – Ag, Hg, Pb,
- kompeticija za mesta sa esencijalnim metabolitima – As, Sb, Se, Te, W, F,
- afinitet za reakcije sa fosfatnim grupama i aktivnim grupama ADP-a ili ATP-a – Al, Be, Sc, Y, Zr, lantanoidi i verovatno svi ostali elementi u tragovima,
- zamena esencijalnih jona, uglavnom glavnih katjona – Cs, Li, Rb, Se, Sr,
- zauzimanje mesta za esencijalne grupe, kao što su fosfati i nitrati – arsenati, fluorati, borati, bromati, selenati, telurati i volframati,

- oštećenja sistema za fotosintezu predstavljaju najznačajnije posledice viška metala u tragovima.

Smatra se da su Hg, Cu, Ni, Pb, Co, Cd i možda Ag, Be i Sn, i pored velike raznovrsnosti u nivoima toksičnosti, među najtoksičnijim metalima za više biljke (Kabata-Pendias, 2011).

Pre određivanja stepena zagađenja, potrebno je odrediti nivoe prirodnih koncentracija u biljkama, zbog specifičnih unosa i akumulacije u listovima i drugim delovima biljke kod nekih vrsta. Pored razlika koje se javljaju kao posledica specifičnosti vrsta, potrebno je uzeti u obzir i starost biljke, koji je deo biljke u pitanju, itd. Zbog prisustva mikronutrijenata, biljke sadrže određene koncentracije elemenata, što se može pogrešno protumačiti kao zagađenje.

Markert (1992) je predložio „Referentnu biljku” (RB) kao vid hemijskog „otiska prsta”, koja predstavlja normalni sadržaj elemenata u biljkama, sa ciljem pronalaženja adekvatnog načina za poređenje koncentracija elemenata u različitim biljkama. Iako u biljnom carstvu postoji veliki broj različitih tipova, familija i vrsta biljaka, ustanovljeno je da, za potrebe određivanja vrednosti koncentracija elemenata u RB, nije od značaja da li je u pitanju niža ili viša biljka (Markert, 1992). Slično su zaključili i Duvigneaud i Denaeyer-de Smet (1970), koji su ustanovili „referentne vrednosti” za makronutrijente u biljkama. S druge strane, upoređivanje podataka dobijenih za biljne vrste koje rastu u istom ekosistemu, pod istim edafskim i klimatskim uslovima, je pokazalo visok stepen sličnosti među posmatranim biljnim vrstama. Stoga, vrednosti „Referentne biljke” predstavljaju normalan sadržaj elemenata u biljci, koji se može naći u njoj u nezagađenim uslovima sredine (Tabela 2.). U proceni sadržaja metala u RB nisu uključeni podaci o metalofitama, niti podaci o biljkama sa abnormalnim sadržajem elemenata (npr. halofite) (Markert, 1992). Sadržaj elemenata u RB se često koristi u biomonitoring istraživanjima kao mera prirodnog sadržaja elemenata u biljkama (Catinon *et al.*, 2009; Canha *et al.*, 2010; Lehndorff & Schwark, 2010; Olowoyo *et al.*, 2010; Baltrėnaitė *et al.*, 2012; Remon *et al.*, 2013).

Tabela 2. Sadržaj odabranih elemenata u tragovima u „Referentnoj biljci” (mg kg⁻¹ suve mase) (Markert, 1992)

Element	Koncentracija u RB
Mn	200
Fe	150
Al	80
Zn	50
Sr	50
Ba	40
Cu	10
Cr	1,5
Ni	1,5
Pb	1
Mo	0,5
V	0,5
Co	0,2
Sb	0,1
As	0,1
Cd	0,05

2.2.4. Depozicija čestica i usvajanje elemenata

Atmosferska depozicija čestica je važan izvor toksičnih supstanci u terestričnim i akvatičnim sredinama. Takođe, interakcije deponovanih čestica sa različitim prirodnim komponentama mogu da dovedu do toksičnih efekata u biosferi (Nriagu & Pacyna, 1988; Bargagli, 1998). Atmosferska depozicija zavisi od fizičkih osobina čestica, pre svega od njihove veličine i oblika. Izvori emisije, udaljenost od izvora, mesto uzorkovanja, meteorološki uslovi, kao što su preovlađujući pravac vetra, tip, učestalost i količina padavina, i morfološke karakteristike površina na kojima se odvija depozicija, utiču na razmere atmosferske depozicije i odnos vlažne i suve depozicije (Tasić *et al.*, 2001; Avila & Rodrigo, 2004; Motelay-Massei *et al.*, 2005). Sa biogeoheмиjske tačke gledišta, karakterizacija ukupne depozicije je od velike važnosti za određivanje varijabilnosti i izvora atmosferskih zagađujućih materija (Azimi *et al.*, 2005).

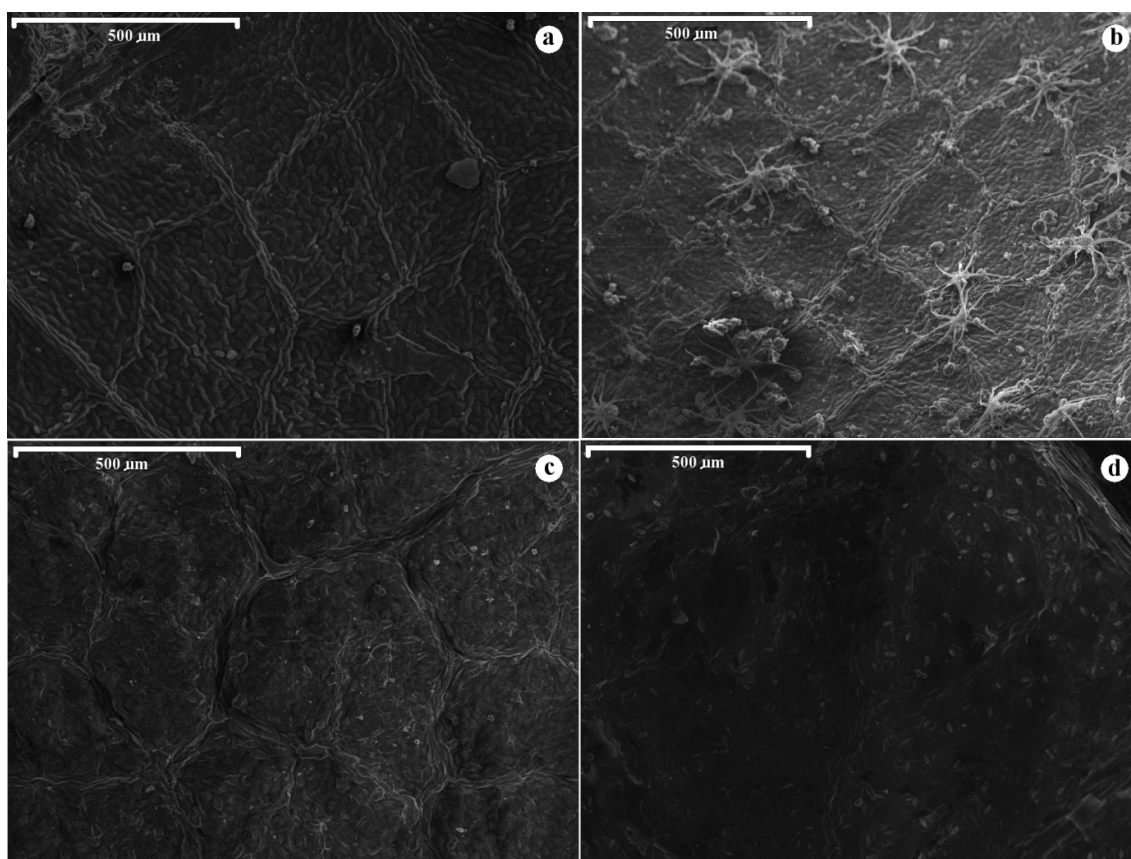
Zagađujuće materije iz vazduha dospevaju do površine biljaka putem precipitacije, kiše, magle ili oblaka u čijim kapljicama se nalaze zagađujuće supstance, kao i putem suve depozicije čestica ili gasova (Weiss *et al.*, 2003). S obzirom na to da i vlažna i suva depozicija mogu da jednako utiču, ili čak da preovlađuju, u ukupnoj depoziciji, potrebno

je uzeti u obzir oba tipa depozicije prilikom procena ukupne atmosferske depozicije. Doprinos različitih vidova depozicije na ukupan fluks zagađenja na površini biljaka zavisi od: tipa emisije; fizičkih i hemijskih osobina zagađujućih materija; atmosferskih, klimatskih i uslova staništa; morfoloških osobina i različite osetljivosti biljaka i delova biljaka na taloženje zagađujućih materija (Weiss *et al.*, 2003).

Taloženje zagađujućih materija na površini listova zavisi od veličine i oblika atmosferskih čestica za koje su vezane zagađujuće materije, meteoroloških uslova, kao što su brzina vetra, padavine i termičke stabilnosti, zatim od orijentacije površine listova i strukture krošnje, dok s druge strane, zadržavanje zagađujućih materija na listovima zavisi od osobina čestica, morfoloških karakteristika površine listova i stope uklanjanja zagađujućih materija sa površine listova (Othman *et al.*, 1997; Harrison & Yin, 2000; De Nicola *et al.*, 2008; Van Leeuwen i Vermiere, 2007; Olowoyo *et al.*, 2010).

Na nivou lista, taloženje čestica se odvija kroz četiri procesa depozicije: sedimentacija uzrokovana gravitacijom, difuzija usled *Brownian*-og kretanja, sudaranjem i hvatanjem čestica usled turbulentnog protoka (Freer-Smith *et al.*, 2005; Sternberg *et al.*, 2010). Putem sedimentacije se uglavnom talože krupne čestice (Freer-Smith *et al.*, 2005), sudaranje i hvatanje utiče na fine i krupne čestice, dok *Brownian*-ovo kretanje dovodi do taloženja ultrafinih čestica (Song *et al.*, 2015).

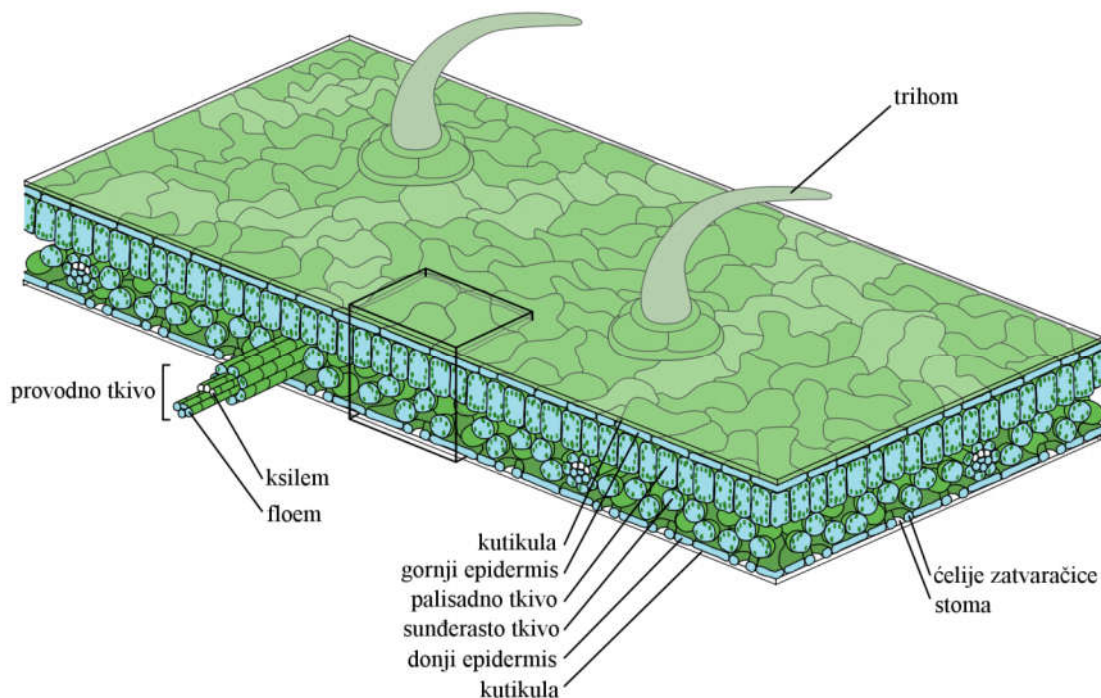
U zavisnosti od vrste drveća, morfološke karakteristike listova su veoma različite, što utiče na količinu čestica nataloženih na površini listova (Slika 7.) (Bargagli, 1998; Weiss *et al.*, 2003; Tomašević *et al.*, 2004, 2005). Hrapavost ivica (Dzierżanowski *et al.*, 2011), dlake (Wang *et al.*, 2006) i debljina voštanog sloja (Sæbø *et al.*, 2012; Popek *et al.*, 2013), mogu da utiču na prijanjanje i zadržavanje čestica na listovima. Pored toga, i karakteristike pojedinačne jedinice utiču na efikasnost depozicije (Mitchell *et al.*, 2010). Kompleksna struktura krošnje drveta je veoma pogodna za adsorbovanje čestica jer dolazi do stvaranja turbulentnog kretanja vazduha unutar krošnje (Popek *et al.*, 2013). Takođe, velika lisna površina, prisutna kod drveća, omogućava veću depoziciju čestica (Sæbø *et al.*, 2015).



Slika 7. Razlike u morfologiji površine listova: lice – a) *A. platanoides*, b) *Tilia* spp.; naličje – c) *A. hippocastanum*, d) *B. pendula*

Više biljke unose elemente putem biokoncentrisanja, odnosno direktno iz okoline; iz zemljišta putem korena ili iz vazduha preko nadzemnih delova, gde se unos odigrava preko stoma ili kroz kutikulu. Vezivanje i rastvorljivost čestica na površini listova je od velike važnosti za unošenje zagađujućih materija preko listova. Kod terestričnih viših biljaka, kutikula pokriva sve nadzemne delove (Slika 8.), osim ako oni nisu zaštićeni jačim zaštitnim slojem, nastalim tokom sekundarnog rasta. Kutikula nastaje od lipofilne membrane, koja se sastoji od bio-polimera kutina i voštanih lipida koji su ugrađeni u matriks kutina i/ili pokrivaju spoljašnju površinu kutikule. Zagađujuće supstance vezane za čestice iz vazduha, kao što su teški metali, se često zadržavaju u kutikularnom sloju na površini listova ili iglica. Uočeno je da se značajne koncentracije brojnih teških metala iz listova nalaze u kutikularnom voštanom sloju na površini iglica (Wyttenbach *et al.*, 1985 Krivan *et al.*, 1987; Mößnang, 1990) i da tretmani pranja uzoraka listova vodom i jaki periodi kiše ne mogu da u potpunosti eliminišu određene elemente vezane za površinski sloj listova, jer su najverovatnije vezani u voštanom sloju (Krivan & Schäfer, 1989;

Djingova & Kuleff, 1994). To pokazuje da određene biljne vrste mogu da ukažu na dugoročniju površinsku akumulaciju određenih elemenata poreklom iz vazduha. S druge strane, koncentracije elemenata, poput Mg, K, Ca, ne zavise u velikoj meri od voštanog sloja, jer se ovi elementi uglavnom ne zadržavaju u njemu, pošto se nalaze u sastavu krupnijih čestica. Ipak, ovakvi zaključci veoma zavise od ispitivane biljne vrste i mogu se razlikovati od vrste do vrste ili od uslova u kojima se vrsta razvija.



Slika 8. Šematski prikaz preseka lista (Richard Wheeler,
https://en.wikipedia.org/wiki/Leaf#/media/File:Leaf_Structure.svg)

Unošenje zagađujućih materija iz vazduha u biljku može biti zamaskirano unošenjem istih zagađujućih materija putem korenovog sistema i njihovom translokacijom do različitih delova biljke. Unošenje elemenata u biljku putem korenovog sistema umnogome zavisi od vrste elemenata, biljne vrste, ali i svojstava zemljišta, kao što su ukupna koncentracija elemenata, koncentracija mobilne i razmenljive frakcije elementa, pH vrednost, sadržaj organske materije, kapacitet katjonske izmene, tekstura zemljišta, sadržaj vode u zemljištu i prisustvo ili odsustvo kompetitivnih jona (Marschner, 1995). Elementi koji služe kao nutrijenti i neki mobilniji teški metali (Cd, Mn, Tl i Zn) se

uglavnom unose iz zemljišta i prenose u nadzemne delove biljke. S druge strane, unos Co, Cr, Hg i Pb preko korena je jako mali (Kloke *et al.*, 1984; Hovmand *et al.*, 2009).

Osim različitih karakteristika zagađujućih materija i svojstava biljaka, drugi faktori koji utiču na koncentracije elemenata u biljkama su: translokacija u druge delove biljke, erozija kutikule i pričvršćenih čestica, metabolizam, itd. Stalna akumulacija, bez prenosa elemenata kroz biljku, je uočena za Ca, Fe, Sr, Ba, Si i skoro sve ne-esencijalne metale, dok u slučaju makronutrijenata, N, P, K, Mg, Na i nekih esencijalnih metala, kao što su Cu i Zn, dolazi do raspoređivanja unutar biljke, u zavisnosti od njenih potreba (Kabata-Pendias, 2011). Redistribucija i translokacija nutrijenata između biljnih delova omogućava prenos elemenata u delove u kojima su potrebni i izbegava se značajan gubitak nutrijenata preko delova biljke koji opadaju i završavaju na zemlji (Marschner, 1995) gde se njihovim raspadanjem omogućavaju dalji biogeohemijski procesi.

2.3. Olovo i izotopi olova u životnoj sredini

Glavni izvor olova je do sredine 80. godina XX veka bilo sagorevanje uglja koji sadrži olovo, dok su danas neki od najvećih izvora antropogenog olova rudarenje, topljenje ruda, industrija, sagorevanje otpada, sagorevanje uglja i olovni benzin. Tokom 1960. i 1970-tih, alkil-olovni aditivi u benzinu su postali glavni izvor atmosferskog zagađenja olovom širom sveta. Tako je tetraetil-olovo, kao dodatak protiv preranog paljenja u benzinu, postalo potencijalno najveći globalno rasprostranjeni mehanizam za ispuštanje antropogenog olova u životnu sredinu (Hopper *et al.*, 1991; Nriagu, 1990).

Pretpostavlja se da je više od 95 % olova u životnoj sredini danas, antropogenog porekla (Marcantonio *et al.*, 2002). Glavni izvori olova u životnoj sredini su: izduvni gasovi automobila, ispusti iz industrije baterija, urbane deponije, topljenje ruda, đubriva i pesticidi, aditivi u bojama, obrađivanje metala i emisija gasova iz fabrika. Procene emisija iz pojedinačnih izvora olova ukazuju da je atmosfera glavni primalac zagađenja i da antropogeni izvori emituju barem jedan do dva puta više zagađenja od prirodnih izvora (Komárek *et al.*, 2008). Olovo je u atmosferi uglavnom prisutno u obliku sitnih, sub-mikronskih čestica i zbog toga može da se prenese na velike razdaljine.

Otpriblike 50-60 % olova koje je dodavano u benzin se nalazi u atmosferi (Facchetti, 1989), dok se većina ostalog olova nalazi na zidovima izduvnog sistema odakle se

izbacuje, u vidu čestica koje se lako talože, usled mehaničkih i termalnih udara. Frakcija koja se direktno emituje putem izduvnih gasova motora je u obliku finih čestica, koje se mogu preneti na velika rastojanja od izvora emisije. Uprkos smanjenju alkil-olovnih emisija iz benzina, istorijski izvor olova poreklom od nataloženog olova iz prethodnih emisija i dalje predstavlja pretnju po ljudsko zdravlje, u vidu resuspenzije i ponovne mobilizacije olova iz zagađenog zemljišta i prašine iz okoline kolovoza (Duzgoren-Aydin & Weiss, 2008).

Pokazano je da je olovo najrasprostranjeniji toksični metal na svetu, koji dugo ostaje u životnoj sredini, sa sklonošću da se akumulira u živim organizmima (Komárek *et al.*, 2008; Sucharová *et al.*, 2011). Unosi se u organizam udisanjem čestica koje sadrže olovo i unošenjem hrane i vode koje su zagađene olovom (Wang & Zhang 2006). Čak i male količine olova mogu biti štetne, posebno po nervni i krvni sistem, i može da oslabi razvoj i mentalne funkcije (Wang & Zhang, 2006).

Nakon saznanja o veoma negativnom uticaju olova u životnoj sredini, emisija ovog elementa iz različitih izvora je značajno smanjena tokom poslednjih 40 godina. Uprkos ograničenjima upotrebe olovnog benzina, aerosol u udaljenim oblastima kanadskog Arktika je i dalje veoma zagađen antropogenim olovom, što ukazuje na povećano zagađenje olovom iz drugih izvora, osim aditiva benzinu (Shotyk *et al.*, 2005). I pored regulatornih mera za ograničenje emisije olova u brojnim zemljama, zagađenje olovom je i dalje jedna od najozbiljnijih globalnih opasnosti po ljudsko zdravlje i životnu sredinu (Sharma i Dubey, 2005). Čak je i poljoprivredno zemljište zagađeno jer je olovo, osim atmosferske depozicije, korišćeno kao hemikalija u poljoprivredi, na primer kao olovo-arsenat, koji je upotrebljavan kao pesticid.

Postoje četiri prirodna, stabilna izotopa olova, ^{204}Pb , ^{206}Pb , ^{207}Pb i ^{208}Pb , koji se mogu određivati. Izotopi ^{206}Pb , ^{207}Pb i ^{208}Pb su radiogeni, dok je ^{204}Pb prvobitni izotop. Izotop ^{208}Pb potiče od raspadanja ^{232}Th , dok ^{206}Pb i ^{207}Pb nastaju raspadanjem ^{238}U i ^{235}U redom (Jedn. 1, 2 i 3). Varijacije u odnosima U/Th ruda izvora olova, kao i vreme njihovog formiranja, utiče na odnos izotopa ^{208}Pb sa drugim izotopima olova (Bollhöfer & Rosman, 2000; Chillrud *et al.*, 2003). Usled raspadanja roditeljskih izotopa, količina stabilnih izotopa se povećava u odnosu na njihov iskonski nivo (Jedn. 4, 5 i 6). I pored dugog polu-života izotopa U i Th, visoki odnosi U/Pb i Th/Pb u zemljinoj kori su

rezultirali u povećanju od oko 30 % u odnosu izotopa $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ tokom Zemljine geološke istorije (Stacey & Kramers, 1975). Uočene povećane količine izotopa ^{206}Pb , ^{207}Pb i ^{208}Pb tokom geološke istorije Zemlje su posledica raspadanja, ^{238}U , ^{235}U i ^{232}Th .



$$^{206}\text{Pb}_{\text{danas}} = ^{206}\text{Pb}_0 + (^{238}\text{U} \rightarrow ^{206}\text{Pb}) \quad (4)$$

$$^{207}\text{Pb}_{\text{danas}} = ^{207}\text{Pb}_0 + (^{235}\text{U} \rightarrow ^{207}\text{Pb}) \quad (5)$$

$$^{208}\text{Pb}_{\text{danas}} = ^{208}\text{Pb}_0 + (^{232}\text{Th} \rightarrow ^{208}\text{Pb}) \quad (6)$$

Od razvoja masenih spektrometara sa termalnom jonizacijom (eng. *thermal ionization mass spectrometers* – TIMS) visoke rezolucije kasnih 30-ih (Nier, 1938), istraživanja izotopa olova su postala česta u brojnim oblastima geologije (procesi u omotaču zemljine kore, geohronologija, geochemija, rudarenje i mnogi drugi) (Kunert *et al.*, 1999). Ipak, zahtevne pripreme uzoraka, monotni protokoli za rukovanje uzorcima, dugo trajanje analiza (2-24 h) i nefleksibilne analitičke procedure su učinile da je korišćenje TIMS tehnike neizvodljivo u neki istraživanjima životne sredine, kada je potreban veliki broj uzoraka (Gwiazda *et al.*, 1998; Marguí *et al.*, 2006). Ustanovljeno je da je indukovano spregnuta plazma sa masenom spektrometrijom (eng. *inductively coupled plasma mass spectrometry* – ICP-MS) dovoljno precizna i tačna tehnika i da se može koristiti u istraživanjima prisustva Pb u uzorcima iz životne sredine. Pouzdana merenja izotopa ^{204}Pb zahtevaju više pažnje i specijalizovane instrumente, ali zahtevaju i više vremena, dok se odnosi izotopa ^{206}Pb , ^{207}Pb i ^{208}Pb mogu jednostavno odrediti (Reimann *et al.*, 2012b).

Analize izotopa olova predstavljaju vrlo efikasan način za pronalaženje i praćenje izvora lokalnog i globalnog zagađenja olovom (Komárek *et al.*, 2008). Dve uobičajene karakteristike analiza antropogenih izotopa olova su niske koncentracije u okviru kompleksnih prirodnih matrica i veliki izotopski opseg (Reuer *et al.*, 2003). Takođe,

količine izotopa olova ne zavise od fizičkih, hemijskih i bioloških procesa. U identifikaciji izvora, odnosi koncentracija izotopa ^{208}Pb , ^{207}Pb i ^{206}Pb detektovanih u uzorku se upoređuju sa odnosima izotopa iz potencijalnih izvora, jer odnosi izotopa olova zadržavaju izotopski sastav rude iz koje potiču pre ispuštanja u životnu sredinu (Ault *et al.*, 1970).

Izotopski sastav olova u tetraetil- i tetrametil-olovnim aditivima direktno zavisi od geološkog izvora olovnih ruda korišćenih u njihovoj proizvodnji (Erel *et al.* 1997). Stoga, proizvodi koji potiču od određenih ruda olova imaju karakteristične odnose izotopa olova (Faure, 1997). Posledično, oksidi i halidi olova, i organska jedinjenja olova koja se emituju tokom sagorevanja olovnog benzina, odražavaju sastav ruda olova korišćenih u njihovoj proizvodnji (Chow *et al.*, 1975). Na taj način, odnosi pronađeni u životnoj sredini mogu da odražavaju poreklo sirovina korišćenih u benzinu, mada to nekad može biti komplikovano zbog čestih promena u poreklu tih sirovina (Monna *et al.*, 1997; Bollhöfer & Rosman, 2001).

Odnosi stabilnih izotopa olova u prirodnim nalazištima olova variraju u zavisnosti od radiogenih karakteristika lokacije na kojoj se nalaze (Chow *et al.*, 1975). Pošto nalazišta olova imaju karakteristične sastave izotopa olova, kombinacija koncentracije olova i odnosa izotopa olova se može u nekim slučajevima koristiti kao „otisak prsta” za određivanje izvora olova (Komárek *et al.*, 2008; Cheng i Hu, 2010; Reimann *et al.*, 2012b). Merenja izotopa su, u poređenju sa merenjem i poznavanjem samo koncentracija, osetljivija i bolja za identifikovanje i praćenje izvora zagađenja (Cheng & Hu, 2010). U mnogim istraživanjima je pokazano da ispitivanja izotopa olova mogu da pruže odgovarajući pristup za istraživanje i praćenje izvora zagađenja olovom u različitim medijumima životne sredine (Monna *et al.*, 1997; Simonetti *et al.*, 2000; Doucet & Carignan, 2001; Erel *et al.*, 2001). Stoga se varijacije u odnosima stabilnih izotopa olova koriste kao pogodna tehnika za karakterisanje izvora zagađenja olovom i mobilnost i rasprostiranje olova u životnoj sredini.

Smatra se da se uz pomoć izotopskih sastava olova može pratiti uklanjanje olovnog benzina iz upotrebe. S druge strane, zbog prestanka upotrebe olovnog benzina, povećavani su relativni doprinosi brojnih industrijskih izvora olova (prerada i topljenje ruda, sagorevanje fosilnih goriva u industriji i domaćinstvima, spaljivanje otpada, itd.).

Takođe, mešanje olova iz više primarnih ruda tokom industrijskih procesa i recikliranje dovodi do još veće raznovrsnosti izotopskih „potpisa” koji se pojavljuju u životnoj sredini. Osim toga, izotopski sastav olova se brzo menja u zavisnosti od izvora olova, udaljenosti od industrijskih zona, gustine saobraćaja, preovlađujućeg pravca vetra, intenziteta padavina, itd. (Monna *et al.*, 1997; Simonetti *et al.*, 2000).

Stabilni izotopi olova se često koriste u ispitivanjima životne sredine za određivanje izvora zagađenja olovom (Komárek *et al.*, 2008). Ipak, sastav izotopa olova često sam po sebi nije dovoljan za određivanje porekla olova u slučaju delimičnog preklapanja odnosa izotopa iz različitih izvora emisije, s obzirom da neki od njih mogu imati slične izotopske „potpise”, jer njihova jedinstvenost zavisi od rude olova iz koje potiču (Farmer *et al.*, 2000). Naime, neki autori (Lahd Geagea *et al.*, 2008) su ukazali da, usled prestanka korišćenja olova kao aditiva u benzinu i smanjenja emisije iz industrijskih procesa, prirodni sastav izotopa olova u vazduhu postaje homogeniji. Stoga, odnosi i opsezi izotopa olova ne mogu uvek da daju jasnu sliku o zagađenju olovom i njegovim izvorima, pa je potrebna metoda za bolje uočavanje razlika u određivanju izotopskog sastava olova. Neki autori preporučuju, pored merenja izotopa Pb i merenje koncentracija više elemenata (na primer Zn, Cd, Cu, As, Mn, Al itd.) ili odnosa drugih izotopa ($^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$) u aerosolima, za precizno određivanje porekla olova (Doucet & Carignan, 2001).

2.3.1. Biomonitoring olova i izotopa olova

S obzirom da je u istraživanjima kontaminacije često teško identifikovati i interpretirati izotopske podatke o aerosolima, biomonitoring u ispitivanjima izotopa može biti pogodan alat za određivanje izvora olova. Višegodišnja istraživanja izotopskog sastava olova mogu biti korisna u određivanju doprinosa dominantnih izvora, a takođe i u proceni pogodnosti različitih biljnih vrsta korišćenih u biomonitoringu. Različite vrste biljaka se koriste u biomonitoringu izotopa olova da bi se ustanovila najpogodnija vrsta za procenu zagađenja i određivanje izvora olova. Pored mahovina i lišajeva, u biomonitoringu se koriste i drvenaste biljne vrste, pri čemu se uglavnom analizira kora, provodno tkivo (godovi) i listovi/iglice.

Istraživanja unošenja olova u biljke su pokazala da korenov sistem ima sposobnost unošenja značajnih količina olova, ali sa ograničenjem njegove translokacije u nadzemne

delove (Lane & Martin, 1977). U istraživanju unošenja olova (^{210}Pb) u iglice i grančice smrče putem korena i njegovog transfera u zemljište u šumskim ekosistemima putem taloženja i raspadanja stelje (Hovmand *et al.*, 2009), ustanovljeno je da olovo usvojeno na taj način predstavlja jako mali deo ukupnog unosa olova u šumski ekosistem, i da većina Pb u iglicama potiče od atmosferske depozicije. Takođe, većina olova prisutnog u humusnom sloju zemljišta vodi poreklo iz zagađenja vazduha i antropogenog doprinosa zemljištu (Steinnes *et al.*, 2005). Istraživanja odnosa izotopa olova $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ u uzorcima zemljišta, vode iz potoka i iglicama, provodnom tkivu i korenu *Picea abies* (Klaminder *et al.*, 2008) ukazala su da je kruženje olova u tajgama pod uticajem atmosferskog olova. Niži odnos izotopa olova u iglicama ($^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ 1,14-1,18) u poređenju sa korenovim sistemom i provodnim tkivom u stablu ($^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ 1,15-1,30) ukazuje da je značajan deo olova, inkorporiranog u biomasi drveta, poreklom iz atmosfere ($^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ 1,14-1,19). Slična saznanja su dobijena i u istraživanju Mihaljevič *et al.* (2011); zemljište u oblastima udaljenim od potencijalnih zagađenja je imalo visoke odnose izotopa $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ ($>1,3$) u celom zemljišnom profilu, dok su najmlađi delovi godova drveća koje raste u ovom zemljištu imali niske odnose izotopa $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ ($<1,17$), slične odnosima izotopa u vazduhu. Na osnovu ovih saznanja se može pretpostaviti da je olovo u najmlađim delovima poreklom od olova iz suspendovanih čestica sa površine kore drveta.

Farmer *et al.* (2002) su istraživali izotopske sastave olova u mahovinama iz Škotske sakupljenim tokom 170 godina. Analizom je ustanovljeno da su trendovi u izotopskom sastavu olova slični trendovima uočenim kod sedimenata u jezerima i tresetištima u Škotskoj, potvrđujući da su mahovine dobri pokazatelji zagađenja vazduha olovom i njegove depozicije. Efikasnost mera primenjenih za smanjenje emisija olova u atmosferu tokom poslednjih 20 godina u Velikoj Britaniji, posebno iz vozila koja koriste benzin sa alkil-olovnim aditivima, se uočava u povećanju odnosa izotopa $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ i opadanju koncentracije olova u mahovinama iz Škotske.

Patrick i Farmer (2006) su određivali odnos izotopa $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ u godovima vrste *Acer pseudoplatanus*, starosti od 1892. do 2003. godine, sa ciljem rekonstrukcije istorije atmosferskog zagađenja olovom. Dobijeni rezultati su ukazali da u oblastima bez lokalnih izvora zagađenja, tačni podaci o promenama u koncentracijama atmosferskog olova i njegovom izotopskom sastavu nisu sačuvani u godišnjim godovima drveća. Stoga

analiza godova nije pogodna metoda za dobijanje istorijskih podataka o depoziciji olova u oblastima bez velikih lokalnih izvora olova, iako može da pruži neke informacije o vremenskom i prostornom uticaju tačkastih izvora emisije. Komárek *et al.* (2008) su istakli da bi džepovi u kori drveta mogli biti pogodniji za dendrohemijsku analizu olova, u poređenju sa godovima, kada se proučava evolucija atmosferskog zagađenja. Odnosi izotopa olova u džepovima u kori drveta su korišćeni kao indikator istorijskog zagađenja vazduha olovom u Češkoj (Conkova & Kubiznakova 2008).

U istraživanju Patrick i Farmer (2007), vrednosti izotopa $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ u kori drveta *Pinus sylvestris*, uzorkovanim na ne-urbanim lokacijama u Škotskoj u periodu 2002.-2003. godina, su mahom bile u opsegu 1,10-1,14, odnosno bile su slične vrednostima iz atmosfere (izmerenim u kišnici, česticama iz vazduha, mahovinama, itd.). Ovo postavlja pitanje pogodnosti kore drveta u monitoringu trenutnog ili skorašnjeg izlaganja (<2 godine) zagađenju olovom. Zbog svoje mogućnosti usvajanja tokom većeg broja godina, kora drveta predstavlja manje pogodan medijum od mahovina za merenje vremenskih trendova u izotopskom sastavu atmosferskog olova.

Lišajevi i mahovine se često koriste kao biomonitori za određivanje atmosferske depozicije teških metala i radionuklida (LeGalley *et al.*, 2013; Monna *et al.*, 2012; Saunier *et al.*, 2013; Sert *et al.* 2011; Sucharová *et al.*, 2014). U istraživanjima je ustanovljeno da su lišajevi korisni u procenjivanju zagađenja olovom u urbanim sredinama (LeGalley *et al.*, 2013) i određivanju izvora zagađenja olovom (Saunier *et al.*, 2013). Flegal *et al.* (2010) su pokazali da istorijske kolekcije epifitskih lišajeva i savremeni uzorci mogu da se koriste za poređenje vremenskih varijacija atmosferskih koncentracija i izotopskog sastava olova. Oni su ustanovili da izotopski sastav savremenih uzoraka još uvek odgovara sastavu olova u nekadašnjim emisijama olovnog benzina što sugerise da je olovo iz prethodnih emisija i dalje prisutno u životnoj sredini. Mahovine su se u nedavnim istraživanjima u Češkoj pokazale kao vrlo pogodne za mapiranje lokaliteta na osnovu izotopskih odnosa i koncentracije Pb, kao i za praćenje trendova Pb zagađenja nakon zabrane upotrebe olovnog benzina (Sucharová *et al.*, 2014).

Za određivanje približnih doprinosa olova iz vazduha u organima biljke može se primenjivati binarni model izotopa olova. Kombinacija praćenja izotopa olova i binarnog modela izotopa olova za određivanje olova poreklom iz vazduha može biti korisna za

određivanje rizika od izlaganja zagađenju olovom iz vazduha (Hu *et al.*, 2011). Ako zagađenje olovom potiče iz dva izvora, prilikom korišćenja binarnog modela očekuje se dobijanje linearnog odnosa između vrednosti odnosa izotopa olova u svim uzorcima. U tom slučaju uzorci koji odgovaraju vrednostima jednog izvora su na jednoj strani, a uzorci koji odgovaraju drugom izvoru su na drugoj strani linearnog odnosa, dok su uzorci kod kojih dolazi do mešanja izvora zagađenja između pomenuta dva.

Ispitivanje odnosa između koncentracije Pb i odnosa stabilnih izotopa ($^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ i $^{208}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$) u listovima listopadnog drveća *Aesculus hippocastanum* i *Tilia* spp. tokom višegodišnjeg perioda (2002.-2006. godine) je pokazalo da određivanje sastava izotopa olova u biljkama tokom dužeg vremena može biti korisno u proceni doprinosa dominantnih izvora i pogodnosti određenih biljnih vrsta za potrebe biomonitoringa (Tomašević *et al.*, 2013).

Sucharová *et al.* (2011) su određivali koncentracije olova i odnos izotopa olova u uzorcima zemljišta iz B-horizonta (zemljišnji podsloj), humusa iz šume (površinski sloj - O-horizont), trave (*Avenella flexuosa*) i iglica smrče (*Picea abies*) starih 2 godine, sakupljenih na istim lokacijama, ravnomerno raspoređenih na teritoriji cele Češke (prosečna gustina – 1 lokalitet na 300 km²). Rezultati istraživanja su ukazali da su humus i B-horizont odvojeni; humusni sloj je deo biosfere, dok B-horizont, s druge strane, ima geohemijski potpis litosfere. Lokalne varijacije u koncentracijama i odnosima izotopa olova su veće u B-horizontu nego u O-horizontu. Nijedna od načinjenih mapa ne pruža dokaze o važnosti emisija iz saobraćaja za posmatrane odnose izotopa na teritoriji Češke. Rezultati istraživanja su pokazali važnost mapiranja distribucije koncentracija elemenata i izotopskih odnosa na različim nivoima razmere, sa ciljem razumevanja uticaja zagađenja i određivanja najvažnijih izvora zagađenja. Na primer, na regionalnom nivou ovog istraživanja, urbane sredine, saobraćaj, pa čak i topionice olova, nemaju značajan uticaj. To je potvrđeno i kasnijim istraživanjem korišćenjem mahovina (Sucharová *et al.*, 2014) kojim je ustanovljeno da nakon više od 10 godina od kada je upotreba olovnog benzina zabranjena u Češkoj (i skoro 20 godina u ostatku Evrope), u velikim gradovima i okolini autoputeva nema anomalija u koncentraciji i odnosima izotopa olova, što ukazuje na uspeh sprovedenih mera za sprečavanje zagađenja vazduha.

U zemljištu, povrću i kišnici, uzorkovanim na tri plantaže povrća u Guizang oblasti, jugo-zapadna Kina, analizirani su koncentracija i sastav Pb da bi se odredili izvori olova (Li *et al.*, 2012) i ustanovljeno je da su vrednosti odnosa izotopa u uzorcima povrća, uključujući korenje, stabljike, listove i plodove, imale širi opseg od vrednosti odnosa izotopa u uzorcima zemljišta, i bile su između vrednosti izmerenih za zemljište i kišnicu. Ovo ukazuje da je Pb u povrću poreklom iz atmosferskih/antropogenih i prirodnih/geogenih izvora.

Rezultati brojnih istraživanja (Dollard, 1986; Harrison & Chirgawi, 1989; Klaminder *et al.*, 2005) ukazuju da listovi biljaka mogu da usvoje značajnu količinu Pb direktno iz atmosfere. Podaci o izotopima olova su ukazali da je usvajanje atmosferskog Pb putem listova bila dominantna putanja unošenja Pb u listove i zrna kukuruza, dok je Pb u stabljikama i korenju uglavnom bilo uneseno putem korena (Bi *et al.*, 2009).

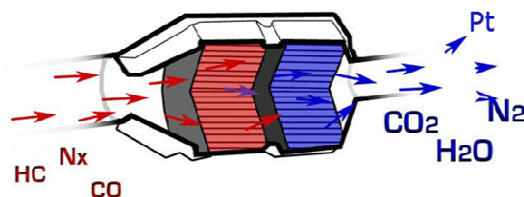
Kombinovano ispitivanje vegetacije i zemljišta je sprovedeno u oblasti Severnih Penina, koja predstavlja oblast sa tradicijom rudarenja i topljenja ruda Pb i Zn, sa ciljem procene razmere zagađenja olovom zemljišta, trave i vresa, i boljeg razumevanja potencijalne bioakumulacije kod ptica i stoke (Chenery *et al.*, 2012). Izotopska analiza je pokazala da postoji skoro kompletno mešanje olova između labilnog i ne-labilnog Pb, kao i generalno velika labilnost olova. To znači da trave mogu da unose olovo nataloženo tokom ranijih emisija iz saobraćaja, koje formira tzv. rezervoare olova u zemljištu, usled čega dolazi do povećanja sadržaja ovog elementa u vegetaciji. Ovi rezultati pokazuju da, iako je olovni benzin izbačen iz upotrebe 2000. godine, olovo iz benzina se i dalje nalazi u zemljištu i veoma je postojano u životnoj sredini.

2.4. Platina u životnoj sredini

Platina (Pt) pripada platinskoj grupi elemenata (PGE) i spada u plemenite metale. Poslednjih godina vlada veliko interesovanje za platinu u analitičkim istraživanjima jer se sve više javlja u životnoj sredini kao posledica njenog korišćenja u automobilskim katalizatorima (Hann *et al.*, 2005). U prirodi je prisutna u niskim koncentracijama u stenama, zemljištu, prašini, vodi, bentosnim sedimentima i sl., i uglavnom se nalazi ispod nivoa detekcije današnjih analitičkih tehnika.

Od 2000. godine, oko 85 % automobila prodatih u svetu je imalo ugrađen katalizator za prečišćavanje izduvnih gasova, da bi se postigli standardi emisije zagađujućih gasova (Conti *et al.*, 2008). Propisi koji kontrolišu emisiju zagađujućih supstanci iz automobila su sve stroži i još će se više pooštřavati narednih godina. Vozila su opremljena katalizatorima koji sadrže aktivne komponente u vidu plemenitih metala iz platinske grupe elemenata. Platina, a poslednjih godina i paladijum (Pd) i rodijum (Rh), igraju odlučujuću ulogu u radu automobilskih katalizatora.

Katalizator je jedinica koja se postavlja na prednji deo izduvnog sistema vozila, blizu motora. Kombinacija toplote i katalizatora u obliku plemenitih metala dovodi do odvijanja redukcije i oksidacije, usled čega dolazi do smanjivanja sadržaja zagađujućih materija u izduvnim gasovima. Savremeni katalizatori prevode preko 90 % ugljen-monoksida, ugljovodonika i azotovih oksida u ugljen-dioksid, vodu i azot. NO_x i CO se eliminišu redukcijom sa Rh katalizatorom. NO_x oksiduje CO do CO₂, a potom se redukuje do azota, dok vazduh oksiduje CO i ugljovodonike, uz prisustvo Pt kao katalizatora (Slika 9.).



Slika 9. Šematski prikaz rada katalizatora (adaptirano sa:

http://chemwiki.ucdavis.edu/Physical_Chemistry/Kinetics/Case_Studies%3AKinetics/Catalytic_Converters)

Tokom ispuštanja izduvnih gasova iz motora, na površini prevlake dolazi do brzog menjanja oksidacionih i redukcionih uslova, povećanja temperature i mehaničke abrazije, što dovodi do emisije čestica koje sadrže platinsku grupu elemenata u životnu sredinu (Barefoot, 1997; Artelt *et al.*, 1999). Količina i stepen emisije PGE zavisi od brzine automobila, tipa motora, tipa i starosti katalizatora i tipa aditiva u gorivu (Artelt *et al.*, 1999, Ely *et al.*, 2001).

Emisija iz katalizatora dovodi do akumulacije platine u različitim medijumima životne sredine tokom vremena (Gomez *et al.*, 2002; Dongarra *et al.*, 2003; Lesniewska *et al.*, 2004; Pan *et al.*, 2009). Analize snega sa Pirineja i prisustvo ovog elementa na tim mestima, uprkos visokoj nadmorskoj visini i udaljenosti od stambenih i industrijskih oblasti, ukazuje na dalekosežnost zagađenja poreklom iz katalizatora (Moldovan *et al.*, 2007). Kontaminacija se, pre svega, pojavljuje u česticama u vazduhu, prašini pored puta, zemljištu, mulju, vodi, itd., što na kraju dovodi do bioakumulacije ovih elemenata u živim organizmima (Ravindra *et al.*, 2004).

Analizom čestica iz vazduha ustanovljena je distribucija Pt u tim česticama. Pt je pronađena u širokom spektru čestica dijametara od $<0,39$ do $65,3 \mu\text{m}$. Najviše koncentracije su uglavnom uočene u najmanjoj frakciji ($<0,39 \mu\text{m}$), što ukazuje na nehomogenu distribuciju Pt u „finim“ česticama u vazduhu (Gomez *et al.*, 2002).

Tokom devedesetih godina 20. veka, koncentracije platine u veoma kontaminiranim travama koje rastu blizu autoputeva su se povećale 3,5 puta, a za to vreme se procenat vozila koji imaju autokatalizatore povećao sa 30 % na 75 % (Helmerts & Mergel, 1998; Schafer *et al.*, 1999; Cinti *et al.*, 2002). Deponovane čestice mogu biti isprane kišnicom u reke, podzemne i morske vode i ostale vodene ekosisteme, gde se akumuliraju u sedimentima.

Platina uneta u organizam se transportuje sa proteinima do jetre i bubrega, gde se akumulira, pre nego što se izvrši ekskrecija. Urinarna ekskrecija platine i paladijuma je uočena kod zubnih tehničara, kao i građevinskih radnika na putevima, pri čemu je bila znatno veća kod zubnih tehničara, što ukazuje na profesionalnu izloženost zubnim materijalima, koja predstavlja veći izvor od katalizatora u vozilima. Mnoga analitička merenja su fokusirana na nivoe platine u telesnim tečnostima i tkivima zbog upotrebe lekova protiv kancera koji sadrže platinu. Alergija na platinu je dobro poznata, a stanje pod nazivom platinoza predstavlja efekte rastvorljivih soli platine na profesionalno izložene osobe (Linnett & Hughes, 1999). Za metalne oblike Pt se smatra da su generalno biološki inertni i ne predstavljaju alergene, a pošto je Pt emitovana iz katalizatora u metalnim i oksidovanim oblicima, njen potencijal senzitivizacije je verovatno mali. Ipak, Pt može da se rastvori i na taj način unese u vodene medijume, sedimente, zemljište i lanac ishrane. Određena jedinjenja sa Pt su i citotoksična i imaju

mutagena i karcinogena svojstva, kao i određene negativne efekte na mikroorganizme u veoma niskim koncentracijama (WHO, 1991).

Platina je, usled sve veće upotrebe u automobilskim katalizatorima, prisutna u životnoj sredini u koncentracijama višim od svoje prirodne vrednosti, a očekuje se i porast koncentracije ovog elementa u budućnosti. Koncentracije Pt iz urbanih područja sa intenzivnim saobraćajem i razvijenom industrijom su više od koncentracija u ruralnim područjima, udaljenim od izvora emisije zagađujućih materija (Dongarra *et al.*, 2003; Niemela *et al.*, 2007). Ustanovljena je i pozitivna korelacija između koncentracije Pt i blizine većih saobraćajnica mestu uzorkovanja (Zechmeister *et al.*, 2006; Hooda *et al.*, 2007; Niemela *et al.*, 2007). Viša koncentracija platine je zabeležena na lokalitetima koji su blizu raskrsnica puteva (gde se vožnja usporava, a potom nakon prolaska raskrsnice ponovo ubrzava) i generalno na mestima gde je saobraćaj spor i odlikuje se čestim zaustavljanjem i ponovnim kretanjem (Djingova *et al.*, 2003; Hooda *et al.*, 2007; Lee *et al.*, 2012).

Koncentracija Pt u biljnom materijalu zavisi od brojnih faktora: udaljenosti mesta uzorkovanja od potencijalnog izvora emisije, meteoroloških uslova, biljnih vrsta koje se koriste za biomonitoring, topografije terena, uslova saobraćaja (brzina i dinamika vožnje), itd. (Niemela *et al.*, 2004; Pino *et al.*, 2010). Najzastupljenije biljne vrste koje se koriste u biomonitoring istraživanjima PGE su mahovine (Djingova *et al.*, 2003; Zechmeister *et al.*, 2006; Niemela *et al.*, 2004, 2007). Najčešće se kao instrumentalna tehnika za analizu Pt u uzorcima primenjuje indukovano spregnuta plazma sa masenom spektrometrijom (ICP-MS), zbog svoje velike osetljivosti i niskih granica detekcije za PGE. S obzirom na značajan uticaj kompleksne biljne matrice i interferenci, često je potrebno na odgovarajući način optimizovati metodologiju za određivanje platine u uzorcima.

2.5. Sakupljanje i priprema uzoraka za hemijsku analizu

Listovi drveća se često koriste u biomonitoringu kao pouzdan indikator zagađenja životne sredine, uglavnom iz vazduha, za praćenje širokog spektra zagađujućih materija, kao što su teški metali i elementi u tragovima. Biomonitoring korišćenjem listova drveća predstavlja povoljnu tehniku za detektovanje i procenu zagađenja životne sredine, pogotovo u područjima udaljenim od izvora zagađenja. Neke od najvećih izazova u biomonitoringu predstavljaju mogućnost reprodukovanja i upoređivanja dobijenih rezultata. Standardizovanje sakupljanja i čuvanja uzoraka listova bi moglo da omogući prevazilaženje ovakvih problema i poboljša kvalitet rezultata. Postojanje standarda za uzorkovanje ima brojne koristi: a) omogućava se upoređivanje rezultata, b) omogućava jednostavno tumačenje podataka, c) mogu se ustanoviti granične vrednosti zagađujućih materija (Tarricone *et al.*, 2015). Omogućavanje pouzdanosti podataka u vezi sa stanjem životne sredine kroz standardizaciju, bi moglo da dovede do boljeg prihvatanja rezultata iz biomonitoring istraživanja u administracijama, kod kreatora zakonodavnih propisa i pravilnika. Na taj način, rezultati biomonitoringa bi mogli da pomognu u nalaženju efektivnih mera protiv zagađenja životne sredine. Osim toga, primena standarda omogućava uvođenje referentnih sistema, kao što su banke uzoraka iz životne sredine. Standardi su presudan preduslov za usvajanje sveobuhvatnog obezbeđenja kvaliteta (*quality assurance* – QA) i kontrole kvaliteta (*quality control* – QC) u analizama životne sredine. Ipak, neki aspekti uzorkovanja veoma zavise od cilja istraživanja i ne mogu se sprovesti sa jednom standardizovanom procedurom.

Jedan od glavnih problema koji se javljaju prilikom planiranja i izvođenja biomonitoringa je odabir procedure pripreme uzoraka pre hemijske analize. Često se postavlja pitanje da li uzorak listova treba da se tretira (očisti i/ili opere) pre hemijske analize, i ako bi ih trebalo tretirati, koja tehnika čišćenja bi bila primenjena. Primena tehnika pranja uzoraka u najvećoj meri zavisi od prirode zagađujućih materija koje se ispituju i cilja istraživanja (Tabela 3.). S obzirom da su uočene značajne razlike u koncentracijama elemenata u tretiranim i netretiranim uzorcima listova jasno je da različiti pristupi pitanju čišćenja listova, kao što je odabir reagensa i trajanje procedure pranja, umnogome utiču na dobijene rezultate (Markert, 1993; Bargagli, 1998; Luyssaert, 2002).

Iako je pranje vodom široko prihvaćeno u biomonitoring istraživanjima, postoje raznoliki podaci o čistoći vode, trajanju i ponavljanju ispiranja u dostupnoj literaturi. U ispitivanjima zagađenja elementima u tragovima poreklom iz vazduha, uzorci listova *Betula pendula* i iglica *Pinus sylvestris* su ispirani destilovanom vodom u trajanju od jednog minuta (Dmuchowski *et al.*, 2011), dok su uzorci listova *Acer pseudoplatanus* i *Populus alba* ispirani dejonizovanom vodom u trajanju od 10 minuta (Simon *et al.*, 2011). U pojedinim istraživanjima je navedeno da su uzorci ispirani u nekoliko navrata; uzorci listova *Quercus ilex* su tri puta ispirani destilovanom vodom sa protresanjem u trajanju od 15 minuta (De Nicola *et al.*, 2008). U istraživanju sprovedenom korišćenjem listova *A. hippocastanum*, *T. cordata*, *B. pendula* i *A. platanooides*, uzorci su dva puta kratko ispirani (3-5 s) u bidestilovanoj vodi (Tomašević *et al.*, 2011), dok su, s druge strane, uzorci listova *Solanum melongena* i *Origanum vulgare* prani pet puta po 20 s sa destilovanom vodom (Wiseman *et al.*, 2014), sa ciljem uklanjanja čestica vezanih na površini listova. U brojnim istraživanjima je naveden tip medijuma (voda sa česme, destilovana ili dejonizovana voda) koji je korišćen za pranje uzoraka, ali nije definisano trajanje procedure (Al-Khashman *et al.*, 2011; Guzmán-Morales *et al.*, 2011; Khan *et al.*, 2011; Sun *et al.*, 2011; Evangelou *et al.*, 2012; Alagić *et al.*, 2013; Serbula *et al.*, 2013).

Značajne razlike u koncentracijama nekih elemenata (As, At, Br, Cr, Fe, Cd, Ni, Pb, Sb, Ti, V) su uočene između neopranih i opranih uzoraka, što ukazuje da je na listovima prisutna znatna količina čestica koja se može ukloniti pranjem i može dovesti do precenjivanja unutrašnjeg sadržaja ovih elemenata (Rossini Oliva & Raitio, 2003). Poznato je da uticaj pranja značajno utiče na koncentracije Fe, za koje je uočeno da i do 60 % čini frakciju koja se može ukloniti pranjem (Wyttenbach *et al.* 1985). Takođe, uočeno je i da pranje uzoraka dovodi do značajnog smanjenja koncentracije Pb, Al i Fe u opranim uzorcima listova (Tomašević *et al.*, 2011). Stoga, pranje uzoraka listova se često preporučuje kao vid standardizacije pripreme uzoraka, da bi se izbegao uticaj krupnijih deponovanih čestica na površini listova, koje mogu sporadično da povećaju koncentracije nekih elemenata u listovima (Aboal *et al.*, 2004).

Kratkim ispiranjem se uklanjaju i potencijalni uticaji precipitacije, koja bi mogla da spere atmosfersku depoziciju (Luyssaert *et al.*, 2002; Tomašević *et al.*, 2011). U eksperimentu sa simuliranom kišom (20 mm padavina na 700 cm² izdanaka), Przybysz *et al.* (2014) su ustanovili da je uklonjeno oko 35 % nataloženih čestica sa izdanaka četinara, od čega je

više od 80 % pripadalo klasi velikih čestica ($10\text{ }\mu\text{m} < D < 100\text{ }\mu\text{m}$), i manje od 5 % finih čestica ($0,2\text{ }\mu\text{m} < D < 2,5\text{ }\mu\text{m}$). U istom istraživanju je uočeno i da je količina čestica na biljkama zaštićenim od kiše veća nego na biljkama koje rastu u blizini velike saobraćajnice, ali su izložene direktnom uticaju kiše. Sa druge strane, postoje podaci da kiša olakšava akumulaciju čestica na površini listova pri visokim koncentracijama čestica u vazduhu (Wang *et al.*, 2015). Čestice bivaju uhvaćene u kapljice kiše i pri udaru u list ostaju na njemu, nakon što voda ispari. Jasno je da padavine, intenzitet i količina kiše imaju značajan uticaj na akumulaciju čestica na površini listova, bilo da uklanjaju nataložene čestice ili omogućavaju njihovo taloženje. Zato su dalje praćenje i analiza ovih faktora neophodni, kao i ispitivanje uticaja morfologije listova na procese taloženja i zadržavanja čestica na površini listova koji se koriste u biomonitoringu.

Tabela 3. Smernice za odabir procedure pranja u istraživanjima akumulacije elemenata korišćenjem biomonitoringa višim biljkama (kombinacije ovih metoda su često neophodne) (adaptirano iz Weiss *et al.*, 2003)

Ciljevi istraživanja	Bez pranja	Pranje vodom	Pranje organskim rastvaračima (uklanjanje kutikule)
Detekcija atmosferskog unosa zagađujućih materija	X ¹		
Detekcija atmosferskog unosa zagađujućih materija (ako je od interesa i frakcija zadržana u kutikuli)	X ^{3,4}		X ^{3,4}
Detekcija unosa kroz zemljište			X ^{2,3}
Razlika između akumulacije zagađujućih materija iz vazduha i iz zemljišta	X ^{2,3,4}		X ^{2,3,4}
Detekcija sadržaja u delovima biljaka			X
Uticaj zagađujućih materija na ljude koji konzumiraju biljke		X ⁵	
Uticaj zagađujućih materija na životinje koje konzumiraju biljke	X		
Istraživanja o transferu zagađujućih materija kroz kutikulu	X ^{3,4}		X ^{3,4}
Uticaj intenzivnih padavina		X	

¹Važi samo za veoma različite slučajeve zagađenja vazduha i za metode pasivnog biomonitoringa, koje su osjetljive za istraživanja jedinjenja, ili za standardizovane metode aktivnog biomonitoringa.

²Važi samo za jedinjenja koja se takođe unose i preko zemljišta.

³Važi samo za zagađujuće materije iz vazduha koje se usvajaju i akumuliraju u kutikuli, ali ne i za ona jedinjenja koja prvenstveno ulaze kroz stome ili brzo prodiru kroz kutikulu.

⁴Potrebne su dve hemijske analize po uzorku: odvojena analiza dela biljke pre i posle pranja.

⁵Simulacija pripreme biljke za jelo u domaćinstvima.

2.6. Analitičke tehnike

Sve veći broj istraživanja čestica u vazduhu dovela su i do povećanog interesovanja za korišćenje analitičkih tehnika kojima mogu da se izmere veličina, morfologija i hemijski sastav pojedinačnih čestica. Ovakvi podaci su od suštinskog značaja za razumevanje formiranja čestica, transport, mehanizme transformacije i depozicije, kao i uticaja čestica na ljudsko zdravlje nakon unošenja u respiratorni sistem. Određivanje sadržaja elemenata u tragovima u česticama u vazduhu daje bitne podatke za razvijanje strategija procene rizika. Tehnike koje se najčešće koriste za analizu elemenata u tragovima u uzorcima iz životne sredine, su:

- fluorescencija X zraka (*X-ray Fluorescence* – XRF), i
- neutronska aktivaciona analiza (*Neutron Activation Analysis* – NAA), koje pripadaju grupi nedestruktivnih tehnika, jer ne dolazi do razaranja uzorka;
- plamena atomska apsorpciona spektrometrija (*Flame Atomic Absorption Spectrometry* – FAAS),
- grafitna atomska apsorpciona spektrometrija (*Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry* – GFAAS),
- indukovano spregnuta plazma sa optičkom emisijom spektrometrijom (*Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry* – ICP-OES), i
- indukovano spregnuta plazma sa masenom spektrometrijom (*Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry* – ICP-MS), koje spadaju u destruktivne tehnike, jer dolazi do razaranja uzorka.

Analitičke tehnike XRF, FAAS i ICP-OES se koriste za određivanje srednjih do niskih nivoa koncentracija, dok su GFAAS, NAA i ICP-MS pogodne za ultra niske nivoe koncentracija elemenata.

2.6.1. Masena spektrometrija sa indukovano spregnutom plazmom – ICP-MS

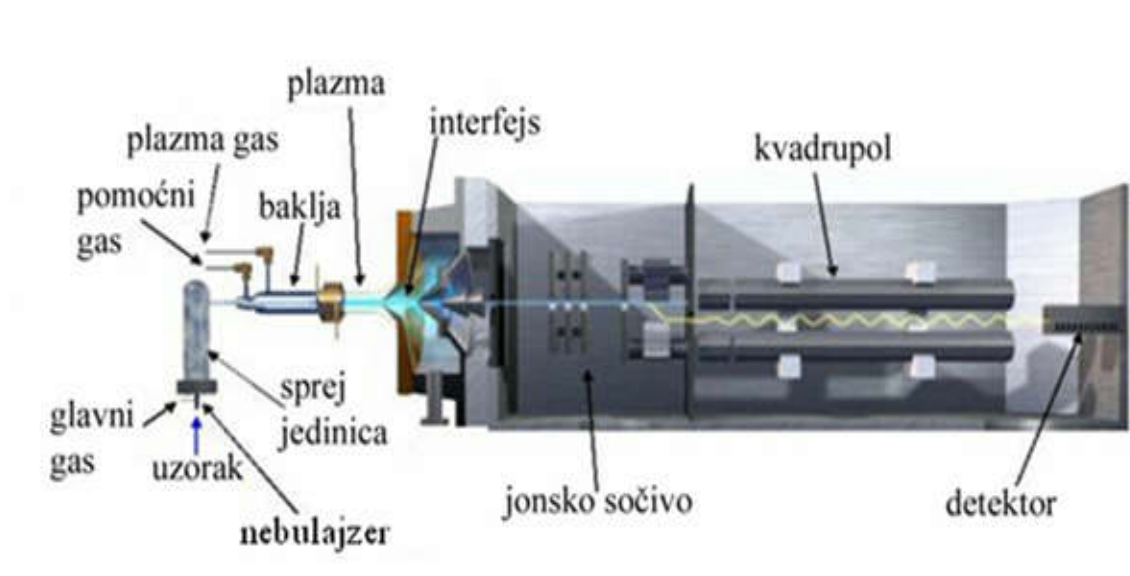
Indukovano spregnuta plazma sa masenom spektrometrijom (ICP-MS) je analitička tehnika za merenje koncentracije elemenata u širokom spektru različitih tipova uzoraka. Zasniva se na zajedničkom delovanju indukovano spregnute plazme (za jonizaciju uzorka) i masene spektrometrije (za razdvajanje i detekciju jona). Prednosti ove tehnike su:

- mogućnost istovremenog merenja velikog broja elemenata; skoro svi elementi mogu da se mere, uključujući alkalne i zemnoalkalne elemente, prelazne i ostale metale, metaloide, retke elemente, većinu halogena i neke nemetale, a pre svega metale i neke nemetale,
- dobre performanse; ICP-MS poseduje kombinaciju velike osetljivosti i niskog šuma, koji daju nisku granicu detekcije (ppt),
- brza analiza; instrument poseduje brzi skenirajući kvadrupolni analizator, usled čega merenje velikog broja elemenata u uzorku traje do nekoliko minuta,
- široki koncentracioni opseg; ima mogućnost da se određuju vrednosti u velikom opsegu koncentracija u okviru jednog merenja,
- mogućnost merenja izotopa i izotopskih odnosa određenih elemenata.

Smatra se da je ICP-MS odgovarajuća alternativa indukovano kuplovanoj plazmi sa optičkom emisionom spektrometrijom (ICP-OES) u opsegu viših koncentracija elemenata (ppb do ppm). S druge strane, ICP-MS tehnika se smatra konkurentnom, a u nekim slučajevima i boljom od grafitne atomske apsorpcione spektrometrije (GFAAS), usled niže granice detekcije elemenata u tragovima (ppt).

Ukratko, ICP-MS može da meri veliki broj elemenata u okviru jednog merenja, granice detekcije za većinu elemenata su iste ili niže u odnosu na druge tehnike, omogućava rukovanje sa kompleksnim i jednostavnim matricama i uklanjanje efekta interferenci, moguće je analizirati skoro sve tipove uzoraka i omogućava merenje izotopa. Zbog ovih osobina, ICP-MS tehnika je široko prihvaćena i ima široku primenu u različitim oblastima istraživanja: analiza vode (pijaće, otpadne, prirodni vodeni sistemi), kontrola kvaliteta vazduha i hrane, geologija, pedologija, biomonitoring, rudarstvo, medicina, farmacija, itd.

Delovi instrumenta su: sistem za unošenje uzorka, plazma, interfejs, vakuum sistem, jonska optika, kvadrupol, oktopol, detektor i softver instrumenta (Slika 10.).



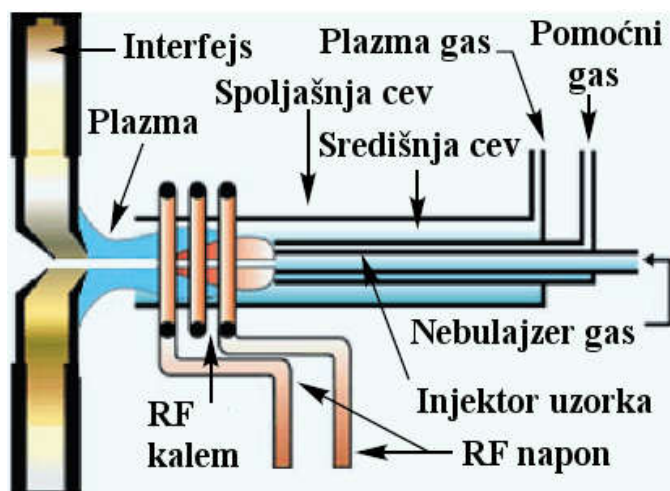
Slika 10. Šematski prikaz izgleda instrumenta ICP-MS

(<http://eecelabs.seas.wustl.edu/ICP-MS.aspx>)

Sistem za unošenje uzorka se sastoji od peristaltičke pumpe, raspršivača i sprej jedinice. Kada se meri sadržaj elemenata u tečnom uzorku, tečnost mora biti u obliku koji je prihvatljiv za plazmu uređaja. Ovo se postiže uvođenjem uzorka u raspršivač. Uzorak se unosi u plazmu u vidu aerosola, uglavnom u vidu tečnosti raspršene kroz nebulajzer (raspršivač). Uloga raspršivača je formiranje aerosola, sitnih kapljica uzorka. Raspršivač funkcioniše tako što struja gasa prolazi pod pravim uglom u odnosu na cev sa tečnošću i razbija tečnost u veoma sitne kapi, formirajući aerosol. Aerosol prolazi kroz sprej jedinicu, koja propušta samo one kapi koje imaju odgovarajuću veličinu i brzinu za uvođenje u plazmu. Krupnije kapljice aerosola (veće od 10 μm) se izdvajaju i napuštaju jedinicu preko drenažnog sistema, a finije kapljice (5-10 μm) ulaze u centralni kanal plazme i u injektor.

Plazma se generiše na ICP baklji i koristi se za jonizaciju uzorka (Slika 11.). Plazma nastaje zagrevanjem gasa, i formira se prolaženjem argona kroz niz koncentričnih kvarcnih cevi koje su na jednom kraju obavijene radiofrekventnim kalemom. Dolazi do jonizacije atoma i molekula, i formira se plazma koja se sastoji od naelektrisanih čestica, koje je čine provodljivom. Elektromagnetske interakcije između naelektrisanih čestica stvaraju okruženje sa visokom temperaturom (oko 6000 °C). Plazme koje se koriste u

spektrohemijskim analizama su zbirno elektroneutralne – svako pozitivno naelektrisanje jona je u ravnoteži sa slobodnim elektronom.



Slika 11. Šematski prikaz ICP baklje (<http://www.slideshare.net/moshfekus/icp-ms>)

Tokom prolaska kroz plazmu, kapljice tečnosti koje sadrže matricu uzorka i ispitivane elemente se suše do čvrstog stanja, a zatim zagrevaju do isparavanja. Atomi putuju kroz plazmu, pri čemu od svakog atoma nastaje jedan elektron i jedinično pozitivan jon. Pozitivni joni napuštaju plazmu i ulaze u interfejs oblast.

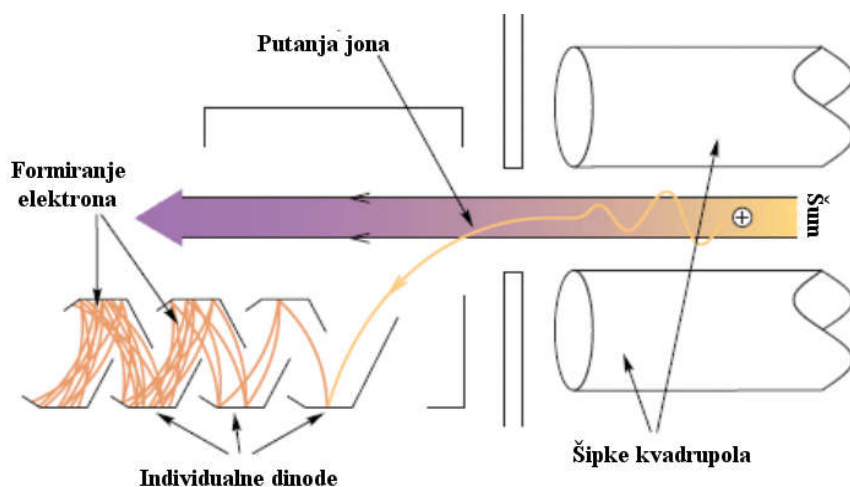
S obzirom da se procesi u plazmi odvijaju na mnogo višem pritisku od vakuuma koji zahtevaju jonska sočiva i delovi masenog spektrometra, uloga interfejsa je da obezbedi koegzistenciju plazme i jonske optike, kao i prolaženje jona iz plazme kroz čitav sistem. Interfejs se sastoji od dva levkasta dela (konusa) napravljena od Ni ili Pt. Konus sakupljač je smešten do plazme, a šupljikavi konus (uzorkivač) je nekoliko milimetara iza konusa sakupljača. U području između konusa vlada vakuum. Na krajevima konusa se nalaze mali otvori, od oko 1 mm, kroz koje prolaze joni. Otvori su malog prečnika da bi se održao vakuum u oblasti masenog spektrometra i da bi se smanjila količina nerazdvojene matrice uzorka koja ulazi u vakuum, i na taj način sprečilo eventualno začepljenje neisparenim materijalima iz uzorka.

Rastojanje između interfejsa i detektora je obično manje od 1 mm. Da bi joni prešli ovaj put, ne smeju da se sudaraju sa bilo kojim molekulima gasova. Zato je neophodno stvaranje vakuuma, što se postiže kombinacijom turbomolekularne pumpe (koja radi po principu avionskih turbina) i jednostavne mehaničke pumpe.

U vakuum sistemu, odmah iznad interfejsa, smeštena je jonska optika koja se sastoji od jednog ili više elektrostatički kontrolisanih sočiva. Zbog velikog pada pritiska nakon izlaska iz interfejsa, dolazi do difuzije elektrona i formira se pozitivno naelektrisani jonski snop. Pošto su joni formirani u plazmi uglavnom pozitivno naelektrisani, imaju tendenciju da se međusobno odbijaju, pa je neophodno sprečiti širenje snopa jona. Elektrostatički se privlače joni od interesa nazad u centar snopa tako što se dovodi određeni napon na jedno ili više sočiva. Elektrostatička sočiva drže jone fokusirane na centralnoj osi instrumenta, dok prolaze kroz vakuum do zadnje komore, gde se nalaze maseni spektrometar i detektor. Na taj način se omogućava da se joni iz plazme prenesu sa atmosferskog pritiska i ubace u kvadrupol koji je pod visokim vakuumom. Između konusa sakupljača i sočiva nalazi se mali disk, koji zaustavlja fotone i nejonizovan materijal, što bi u suprotnom imalo štetan uticaj na rad instrumenta.

Kvadrupol je sastavljen od četiri šipke dužine oko 20 cm i prečnika oko 1 cm. Kroz ovaj deo mogu da prođu samo joni određene mase u određeno vreme, odnosno vrši se sortiranje jona na osnovu odnosa masa/naelektrisanje. Ovo se postiže ispravnom kombinacijom napona i radiofrekvencije, tako da joni sa odgovarajućim m/z odnosom prolaze između šipki kvadrupola i bivaju izbačeni iz njih. Kvadrupol brzo skenira kroz maseni opseg i sekvencijalno propušta elemente sa masom od interesa. Maseni spektrometar može da se podesi na bilo koji odnos, radi merenja traženog elementa iz analiziranog uzorka. Iako kvadrupol omogućava prolazak samo jedne vrste jona, promena napona na šipkama može da se izvrši jako brzo, za manje od 0,1 s. Zato je ICP-MS brza metoda za određivanje velikog broja različitih elemenata.

Joni napuštaju maseni spektrometar i udaraju o površinu detektora, koji sadrži pojačivač signala elektrona, uzrokujući električni signal (Slika 12.). Aktivna površina detektora (dinoda) otpušta elektron pri svakom udaru jona. Elektroni otpušteni sa prve dinode pogađaju drugu dinodu, koja otpušta još više elektrona. Ovo pojačavanje po kaskadnom principu se nastavlja sve do nastanka merljivog pulsa. Brojanje ovih pulseva iz detektora predstavlja brojanje jona koji su pogodili prvu dinodu. Joni koji pristižu na detektor tokom izlazećeg pulsa prethodnog jona ne mogu da se izmere i to predstavlja mrtvo vreme od oko 30-50 ns.



Slika 12. Šematski prikaz kvadrupola i detektora

Opseg osetljivosti detektora je u početku bio od ppt do nekoliko stotina ppb. Danas može da se proširi od sub ppt do 100 ppm i za to se koriste:

- kombinacija 2 detektora – pojačivač elektrona i faradejeva kupa,
- detektor u digitalnom (veća osetljivost) i analognom modu (manja osetljivost).

Nakon procesiranja signala, dobija se maseni spektar sa masama i brojevima udara svih jona. Svaki jon odgovara pojedinačnom elementu ili izotopu u početnom uzorku i koncentracija je direktno proporcionalna originalnoj koncentraciji u uzorku.

Svi ICP instrumenti zahtevaju računar i odgovarajuću softversku kontrolu za praćenje rada i pouzdanosti rezultata. Korisniku je obezbeđeno lako rukovanje jer je rutinska optimizacija procedure kontrolisana od strane računara. Na osnovu izvršenih merenja softver obrađuje podatke i može ih prikazati na sledeća 3 načina:

- semikvantitativna analiza – daje „otisak prsta“ elemenata iz uzorka i njihove približne koncentracije, i predstavlja kvalitativnu analizu;
- kvantitativna analiza – precizno određivanje koncentracije nekog elementa u uzorku, i predstavlja kvalitativnu i kvantitativnu analizu;
- odnos izotopa – ima primenu u utvrđivanju geološke starosti stena, prepoznavanju izvora zagađenja, biološkim istraživanjima, itd; meri se koncentracija pojedinačnih izotopa nekog elementa, kao i njihovi odnosi.

2.6.2. Skenirajuća elektronska mikroskopija sa energo-disperzivnom spektroskopijom – SEM-EDS

Skenirajuća elektronska mikroskopija (*Scanning Electron Microscopy* – SEM) jedna je od najviše korišćenih tehnika za karakterizaciju površine materijala. Upotrebljava se za precizno određivanje površinske i prostorne strukture čvrstih uzoraka, koristeći interakciju elektrona sa materijom za stvaranje slike ispitivanog uzorka.

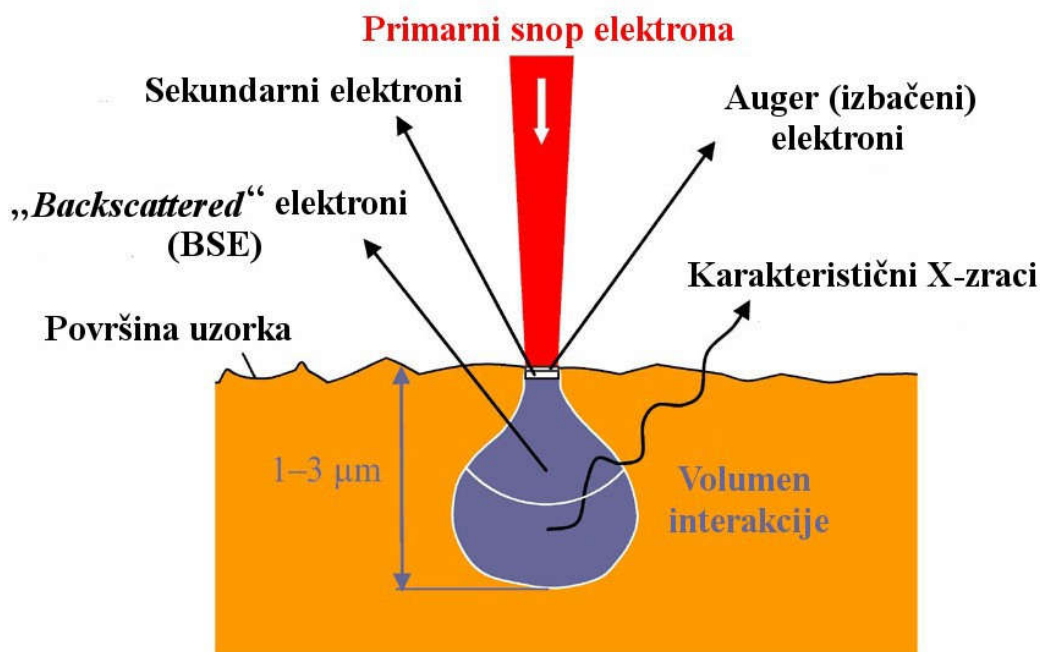
Za dobijanje uveličane slike objekta kod elektronskog mikroskopa se koristi snop primarnih elektrona (Slika 13.). Elektroni se izbacuju iz elektronskog topa koji sadrži katodu od volframa. Volfram je pogodan jer ima najvišu tačku topljenja od svih metala i može se zagrejati tako da emituje elektrone, a takođe je i jeftin. Elektronski snop energije 0,2 keV-40 keV se fokusira uz pomoć kondenzatora na tačku dijametra oko 5 nm. Snop prolazi kroz parove skenirajućih namotaja (kalema), koji su obično u zadnjem sočivu, i koji otklanjaju zrake u smeru x i y ose, tako da mogu skenirati duž kvadratnog područja uzorka (rastersko skeniranje). Skeniranje površine se ostvaruje prelaženjem uskog snopa (primarnih) elektrona preko površine uzorka.



Slika 13. Šematski prikaz SEM-a (Đorđević, 2012)

U svakoj tački uzorka, u interakciji elektrona primarnog snopa i molekula (atoma) uzorka, dolazi do stvaranja „signala” koji se detektuje. Pri interakciji upadnih elektrona sa atomima ispitivanog uzorka dolazi do njihovog rasejanja ili do jonizacije atoma uzorka. Primarni elektroni predaju deo svoje energije elektronima u materijalu, što dovodi do pobuđivanja elektrona iz elektronskih ljuski atoma, usled čega dolazi do njihovog rasejanja ili do jonizacije atoma uzorka. Upadni elektroni se vraćaju, bilo kao primarno raspršeni prema nazad („*backscattered electrons*”) ili kao sekundarno raspršeni, koji se najviše koriste za istraživanje površina (Slika 14.). Sekundarni elektroni dolaze do detektora gde se indukuje električni signal koji se pojačava i digitalizuje. Kao rezultat, na ekranu se pojavljuje topografska slika površine ispitivanog objekta–površina metalnog omotača objekta. Oštrina slike zavisi od jačine signala sa uzorka (energija sekundarnih elektrona). Energija sekundarnih elektrona je mala, reda veličine 50 eV, što ograničava njihovo detektovanje samo sa dubine do 10 nm. Broj

sekundarnih elektrona zavisi od ugla između upadnog snopa i površine uzorka, tako da se njihovim detektovanjem dobija informacija o obliku površine uzorka.



Slika 14. Princip rada SEM-a (<http://www.surfgroup.be/semedx>)

SEM-om se obično snimaju provodni materijali, dok je za neprovodne materijale potrebna posebna priprema. Uobičajena tehnika pripreme neprovodnih materijala je nanošenje tankog sloja provodnog materijala, kao što je Au, na uzorak. Uzorak se stavlja u komoru, na provodnik od ugljenika, u atmosferi inertnog gasa argona (Ar). Katoda-omotač komore je od zlata i služi za oblaganja uzorka ovim metalom. Kada se elektrode priključe na jak napon, argon će se jonizovati. Joni Ar^+ će udarati u katodu i izbijati atome Au koji će oblagati uzorak.

Prednosti ove tehnike su: jednostavna upotreba sa „user-friendly” softverom, minimalna priprema uzoraka (za većinu primena), kao i brzo dobijanje podataka (manje od par minuta po slici za EDS analize). S druge strane, mane su što uzorci moraju biti čvrsti i moraju biti odgovarajuće veličine da bi stali u mikroskopsku komoru. Maksimalna veličina (horizontalna) je obično 10 cm, a vertikalna 40 mm. Praškasti uzorci moraju se fiksirati na supstrat držača, tako da ne kontaminiraju SEM komoru.

SEM instrumenti rade pod vakuumom između 10^{-2} do 10^{-8} Pa, kako molekuli koji se nalaze u vazduhu ne bi ometali elektronski snop. Zbog velike osetljivosti na vibracije i spoljna magnetna polja, moraju se držati u posebnim prostorijama.

Slike raspršenih elektrona na SEM-u prikazuju raznolik sastav koji je posledica različitih atomskih brojeva elemenata i njihove distribucije. Energo-disperzivna spektroskopija (*Energy Dispersive X-ray Spectroscopy* – EDS) omogućava identifikaciju tih elemenata i njihove udele (na primer atomske %). EDS koristi spektre X-zraka, dobijenih bombardovanjem uzorka fokusiranim snopom elektrona, da bi se dobila lokalizovana hemijska analiza. Načelno, svi elementi sa atomskim brojevima od 4 (Be) do 92 (U) se mogu detektovati, iako neki instrumenti ne mogu da detektuju „lake” elemente sa atomskim brojem manjim od 11 (Na). Kvalitativna analiza podrazumeva identifikaciju pikova na spektrima, dok kvantitativna analiza zahteva merenje intenziteta pikova za svaki element u uzorku, na osnovu kalibracije dobijene merenjem standarda poznatog sastava. Rasterskim skeniranjem (skeniranje duž kvadratnog područja uzorka) i prikazivanje intenziteta dobijenih pikova, mogu se dobiti „mape” distribucije elemenata u uzorku.

Inicijalna EDS analiza podrazumeva formiranje spektra X-zraka od cele oblasti skenirane SEM-om. ED spektar je prikazan u vidu grafika, gde x-osa predstavlja energiju X-zraka (uglavnom u opsegu do 10 ili do 20 eV), a y-osa predstavlja broj udara fotona. Pik X-zraka je proširen usled odgovora sistema, i ima Gausov oblik. Intenziteti pikova se određuju brojanjem pulseva fotona X-zraka u detektoru, koji se nasumično emituju iz uzorka i preciznost dobijenog merenja je ograničena statističkom greškom. Za najzastupljenije elemente u uzorku, preciznost je uglavnom bolja od ± 1 %, ali je ukupna analitička tačnost najčešće oko ± 2 %. Prostorna rezolucija zavisi od prodiranja i širenja elektronskog snopa u uzorku. Nominalna rezolucija je oko 2 μm , pod uobičajenim uslovima, ali za kvantitativnu analizu je potrebna minimalna veličina od nekoliko μm . Za snižavanje granice detekcije je potrebno više pulseva, što se dobija povećanjem vremena brojanja i/ili struje snopa. Granica detekcije u ED analizi je uglavnom oko 0,1 %.

Skenirajuća elektronska mikroskopija, kombinovana sa energo-disperzivnom spektroskopijom (*Scanning Electron Microscopy Energy Dispersive X-ray Spectroscopy* – SEM-EDS) predstavlja podesnu tehniku za fizičku i hemijsku karakterizaciju

pojedinačnih čestica nataloženih na listovima, kao i morfologije samih listova. Iako SEM-EDS predstavlja semi-kvantitativnu tehniku, može da se koristi i za analizu sastava površine listova (1-5 μm dubine). Na taj način može da se odredi distribucija elemenata u površini listova u vidu mapiranja elemenata ili analize tačaka (Ram *et al.*, 2012). Zbog toga se često koristi u biomonitoring istraživanjima, kao dopunska tehnika kvantitativnim analitičkim tehnikama (npr. Tomašević *et al.*, 2005; Sawidis *et al.*, 2011; Maher *et al.*, 2013; Simon *et al.*, 2014).

2.7. Statistička analiza

2.7.1. Korelaciona analiza

Korelaciona analiza pokazuje stepen zavisnosti između promenljivih, odnosno korelacijom se meri jačina povezanosti između dve promenljive. Stepenn intenziteta povezanosti između promenljivih, koje su u linearnom odnosu, meri se:

- kovarijansom, kao apsolutnom merom intenziteta korelacije i
- koeficijentom proste linearne korelacije, kao relativnom merom intenziteta korelacione veze.

Kovarijansa predstavlja, u suštini, zajedničku meru promenljivosti za jednu i drugu promenljivu i može se matematički predstaviti kao zbir varijansi jedne i druge promenljive:

$$C_{xy} = SD_x^2 + SD_y^2, \text{ tj. } C_{xy} = \frac{\sum(x - \bar{x})^2}{n} + \frac{\sum(y - \bar{y})^2}{n} \quad (7)$$

gde su x i y vrednosti promenljivih čija korelacija se ispituje, $\bar{x}$ i $\bar{y}$ srednje vrednosti ispitivane populacije (n), odakle se dobija formula za kovarijansu:

$$C_{xy} = \frac{\sum xy}{n} - \bar{x}\bar{y} \quad (8)$$

gde je n veličina uzorka, odnosno, broj korelisanih parova vrednosti.

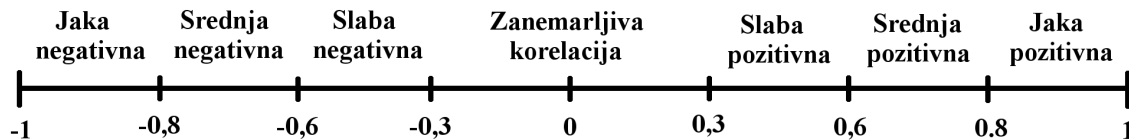
Kovarijansa, kao apsolutna mera stepena povezanosti, nije pogodna za procenu, pa se češće koriste relativne mere tj. koeficijent proste linearne korelacije ili *Pearson*-ov

koeficijent (r). Koeficijent proste linearne korelacije se izračunava kao količnik između kovarijanse i proizvoda standardnih devijacija jedne i druge promenljive:

$$r_{xy} = \frac{C_{xy}}{SD_x SD_y} \quad (9)$$

Koeficijent korelacije ima vrednost koja se kreće u rasponu od -1 do +1. Ako promenljive nisu povezane, r je jednak nuli. Kada višim vrednostima nezavisno promenljive x , odgovaraju i više vrednosti zavisno promenljive y i obrnuto: opadanjem vrednosti nezavisne x , opadaju i vrednosti zavisne y – onda je to pozitivna korelacija ($r > 0$). Obrnuto, kada višim vrednostima nezavisno promenljive x , odgovaraju niže vrednosti zavisno promenljive y , odnosno opadanjem vrednosti nezavisne x rastu vrednosti zavisne y – onda je to negativna korelacija ($r < 0$). Uopšteno, što je vrednost koeficijenta proste linearne korelacije bliža jedinici, to je međuzavisnost među posmatranim pojavama jača. Koeficijent korelacije nikada nema vrednosti -1 ili +1, jer bi to značilo da između promenljivih postoji matematička veza, a ne statistička.

U zavisnosti od vrednosti koeficijenta korelacije određuje se koliko je zavisnost između dve promenljive jaka:



2.7.2. Analiza glavnih komponenti

Analiza glavnih komponenti (*Principal Component Analysis* – PCA) predstavlja jednu od najjednostavnijih multivarijantnih tehnika. Ona se primenjuje kada je velik broj promenljivih u skupu suvišan, odnosno kada se više promenljivih odnosi na istu dimenziju i ne pružaju nikakvu dodatnu informaciju koja već nije obuhvaćena nekom drugom promenljivom. To znači da, iako postoji p ulaznih promenljivih kako bi se opisala varijabilnost celog skupa, očekuje se da će k najvećih glavnih komponenti biti dovoljno da objasni varijabilitet podataka u skupu ($k < p$).

Analiza glavnih komponenti bavi se tumačenjem strukture matrice varijansi i kovarijansi skupa izvornih promenljivih p pomoću malog broja njihovih linearnih kombinacija. Cilj analize je da se od p promenljivih $(X_1, X_2, \dots, X_p)$ pronade kombinacija istih, kako bi se izračunale nove promenljive $(Z_1, Z_2, \dots, Z_p)$ koje međusobno nisu u korelaciji i koje će opisivati varijacije podataka. Promenljive Z predstavljaju zapravo glavne komponente.

Prvo je potrebno odrediti varijansu promenljivih i koeficijente linearnih korelacija između njih. Varijansa promenljive X jednaka je kvadratu standardne devijacije (σ_X) i pokazuje koliko se podaci međusobno razlikuju:

$$\sigma_X^2 = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2 \quad (10)$$

Potom se izračunava koeficijent linearne korelacije između promenljivih (npr., X_1 i X_2):

$$\rho(X_1, X_2) = \frac{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (X_{1i} - \bar{X}_1)(X_{2i} - \bar{X}_2)}{\sigma_{X_1} \sigma_{X_2}} \quad (11)$$

Linearna korelacija može biti u opsegu od +1 do -1 u zavisnosti da li je korelacija između promenljivih pozitivna ili negativna, redom.

Nakon toga se određuju glavne komponente, tj. faktori (Z). Prva glavna komponenta (Z_1) je linearna kombinacija izvornih varijabli $(X_1, X_2, \dots, X_p)$:

$$Z_1 = a_{11}X_1 + a_{12}X_2 + \dots + a_{1p}X_p, \quad (12)$$

gde su $a_{11}, a_{12}, \dots, a_{1p}$ linearni koeficijenti, pod uslovom da je:

$$a_{11}^2 + a_{12}^2 + \dots + a_{1p}^2 = 1 \quad (13)$$

Druga glavna komponenta se izračunava:

$$Z_2 = a_{21}X_1 + a_{22}X_2 + \dots + a_{2p}X_p \quad (14)$$

i

$$a_{21}^2 + a_{22}^2 + \dots + a_{2p}^2 = 1 \quad (15)$$

itd.

Analiza glavnih komponenti podrazumeva pronalaženje svojstvene vrednosti (*eigenvalues* – λ) matrice kovarijansi uzorka. Matrica kovarijansi (C) je simetrična i ima oblik:

C_{11}	C_{12}	...	...	C_{1p}
C_{21}	C_{22}	...	...	C_{2p}
...	...	...	...	...
...	...	...	...	...
C_{p1}	C_{p2}	...	...	C_{pp}

U matrici dijagonalni elementi c_{ii} su zapravo varijansa izvorne promenljive X_i , dok su ostali elementi van dijagonale, c_{ij} , kovarijanse izvornih promenljivih X_i i X_j . Varijanse glavnih komponenti su svojstvene vrednosti (λ) matrice C . Svojstvena vrednost λ_i je zapravo varijansa glavne komponente Z_i , odnosno $\lambda_i = \text{Var}(Z_i)$.

Svojstvene vrednosti se koriste da bi se odredio broj glavnih komponenti koje je potrebno izdvojiti, a da se zadrži zadovoljavajući nivo informacija o izvornim promenljivima. Jedna od najčešće korišćenih metoda je *Kajser*-ova, gde se u obzir uzimaju one komponente koje imaju svojstvene vrednosti veće od 1. Na taj način se uzimaju u obzir samo one komponente koje sadrže više informacija od izvornih promenljivih.

Komponente često nisu definisane tako da se jedna promenljiva javlja samo u jednoj komponenti, već se često javlja u više komponenti, pa tako neke promenljive definišu veći broj komponenti. Da bi se to izbeglo, vrši se rotacija glavnih komponenti sa ciljem dobijanja jednostavnije strukture, tj. komponenti koje su međusobno što nezavisnije. To podrazumeva da je jedna komponenta određena jednim skupom promenljivih, druga drugim, itd., a da pritom bude što manje promenljivih koje su zajedničke većem broju komponenti. Često korišćena je ortogonalna (*Varimax*) rotacija.

Analiza glavnih komponenti je često primenjivana statistička tehnika u istraživanjima životne sredine. U analizi zagađenja vazduha i biomonitoringu se koristi za određivanje izvora emisije zagađenja, uglavnom na osnovu koncentracija zagađujućih materija na

određenom lokalitetu. U tom slučaju se zagađujuće materije posmatraju kao originalne promenljive i njihove korelacije omogućavaju identifikaciju izvora zagađenja.

Neki autori ukazuju da podaci vezani za životnu sredinu predstavljaju tzv. „zatvorene podatke” (eng. *closed data*), u slučaju kojih odnosi između promenljivih sadrže potrebnu informaciju, a ne same vrednosti promenljivih (Filzmoser *et al.*, 2010), tj. podaci kvantitativno opisuju delove određene celine (Filzmoser *et al.*, 2012). Ovakav tip podataka se najčešće javlja u geohemijskim istraživanjima, ali i u biomonitoringu, gde rezultati predstavljaju podatke o sastavu (eng. *compositional data* – CoDa), i uglavnom se prikazuju u jedinicama kao što su mg kg⁻¹, ili u masenim procentima, što znači da kad bi se izmerili svi elementi u nekom uzorku, zbirni rezultat bi bio konstanta (1.000.000 mg kg⁻¹ ili 100 %) (Reimann *et al.*, 2012a). Na taj način nijedna promenljiva se ne menja nezavisno od ostatka ukupnog sastava.

Efekat „zatvorenih podataka” može imati bitan uticaj na ishod statističke analize, te se dobijaju pogrešni rezultati (Filzmoser *et al.*, 2009a). Kada su u pitanju geohemijska istraživanja, tj. kada se određuje sastav stena, efekat „zatvorenih podataka” je veoma izražen, te ga je neophodno ukloniti (Filzmoser *et al.*, 2010; Reimann *et al.*, 2012a), dok kod biomonitoring ispitivanja i klasični pristupi statističkoj obradi podataka uglavnom daju prihvatljive rezultate, jer je količina ispitivanih elemenata uglavnom relativno mala (Reimann *et al.*, 2015).

Zbog ograničenja koja proizilaze iz konstantnosti sume podataka, geometrijski prostor nije predstavljen uobičajenim, euklidskim prostorom (određenim sa tri dimenzije), već je geometrija ovakvih podataka objašnjena Ačison geometrijom (Aitchison, 1986; Aitchison *et al.*, 2000). Da bi se podaci vratili u euklidski prostor, koriste se logaritamske transformacije, a jedna od češće korišćenih je „centrirana” logaritamska transformacija (eng. *centered logratio transformation* – clr) (Filzmoser *et al.*, 2009b, 2010; Reimann *et al.*, 2012a). Prilikom clr transformisanja svaka vrednost se deli sa geometrijskom srednjom vrednošću svih vrednosti, a logaritmovanje omogućava prikazivanje u euklidskim prostoru (Aitchison, 1986). Tako vrednost $x = (x_1, \dots, x_D)$, postaje:

$$clr(x) = (y_1, \dots, y_D) = \left(\frac{\ln x_1}{\sqrt{D \prod_{i=1}^D x_i}}, \dots, \frac{\ln x_D}{\sqrt{D \prod_{i=1}^D x_i}} \right) \quad (16)$$

Dobijene clr vrednosti u zbiru daju 0, tj. $y_1 + \dots + y_D = 0$ i pojedinačne promenljive nisu nezavisne, što znači da podskupovi različitih promenljivih ne oslikavaju originalne podatke, već se moraju posmatrati kao celina (Aitchison, 1986).

2.7.3. Statistički testovi

Statistički testovi se koriste u istraživanjima da bi se odredila statistička značajnost postavljenih hipoteza. Odabir testa zavisi od ulaznih podataka koji se analiziraju. Prilikom odabira statičkog testa mora se voditi računa o raspodeli koju podaci imaju, jer se različiti testovi primenjuju na podatke sa normalnom raspodelom i one koji nemaju to svojstvo (Tabela 4).

Tabela 4. Pregled testova koji se koriste za određivanje statističke značajnosti

Test za podatke sa normalnom raspodelom	Ekvivalentni test za podatke koji nemaju normalnu raspodelu	Primena testa
<i>t</i> -test	<i>Mann-Whitney U</i> test <i>Mood's median</i> test <i>Kruskal-Wallis</i> test	Provera značajnosti razlike između dve grupe podataka
ANOVA	<i>Mood's median</i> test <i>Kruskal-Wallis</i> test	Provera značajnosti razlike između tri i više grupa podataka
Upareni <i>t</i> -test (<i>Paired t</i> -test)	<i>One-sample sign</i> test	Provera značajnosti razlika između „uparenih“ uzoraka (npr., poređenje efikasnosti dve metode ili tretmana)

Jedan od testova koji se koristi za proveru normalnosti raspodele podataka je *Kolmogorov-Smirnov (K-S)* test sa *Lilliefors* korekcijom. To je test zasnovan na *Kolmogorov-Smirnov* testu i koristi se za testiranje nulte hipoteze da podaci imaju normalnu raspodelu kada se u nultoj hipotezi ne definiše očekivana vrednost i varijansa raspodele.

Neki statistički testovi pretpostavljaju da su varijanse u populacijama odakle se uzimaju uzorci jednake, odnosno homogene. Ipak, često je neophodno ustanoviti da li nasumično uzorkovanje iz populacije omogućava dobijanje uzoraka sa sličnim svojstvima. *Levene* test se najčešće koristi za određivanje da li uzorci imaju iste varijanse, odnosno testira se homogenost varijanse kod uzoraka.

Ako je ustanovljeno da podaci imaju normalnu raspodelu, statistička značajnost postavljenih hipoteza se često testira ANOVA testom. *One-way* ANOVA test podrazumeva analizu varijanse tri ili više nezavisnih grupa da bi se ustanovilo da li postoje statističke razlike između njih. Na taj način se procenjuje razlika u srednjim vrednostima između tih grupa podataka.

Nakon primene testa značajnosti na tri ili više grupa, ponekad se koriste i *post hoc* testovi kojima se ispituje značajnost razlika između pojedinih testiranih grupa. *Tukey* post hoc test se koristi za pronalaženje srednjih vrednosti koje su značajno različite od ostalih, upoređujući parove vrednosti. *Duncan post hoc* test se koristi u sličnim situacijama kao i *Tukey* test, ali je posebno dobar za izbegavanje tipa I greški (pogrešno odbacivanje tačne nulte hipoteze, tj. lažni pozitivni rezultat), čak i na račun veće mogućnosti dobijanja lažnog negativnog rezultata (tip II greška).

Ponekad se podaci koji nemaju normalnu raspodelu mogu transformisati u normalno distribuirane logaritmovanjem podataka. Prilikom transformacije ne dolazi do promene relativnog sleda vrednosti, već se menja razdaljina između uzastopno postavljenih vrednosti da bi se promenio ukupan oblik raspodele.

U slučaju da podaci nemaju normalnu raspodelu koriste se *Mann-Whitney U* test i *Kruskal-Wallis* test. *Mann-Whitney U* test je neparametarski test koji testira nultu hipotezu da dva uzorka potiču iz iste populacije nasuprot alternativne hipoteze, posebno da određena populacija ima više vrednosti od druge. Njegova primena ne zahteva eksplicitno poznavanje raspodele podataka. *Kruskal-Wallis* test je neparametarski test koji testira da li uzorci potiču iz iste raspodele. Koristi se za određivanje statističke značajnosti između dva ili više uzoraka ili grupa podataka. Predstavlja zamenu za *Mann-Whitney U* test kada postoje dve ili više grupa. Statistička značajnost dobijena ovim testom ukazuje da je barem jedan uzorak stohastički dominantan („veći”) od drugog.

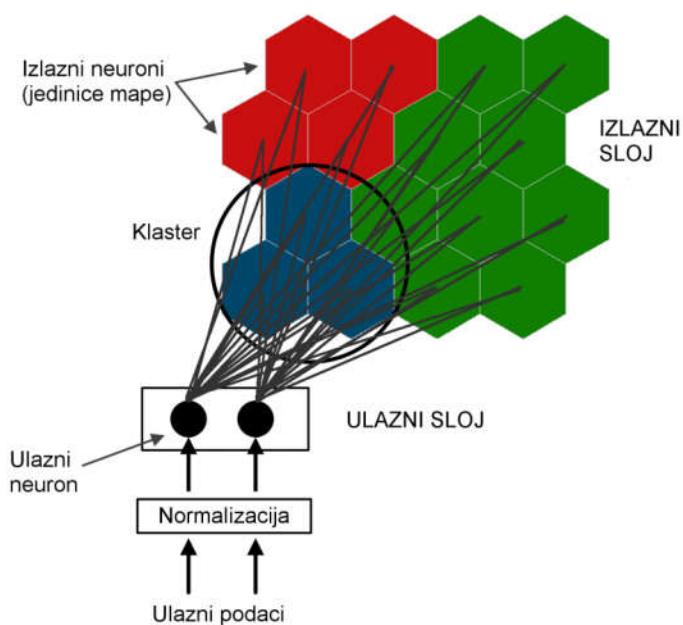
2.7.4. Samo-organizujuće mape (SOM) i samo-organizujuće mreže (SON)

Samo-organizujuće mape (*Self-Organizing Maps* – SOM) i samo-organizujuće mreže (*Self-Organizing Networks* – SON) (Kohonen 1982a,b) su vrste nenadgledanih veštačkih neuronskih mreža (*Artificial Neural Networks* – ANNs), koje je razvio Kohonen (Kohonen, 1982a,b), za grupisanje podataka prepoznavanjem različitih obrazaca (Kohonen 2001) i predstavljaju odličan alat za vizuelizaciju više-dimenzionalnih podataka (Vesanto *et al.* 2000).

SOM algoritam se zasniva na kompetitivnom učenju i razvijen je za potrebe vizuelizacije nelinearnih odnosa više-dimenzionalnih podataka. SOM smanjuje broj dimenzija ulaznih podataka tako što projektuje više-dimenzionalne podatke u dvo-dimenzionalnu mapu, čuvajući topologiju prostora ulaznih podataka (Veses *et al.*, 2014). Neki autori su nedavno istakli prednosti korišćenja SOM-a u poređenju sa drugim multivarijantnim statističkim tehnikama. U istraživanju sedimenata u rekama, Veses *et al.* (2014) su zaključili da SOM analiza, zbog odličnog vizuelnog predstavljanja i jasne klasifikacije uzoraka, kao i mogućnosti određivanja korelacija između promenljivih, pruža određene prednosti u poređenju sa drugim multivarijantnim analizama, kao što je analiza glavnih komponenti.

SOM se sastoji od neurona organizovanih u malo-dimenzionalnu mrežu, uglavnom u dvo-dimenzionalnu heksagonalnu mrežu (Slika 15.). Neuroni su povezani sa susednim neuronima putem međusobne veze (uglavnom Gausovog tipa), na osnovu koje se određuje topologija ili struktura mape. Svaki neuron (predstavljen težinskim vektorom) ima isti broj komponenti kao i broj dimenzija ulaznih promenljivih. Obučavanje SOM-a se vrši iterativno tako što se na nasumične nizove originalnih podataka primenjuje Kohonenov algoritam nenadgledanog učenja (Gulson *et al.*, 2007). SOM se obučava u iteracijama da bi se dobio neuron čiji težinski vektor je najbliži (minimalna udaljenost) vektoru ulaznog podatka, i naziva se jedinica najboljeg podudaranja (*best-matching unit* – BMU). Nakon što je određen BMU, težinski vektori SOM-a se ažuriraju i BMU se pomera bliže ulaznom vektoru u ulaznom prostoru. Svaki korak obučavanja uključuje ažuriranje težinskih vektora, gde su rezultatni težinski vektori prosečni težinski vektori iz ulaznog prostora. Na taj način, ulazni obrasci podataka sličnih uzoraka formiraju neurone koji su fizički postavljeni blizu jedan drugom u izlaznom sloju (Gulson *et al.*, 2007). Na kraju

obuke, slični uzorci će biti postavljeni blizu jedni drugih u krajnjoj mapi, dok će različiti uzorci biti udaljeni jedni od drugih (Vesanto *et al.* 2000). Uzorci pozicionirani na heksagonalnom saću, sa malim rastojanjem između njih predstavljaju klastere (Slika 15.).



Slika 15. Arhitektura SOM-a

Mape komponenti (eng. *Component Planes*) se koriste za interpretaciju rezultata SOM-a. Svaka mapa komponenti prikazuje vrednosti jedne promenljive u svakoj jedinici mape, omogućavajući kvalitativne korelacije između promenljivih kada su sve mape komponenti prikazane zajedno (može da se uoči pozitivna korelacija, na osnovu paralelnih gradijenata). Konačno, softver omogućava korisniku da sam odabere broj izlaznih neurona da bi se najbolje optimizovala veličina mape.

SOM su korišćene u poslednje vreme kao alternativa klasičnim multivarijantnim statističkim tehnikama u istraživanjima u životnoj sredini, sa ciljem prepoznavanja obrazaca u podacima i formiranja klastera. Veštačke neuronske mreže, kao što su SOM, su postale vrlo popularne u oblastima istraživanja kao što su modelovanje procesa i klasifikacija velikog broja podataka iz životne sredine, između ostalog (Kohonen 2001; Kalteh *et al.* 2008). SOM su dosad uspešno korišćene u istraživanjima vezanim za životnu sredinu, kao što su zagađenje i kvalitet vazduha (Barron-Adame *et al.*, 2007;

Pearce *et al.*, 2014 Kwon *et al.*, 2015), vodni resursi (Kalteh *et al.*, 2008; Yang *et al.*, 2012), gasovi nastali insineracijom otpada (Mari *et al.*, 2010), kvalitet sedimenata u vodenim tokovima (Veses *et al.*, 2014), itd. Mali broj istraživanja je ukazao na mogućnost korišćenja SOM-a kao efikasnog alata u biomonitoring istraživanjima, za procenu zagađenja elementima u tragovima u zemljištu i različitom biljnom materijalu. Samecka-Cymerman *et al.* (2009a,b) su primenili SOM u biomonitoringu koncentracija elemenata u zemljištu i različitim biljnim materijalima (lišće i kora drveća, mahovine), sa ciljem odabira najpogodnijeg biomonitora i za definisanje nivoa zagađenja poteklih iz saobraćaja i industrije.

SON koji se sastoji od dva sloja koji predstavljaju N -dimenzionalni prostor (ulazni sloj sa N neurona) i izlazni sloj sa M neurona, se može koristiti za klasifikaciju tačaka podataka ugrađenih u ovaj N -dimenzionalni prostor, u M kategorija (Perez-Aguila *et al.*, 2005). Tokom treniranja mreže, pripadnost uzoraka nekoj klasi se ne određuje *a priori*, i na kraju treniranja svaki izlazni neuron M_i je u vezi sa N -dimenzionalnim težinskim vektorom, koji predstavlja klasu. Algoritam za obučavanje prati „winner-take-all” strategiju, ali čuva topologiju ulaznog prostora (Florez Revuelta *et al.*, 2004).

2.7.5. PROMETHEE-GAIA

PROMETHEE (*Preference Ranking Organization Method for Enrichment Evaluation*), u kombinaciji sa GAIA (*Geometrical Analysis for Interactive Aid*), je metoda rangiranja za ograničen broj alternativnih akcija koje se odabiraju i rangiraju na osnovu kriterijuma koji su često protivrečni jedni drugima (Behzadian *et al.*, 2010). PROMETHEE je korišćen kao više-kriterijumska metoda za odlučivanje (*Multicriteria Decision Making Method – MCDM*), da bi se rangirali lokaliteti na osnovu nivoa zagađenja vazduha (Nikolić *et al.*, 2010) i za analizu koncentracija teških metala u prašini pored saobraćajnica (Herngren *et al.*, 2006). Ipak, prema dostupnoj literaturi, PROMETHEE-GAIA nije do sada korišćena u biomonitoringu elemenata u tragovima korišćenjem listova drveća.

PROMETHEE je neparametarska metoda, koja rangira objekte ili akcije na osnovu opsega promenljivih ili kriterijuma (Herngren *et al.*, 2006). Razvio ju je Brans (1982) i uključivala je PROMETHEE I za delimično rangiranje alternativa i PROMETHEE II za kompletno rangiranje alternativa. Par godina kasnije, nekoliko verzija PROMETHEE

metoda, kao što je metoda za grafičko prikazivanje PROMETHEE-GAIA, su razvijene za potrebe složenijih situacija donošenja odluka. Primena PROMETHEE II zahteva prethodno definisanje težinskih kriterijuma i funkcija preferencije, koji prevode razlike između procena dobijenih na osnovu dve alternative u stepen preferencije u opsegu od 0 do 1 (Behzadian *et al.*, 2010). Veća preferencija se označava većom vrednošću u datom opsegu.

Rangiranje alternativa (objekata, uzoraka) korišćenjem PROMETHEE metode se zasniva na poređenju svakog para alternativa za svaki definisani kriterijum. Nakon podešavanja težinskih kriterijuma i izbora funkcija preferencije, koriste se preferencijalni tokovi za međusobno upoređivanje uzoraka, tako da pozitivni tok rangiranja, $\Phi^+(a)$, pokazuje kako je alternativa a rangirana iznad ostalih, dok negativni tok rangiranja, $\Phi^-(a)$, pokazuje kako je alternativa a rangirana ispod ostalih alternativa (Herva i Roca, 2013). Ukupan tok Φ , koji predstavlja razliku između pozitivnih i negativnih tokova, se najčešće koristi za rangiranje alternativa, tako da što je veći ukupan tok alternative, veći je i njen rang u ukupnom poretku, u odnosu na ostale alternative (Herngren *et al.*, 2006).

GAIA predstavlja deskriptivni komplement PROMETHEE rangiranju i pruža vizuelni prikaz sličnosti između uzoraka u tri dimenzije, kojima odgovaraju tri glavne komponente (*principal components*). GAIA mapa odgovara prvim dvema glavnim komponentama sa mogućnošću dodavanja treće komponente, što omogućava prikaz maksimalne količine podataka na mapi. GAIA mapa daje tri glavne vrste informacija (VPSolutions, 2013):

- alternative (objekti ili uzorci koji se rangiraju) su prikazani tačkama,
- kriterijumi (promenljive ili parametri na osnovu kojih se procenjuje rang) su prikazani osama,
- težinski kriterijum (koji određuje značajnost vrednosti promenljivih za rangiranje) je prikazan osom „odluke”.

3. Eksperimentalni deo

3.1. Opis ispitivanog područja

Istraživanje je obavljeno na užem gradskom području Beograda. Beograd se nalazi na Balkanskom poluostrvu, na ušću reka Save u Dunav (geografska širina, $\varphi = 44^{\circ} 49'N$; geografska dužina, $\lambda = 20^{\circ} 27'E$). Nadmorska visina u centru Beograda iznosi 116,75 m, dok se za prosečnu visinu Beograda uzima apsolutna visina Meteorološke opservatorije (132 m). Beograd se nalazi u oblasti umerene kontinentalne klime. Srednja godišnja temperatura vazduha iznosi 11,7 °C, a prosečna godišnja količina vodenog taloga 669,5 mm. Periodi padavina su najčešći u maju i junu mesecu. Karakteristika beogradske klime je i košava, jugoistočni i istočni vetar, koji donosi vedro i suvo vreme. Najčešće duva u jesen i zimu, u intervalima od 2 do 3 dana. Prosečna brzina košave je 25-43 km h⁻¹, a u pojedinim udarima može dostići brzinu do 130 mg kg⁻¹. Smatra se da je košava najveći „prečišćivač” vazduha u Beogradu (<http://www.beograd.rs>, pristupljeno 03.12.2015.).

Grad Beograd, kao glavni grad Republike Srbije, predstavlja centar državne administracije, državnih institucija, kao i većeg broja međunarodnih institucija. Područje Beograda obuhvata 3222 km² i administrativno je podeljeno na 17 gradskih opština. Prema popisu stanovništva iz 2011. godine, na široj teritoriji Beograda živi 1.659.440 stalnih stanovnika (<http://www.beograd.rs/cms/view.php?id=1201>, pristupljeno 03.12.2015.).

Kroz Beograd prolaze dva panevropska saobraćajna koridora (VII i X). Primarnu uličnu mrežu čine autoputevi, gradske magistrale, saobraćajnice I i II reda, i njihova dužina iznosi 881 km, dok sa sabirnim i pristupnim ulicama, ukupna dužina osnovne ulične mreže iznosi 1018 km (http://www.urbel.com/default.aspx?ID=uzb_Program_GIS, pristupljeno 25.11.2015.). Mreža drumskih saobraćajnica nije dovoljno razvijena i izgrađena, što za posledicu ima velika zagušenja u periodima najvećeg intenziteta saobraćaja, posebno na saobraćajnicama koje vode od perifernih gradskih opština ka centralnim, kao i u centralnim gradskim opštinama. Broj registrovanih motornih i priključnih vozila 2006., 2009., 2012. i 2013. godine u Beogradu, prema podacima Republičkog zavoda za statistiku, prikazan je u Tabeli 5. Prema podacima iz 2008. godine, prosečna starost vozila u Beogradu je iznosila 10-15 godina (Prvulović *et al.*, 2008).

Tabela 5. Broj registrovanih motornih i priključnih vozila u Beogradu u 2006., 2009., 2012. i 2013. godini (Republički zavod za statistiku, 2008, 2010, 2014)

	2006.	2009.	2012.	2013.
mopedi	-	-	2945	4367
motocikli	4744	10214	8375	8469
putnički automobili	397843	474756	479685	441648
autobusi	3040	3197	3588	3592
teretna vozila	26270	43918	44425	37146
radna vozila	708	521	926	1034
priključna vozila	4924	6229	6551	6987
vučna vozila	1467	-	4424	4626

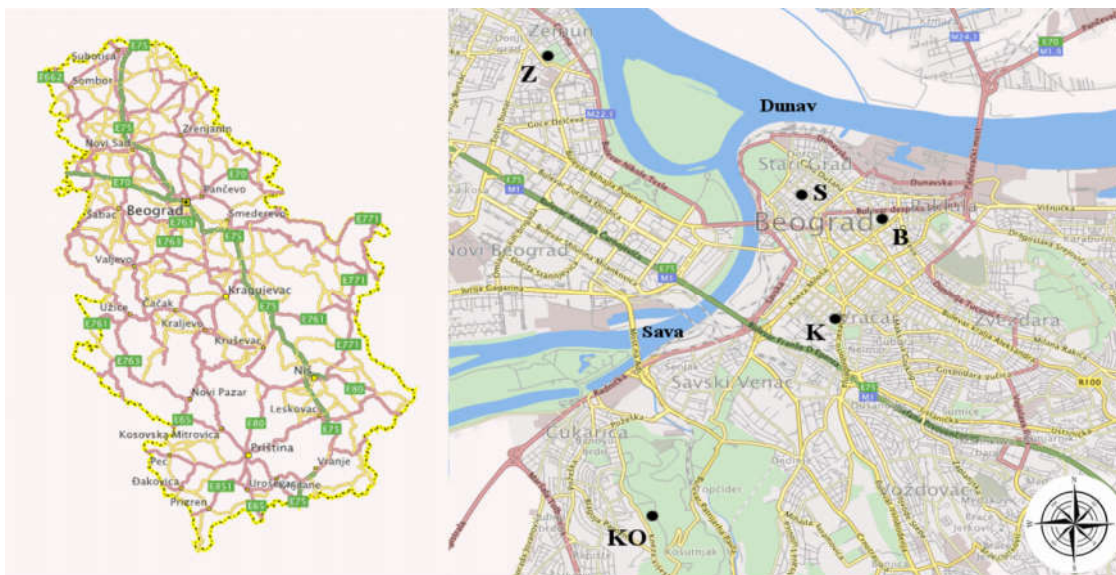
Najznačajniji izvori zagađenja vazduha u Beogradu su:

- saobraćaj – putnički automobili, javni prevoz i transportni saobraćaj, itd.;
- termoelektrična postrojenja – 112 postrojenja, od čega 18 većih toplana koje za rad koriste prirodni gas i/ili sirovu naftu, kao i 59 manjih koje rade uglavnom na sirovu naftu (<http://www.beograd.rs/cms/view.php?id=202150>, pristupljeno 19.10.2015.);
- individualna ložišta – oko 200.000 za vreme grejne sezone u kojima se sagoreva uglavnom ugalj;
- industrijska postrojenja – u rubnim zonama grada.

Na povećanje emisija zagađujućih materija u vazduh iz drumskog saobraćaja utiče korišćenje goriva različitog kvaliteta, visoka prosečna starost automobila i vozila u javnom gradskom prevozu, nedovoljna propusna moć saobraćajnica, itd. U Republici Srbiji je do januara 2011. godine bila dozvoljena upotreba olovnog benzina (koncentracija olova: $0,4 \text{ g l}^{-1}$), mada je i u prethodnim godinama upotreba bezolovnog benzina znatno povećana. Od 1. januara 2016. godine zvanično na snagu stupa uredba koja propisuje mogućnost kupovine novih automobila samo ako ispunjavaju EURO 6 standarde za emisiju štetnih materija, dok će polovni automobili morati da ispunjavaju EURO 4 standarde. To bi značilo da neće biti uvoza vozila starijih od 10 godina (EURO 4 standard je u zemljama EU na snagu stupio 2005. godine, a postao je obavezujući od 1. januara 2006. godine).

3.2. Postavke eksperimenta za biomonitoring – odabir lokaliteta, biljnih vrsta i vremena uzorkovanja

Lokacije na kojima su sakupljani uzorci se nalaze u urbanoj zoni Beograda, pri čemu je posebna pažnja posvećena lokalitetima sa visokim intenzitetom saobraćaja, koji se nalaze u blizini velikih raskrsnica i saobraćajnica i predstavljaju potencijalna žarišta i „crne tačke” zagađenja vazduha u Beogradu. Uzorci su sakupljani u tri parka u centru Beograda: Studentski park, Karađorđev park i Botanička bašta (Slika 16.). Svi lokaliteti se karakterišu velikim prometom saobraćaja, kako putničkog tako i transportnog, sa velikim brojem vozila, sporim kretanjem i čestim usporavanjima i ubrzavanjima. Studentski park se nalazi pored okretnice trolejbusa, dok se Karađorđev park nalazi u blizini trga Dimitrija Tucovića, najprometnijeg kružnog toka u Beogradu, kao i u blizini autoputa. Kod Botaničke bašte su uzorci sakupljani iz okolnih ulica u kojima se odvija saobraćaj, i koje su okružene visokim zgradama. U julu 2009. godine, uzorci su sakupljeni i u Košutnjaku, šumovitoj rekreativnoj oblasti udaljenoj oko 10 km od centra grada. Uzorkovanje 2014. godine je vršeno i u Zemunskom parku, udaljenom oko 6 km od centra grada (Slika 16.).



Slika 16. Mapa oblasti istraživanja sa označenim lokalitetima: B – Botanička bašta, K – Karađorđev Park, S – Studentski Park, Z – Zemunski Park, KO – Košutnjak

Za biomonitoring su korišćeni listovi četiri listopadne vrste drveća, često prisutnih u ovoj oblasti: *Aesculus hippocastanum* L. (divlji kesten), *Tilia* spp. (lipa), *Betula pendula* Roth (evropska bela breza) i *Acer platanoides* L. (norveški javor). Od roda *Tilia*, uzorkovane su dve vrste, *Tilia tomentosa* L. i *Tilia cordata* Mill., u zavisnosti od njihove prisutnosti na pojedinačnim lokalitetima. *T. tomentosa* (srebrna lipa) je češće prisutna od *T. cordata* (sitnolisna lipa) u parkovima u Beogradu. Neke od odabranih vrsta su bile ranije korišćene za biomonitoring elemenata u tragovima u Beogradu (Aničić *et al.*, 2011; Šućur *et al.*, 2010; Tomašević *et al.*, 2008, 2011). Spisak uzorkovanih vrsta, lokaliteta i perioda uzorkovanja je dat u Tabeli 6.

Tabela 6. Spisak uzorkovanih vrsta i perioda uzorkovanja po godinama. M – maj, S – septembar, J – jul

	<i>A. hippocastanum</i>	<i>Tilia</i> spp.	<i>B. pendula</i>	<i>A. platanoides</i>	sezone uzorkovanja
2002.	X	X			M, S
2003.	X	X			M, S
2004.	X	X			M, S
2005.	X	X			M, S
2006.	X	X			M, S
2009.	X	X ¹	X	X	J, S ²
2012.	X ³				S
2014.	X	X	X ⁴	X	M, S

¹uzorkovana je *T. cordata*

²u septembru 2009. je uzorkovana vrsta *A. hippocastanum* na lokalitetima Karađorđev park i Botanička bašta

³uzorkovano je na lokalitetima Karađorđev park i Botanička bašta

⁴*B. pendula* nije uzorkovana na lokalitetu Studentski park

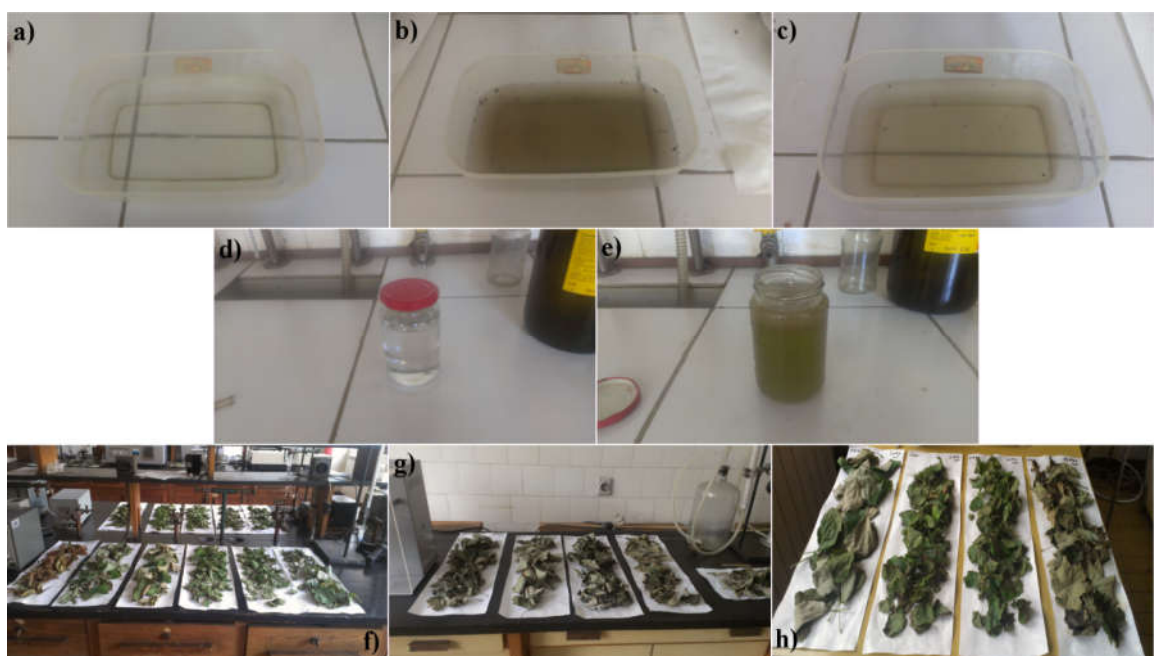
3.3. Uzorkovanje listova i priprema za dalju analizu

Sa svakog lokaliteta je uzimano po pet poduzoraka listova, približno iste starosti, od svake biljne vrste. U zavisnosti od vrste, tj. veličine listova, uzimano je 10 do 30 potpuno razvijenih listova. Listovi su sakupljani sa drveća iz delova parkova orijentisanih na različite strane sveta. Takođe, uzorci su uzimani sa svih strana krošnje. Na taj način je dobijen dobar „prosečan” sastav sa svakog lokaliteta. Raspored drveća u parkovima je bio mešan, sa različitim biljnim vrstama jednim do drugih. Listovi su odsecani makazama od nerđajućeg čelika, sa oko 2 m visine iznad površine zemlje i pakovani su u polietilenske kese. Tokom sakupljanja uzoraka korišćene su polietilenske rukavice.

Upakovani uzorci su transportovani u laboratoriju, gde su odmah dalje pripremani za analizu. Uzorkovanja su vršena 5-7 dana nakon poslednjih padavina.

Uzorci listova su pripremani na više načina (Slika 17.):

- Uzorci sakupljeni u periodu od 2002. do 2006. godine su kratko ispirani (3-5 sekundi) bidestilovanom vodom pre dalje analize.
- Uzorci sakupljeni 2009., 2012. i 2014. godine (osim uzoraka sakupljenih u septembru 2014. u Botaničkoj bašti) su deljeni u dve grupe. Polovina svakog uzorka je dva puta kratko ispirana (3-5 s) bidestilovanom vodom (pH = 6,5) (2009. i 2012. godina) ili dejonizovanom vodom ($18.2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$) (2014. godina) u polietilenskim posudama, dok je druga polovina uzoraka ostala neoprana.
- Uzorci listova sakupljeni u septembru 2014. godine u Botaničkoj bašti su podeljeni u tri grupe. Prve grupa nije tretirana, a druga je dvaput kratko (u trajanju od 3 do 5 sekundi) ispirana dejonizovanom vodom ($18.2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$). Treća grupa je prvo ispirana dejonizovanom vodom na prethodno opisan način, a potom oprana sa 250 ml hloroforma (*Sigma-Aldrich, Chromasolv*, $\geq 99,8 \%$, GC) u trajanju od 40 s.



Slika 17. Priprema uzoraka za analizu: a) deionizovana voda pre ispiranja uzoraka, b) deionizovana voda nakon prvog ispiranja, c) deionizovana voda nakon drugog ispiranja; d) hlороform pre pranja uzoraka, e) hlороform nakon pranja uzoraka; f)-h) sušenje uzoraka u laboratoriji

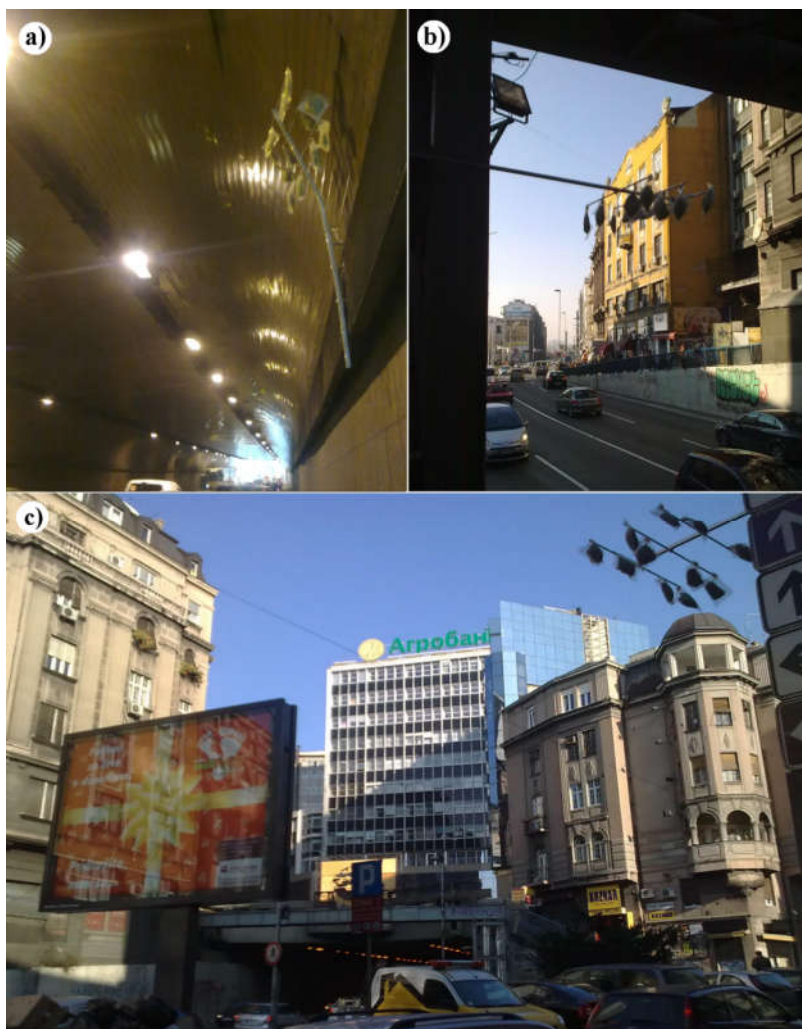
Svi uzorci su prvo sušeni na sobnoj temperaturi u laboratoriji (Slika 17.), a potom u električnoj sušnici na 40-60 °C tokom 24 h. Uzorci su potom sprášeni u ahatnom avanu, spakovani u polietilenske kese i čuvani u stabilnim laboratorijskim uslovima do hemijske analize. Oko $\approx 0,3$ g suve mase uzorka listova je razlagano u mikrotalasnoj pećnici (*SpeedwaveTM MWS-3+*, *Berghof*) korišćenjem 3 mL 65 % HNO_3 (*Suprapure*, *Merck*) i 2 mL 30 % H_2O_2 (*Suprapure*, *Merck*) u trajanju od jednog sata. Od uzoraka sakupljenih u septembru 2009. i 2012. godine je korišćeno $\approx 0,6$ g suve mase uzorka i razlagano sa 5 mL 65 % HNO_3 (*Suprapure*, *Merck*) i 3 mL 30 % H_2O_2 (*Suprapure*, *Merck*). Nakon digestije, dobijeni rastvori uzoraka su razblaživani destilovanom vodom do zapremine od 25 mL.

3.4. Aktivni biomonitoring korišćenjem mahovina

Eksperiment aktivnog biomonitoringa je rađen za potrebe istraživanja primene vrećica sa mahovinom za procenu sadržaja suspendovanih čestica, elemenata u tragovima i policikličnih aromatičnih ugljovodonika u vazduhu u Beogradu (Vuković, 2015; Vuković *et al.*, 2013, 2014). Već pripremljeni rastvori uzoraka mahovina su potom analizirani na ICP-MS instrumentu (Agilent 7500ce) u laboratoriji za ICP-MS na Tehnološko-metalurškom fakultetu Univerziteta u Beogradu, i u njima su određivani koncentracija i odnosi izotopa olova.

Mahovina *S. girgensohnii* je sakupljana krajem maja 2011. godine u netaknutoj močvarnoj oblasti u blizini Dubne, Ruska Federacija. Ova lokacija je odabrana na osnovu rezultata iz prethodnih istraživanja (Aničić *et al.*, 2009a,c). U laboratoriji su gornji zeleni delovi mahovine odvajani i ručno čišćeni, pri čemu je odstranjivana zemlja i ostali otpaci biljnog ili životinjskog porekla. Zatim su mahovine sušene na sobnoj temperaturi i ručno mešane da bi se dobio homogeni uzorak. Oko 3 g mahovine je rastresito pakovano u najlonske mrežaste vrećice, veličine 10 x 10 cm, i sa promerom mreže 2 mm. Da bi se sprečila kontaminacija materijala, za uzorkovanje i pripremu vrećica sa mahovinom su korišćene polietilenske rukavice.

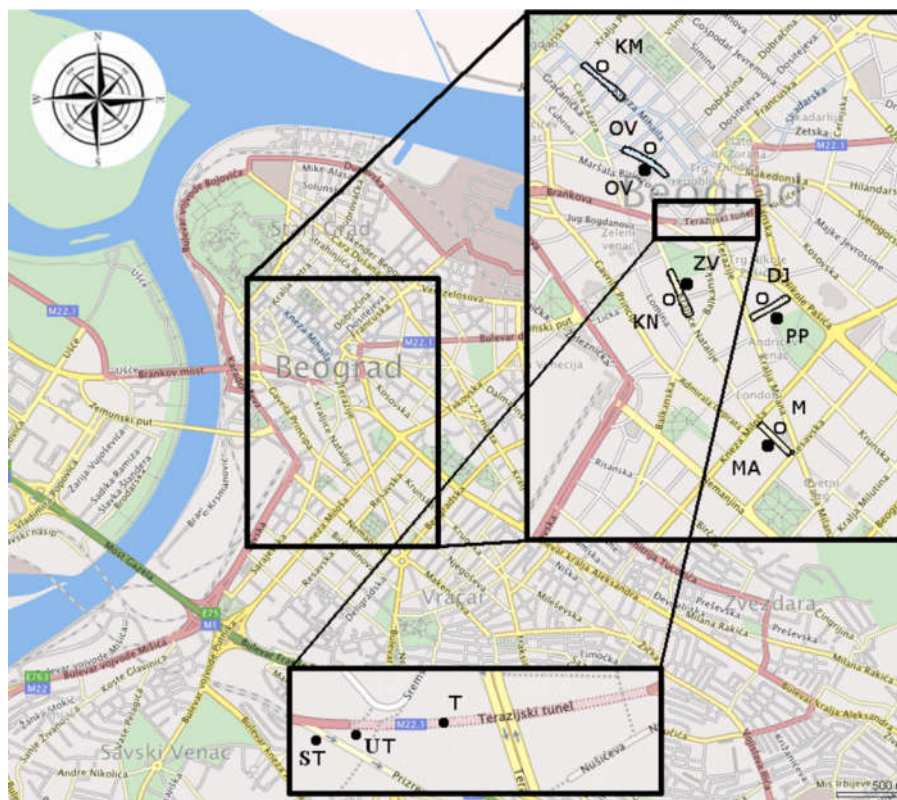
Eksperiment sa vrećicama mahovine je sproveden na tri specifična urbana lokaliteta: a) gradskom tunelu, b) kanjonskim ulicama, i c) javnim garažama. Uzorci mahovina su postavljeni u unutrašnjosti (T) i na ulazu (UT) u Terazijski tunel, kao i u blizini tunela (ST), u Prizrenskoj ulici (Slike 18. i 19.). Uzorci u unutrašnjosti tunela su postavljeni na otprilike 1/3 dužine tunela od ulaza (≈ 100 m) u Prizrenskoj ulici. Vrećice s mahovinama su bile izlagane tokom jeseni i zime 2011./2012. godine, u periodu od 5. novembra 2011. do 20. januara 2012. godine, tj. tokom 10 nedelja. Polovina uzoraka je uklonjenja nakon 5 nedelja izlaganja, dok je druga polovina uzoraka ostavljena do kraja navedenog perioda. Tunel je izabran kao reprezentativni lokalitet za određivanje uticaja saobraćaja na koncentraciju i izotope olova u vazduhu. Protok saobraćaja je meren u unutrašnjosti i izvan tunela, u Prizrenskoj ulici, i iznosio je 1451 vozilo po času (Vuković *et al.*, 2013).



Slika 18. Postavljeni uzorci mahovina kod Terazijskog tunela: a) u unutrašnjosti tunela, b) na ulazu u tunel, c) van tunela, u Prizrenskoj ulici (Vuković *et al.*, 2015b).

Vrećice sa mahovinom su postavljane u četiri kanjonske ulice, Dragoslava Jovanovića (DJ), Masarikova (M), Kraljice Natalije (KN) i Obilićev venac (OV) i pešačkoj zoni – Knez Mihailova ulica (KM) (Slika 19.). U odabranim saobraćajnicama, kanjonskim ulicama, se nalaze i javne garaže i izmereni protok saobraćaja se kretao u opsegu 212-1254 vozilo po času (Vuković *et al.*, 2013). Odabrane kanjonske ulice, prema rasporedu zgrada u njima spadaju u simetrične ulice, jer su zgrade sa obe strane ulice približno iste visine. Jedini izuzetak je Masarikova ulica, koja predstavlja asimetričnu ulicu, jer se na jednoj njenoj strani nalazi zgrada „Beograđanke” koja značajno nadvisuje zgrade na suprotnoj strani ulice. Vrećice sa mahovinama su u kanjonskim ulicama bile izložene na 4 m, 8 m i 16 m visine u trajanju od 10 nedelja tokom leta 2011. godine. Prva visina (4 m) je odabrana kako bi se procenio nivo zagađenja u nivou visine ljudi. S obzirom da ne

postoji standardizovan protokol za postavljanje uzoraka sa ciljem određivanja vertikalne distribucije zagađujućih materija u urbanim sredinama, ostale visine izlaganja uzoraka (8 m i 16 m) su odabrane arbitrarno (Vuković *et al.*, 2013). Udaljenost vrećica s mahovinom od zidova zgrada je bila $\approx 1\text{-}2$ m i uzorci nisu bili u blizini balkona i terasa. Uzorci mahovina u kanjonskim ulicama su bile postavljene na stubove javne rasvete udaljenim 25-30 m od ulaza u javne garaže.



Slika 19. Mapa lokaliteta; kanjonske ulice – prazni krugovi: DJ – Dragoslava Jovanovića, M – Masarikova, OV – Obilićev venac, KN – Kraljice Natalije, KM – Knez Mihailova; javne garaže – puni krugovi: PP – Pionirski park, MA – Masarikova, OV – Obilićev venac, ZV – Zeleni venac; i Terazijski tunel – puni krugovi: ST – van (spoljašnjost) tunela, UT – ulaz u tunel, T – unutrašnjost tunela.

Uzorci mahovina u vrećicama su postavljani i u javnim garažama koje se nalaze u odabranim kanjonskim ulicama – Pionirski park (PP), Masarikova (MA), Zeleni venac (ZV) i Obilićev venac (OV) (Slika 19.). Odabrane javne garaže se razlikuju po veličini i strukturi: Pionirski park je podzemna garaža, Masarikova ima i podzemne i nadzemne delove, a Zeleni venac i Obilićev venac su nadzemne garaže, pri čemu je ZV polu-zatvorena, a OV je otvorena garaža. Sve garaže imaju samo jedan ulaz/izlaz za automobile. U garažama su vrećice bile postavljene u blizini rampi i u unutrašnjosti garaža na 2,5 m visine u trajanju od 10 nedelja tokom jeseni i zime 2011./2012. godine. Mesto izlaganja uzoraka pored rampe je izabrano jer je tu očekivan najveći protok automobila, dok u unutrašnjosti garaže uglavnom ne postoji adekvatna ventilacija.

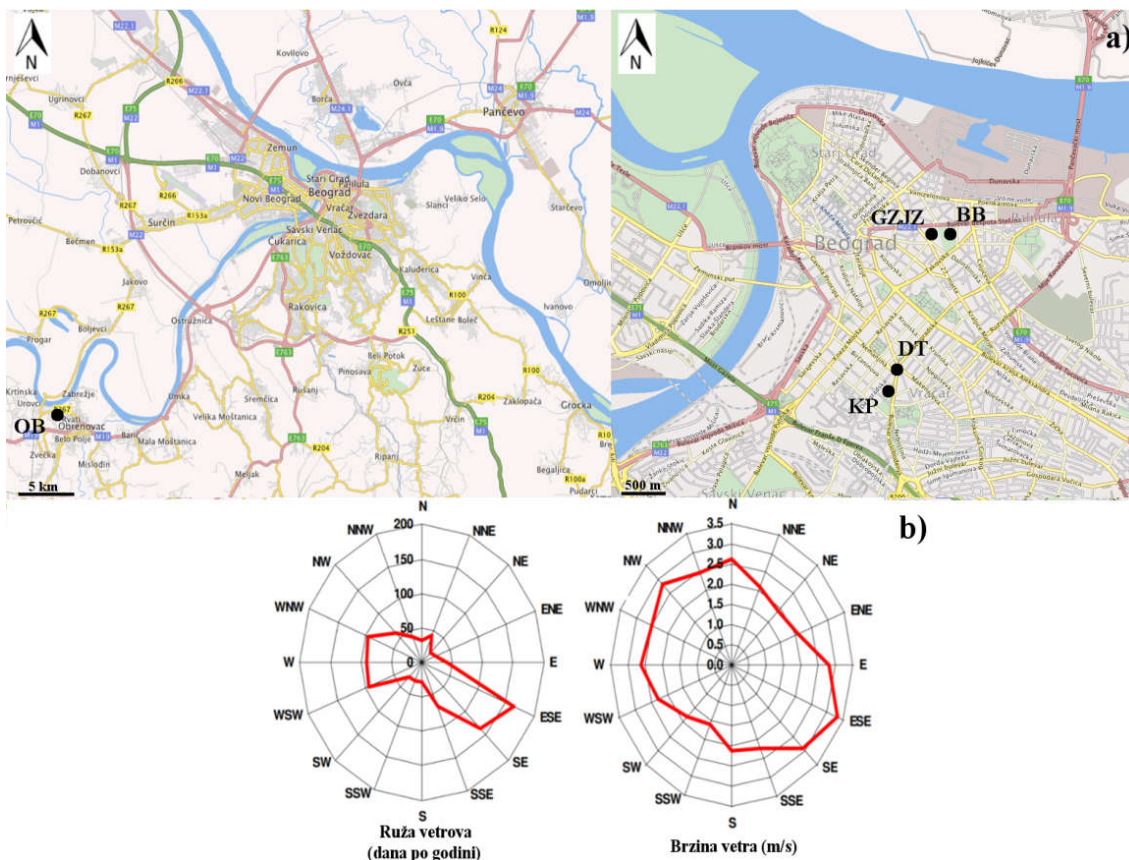
Ukupno 12 vrećica sa mahovinama je postavljeno na svim odabranim lokalitetima i pozicijama. Broj poduzoraka je izabran da bi se obezbedio dovoljan broj podataka za pouzdanu statističku analizu. Pored toga vetar i/ili kiša ili drugi neočekivani problemi su mogli da dovedu do uklanjanja vrećica s mahovinom. Nakon izlaganja uzoraka mahovina, broj poduzoraka koji su analizirani je bio 8, jer je sa svakog lokaliteta nedostajao određen broj uzoraka.

Nakon eksperimenta, uzorci mahovina su sušeni na vazduhu u čistim laboratorijskim uslovima. Oko 0,3 g homogenizovanog uzorka mahovine je razlagano u mikrotalasnoj pećnici (*MILESTONE ETHOS 1*) uz pomoć 7 ml 65 % HNO_3 (*Sigma Aldrich*) i 1 ml of 30 % H_2O_2 (*Sigma Aldrich*) na 200 °C u trajanju od 45 minuta. Dobijeni rastvori uzoraka su dopunjeni destilovanom vodom do zapremine od 50 ml.

3.5. Uzorkovanje čestica iz vazduha i određivanje koncentracija teških metala u filterima

Uzorkovanje čestica iz vazduha i odabir elemenata su izvršeni u skladu sa Pravilnikom o graničnim vrednostima, metodama merenja imisije, kriterijumima o uspostavljanju mernih mesta i evidenciji podataka i Uredbom o uslovima za monitoring i zahtevima kvaliteta vazduha Vlade Republike Srbije (Vlada Republike Srbije, Službeni glasnik 54/92, 30/99, 19/06, 11/10 i 75/10), kao i dva pravilnika o kvalitetu vazduha koji su na snazi u Evropskoj uniji (European Commission, Directive 2004/107/EC, 2008/50/EC). Uzorkovanje čestica iz vazduha (PM₁₀) je obavljeno korišćenjem tri automatske stanice

za kontinuirano praćenje kvaliteta vazduha, kod Gradskog zavoda za javno zdravlje, na trgu Dimitrija Tucovića, i u Obrenovcu, u blizini termoelektrane „Nikola Tesla” (TENT), oko 30 km jugozapadno od centra Beograda (Slika 20.). Automatske stanice predstavljaju deo mreže mernih stanica Gradskog zavoda za javno zdravlje (Tabela 7.), koje obavlja merenje imisije zagađujućih materija u vazduh, prema Programu kontrole kvaliteta vazduha u Beogradu, koji se uspostavlja na dvogodišnjem nivou i objavljuje u Službenom listu grada Beograda, i Uredbe Vlade Republike Srbije o utvrđivanju Programa kontrole kvaliteta vazduha (Vlada Republike Srbije, Službeni glasnik 23/06, 58/11). Programom kontrole kvaliteta vazduha obuhvaćeno je sistematsko merenje osnovnih zagađujućih materija (čad, SO₂, NO₂, CO, O₃, suspendovane čestice prečnika od 10 µm (PM10) i taložne materije iz vazduha koje nastaju u procesu padavina) i povremeno merenje specifičnih zagađujućih materija poreklom iz stacionarnih izvora. Izbor mernih stanica, metode uzorkovanja i metode određivanja u skladu su sa Pravilnikom o graničnim vrednostima, metodama merenja imisije, kriterijumima za uspostavljanje mernih mesta i evidenciju podataka (Službeni glasnik RS br. 54/92, 30/99 i 19/06) i EU direktivama (European Commission, Directive 96/62/EC, 97/101/EC, 2000/69/EC, 2002/3/EC; European Economic Community, 1210/90).



Slika 20. a) Merne stanice za monitoring kvaliteta vazduha, OB – Obrenovac, GZJZ – Gradski zavod za javno zdravlje, DT – Trg Dimitrija Tucovića, i njihov položaj u odnosu na mesta uzorkovanja listova, BB – Botanička bašta, KP – Karadorđev park; b) Godišnja ruža vetrova i brzina vetra za područje Beograda

Merne stanice Gradski zavod za javno zdravlje i Trg Dimitrija Tucovića su odabrane da bi se indirektno mogli uporediti rezultati referentnog monitoringa elemenata u tragovima u česticama u vazduhu sa rezultatima biomonitoringa na lokalitetima Botanička bašta i Karadorđev park, koji se nalaze u blizini navedenih mernih stanica (Slika 20.).

Tabela 7. Merne stanice zagađujućih materija u vazduhu sa njihovim osnovnim karakteristikama (Gradski zavod za javno zdravlje, 2010)

Godina uzorkovanja	2006., 2009. i 2012. godina		2013. godina
Merne stanice	Trg Dimitrija Tucovića „Slavija”	Bulevar Despota Stefana (GZJZ ¹)	Obrenovac
Geografske koordinate	44°48'03,5" 20°27'57,8"	44°49'67,8" 20°47'03,6"	44°40'08,8" 20°11'49,3"
Tip područja	urbano	urbano	urbano
Tip stanice	saobraćaj	saobraćaj/grejanje	industrija
Tip zone	SP ²	SP	P ³
Reprezentativnost za izloženost	populacije	populacije	populacije

¹GZJZ – Gradski zavod za javno zdravlje

²SP – gusto naseljeni stambeno poslovni centar grada s individualnim ili centralnim grejanjem

³P – područje porodičnih kuća s vrtovima, male ili srednje gustine naseljenosti, individualno grejanje

Uzorkovanje PM₁₀ je obavljeno po pravilniku Republike Srbije (Vlada Republike Srbije, Službeni glasnik 11/10 i 75/10), 24 h svakog dana tokom cele godine, nakon čega su uzorci filtera analizirani u laboratoriji Gradskog zavoda za javno zdravlje. Korišćeni su uzorkivači LVS3 i MVS6 (eng. *low volume sampler* i *medium volume sampler; small filter device, Sven Leckel*), podešeni na protok vazduha od 2,3 m³ h⁻¹. Analizirani su filteri kroz koje je propuštana određena zapremina vazduha (55,2 m³) i koncentracija PM₁₀ je određivana gravimetrijski (EN 12341, 1998), dok su koncentracije teških metala (As, Cd, Cr, Ni i Pb) su merene na ICP-MS instrumentu (EPA, O-3.5, 1999). Uzorci sa merne stanice Obrenovac su korišćeni za određivanje koncentracija i odnosa izotopa olova, koji su izmereni na ICP-MS instrumentu (Agilent 7500ce) u laboratoriji za ICP-MS na Tehnološko-metalurškom fakultetu Univerziteta u Beogradu.

3.6. Određivanje koncentracija elemenata i odnosa izotopa olova u uzorcima

Pre merenja svi rastvori uzoraka su filtrirani na filteru poroznosti 0,45 µm, kako bi se odstranile eventualno prisutne nečistoće, koje bi mogle dovesti do začepljenja cevčica na sistemu za unošenje uzoraka u instrument. Izvršena je i provera pH vrednosti uzoraka i za sve uzorke je bila niža od 2.

Koncentracije elemenata u uzorcima su određivane iz tečnih rastvora uzoraka korišćenjem ICP-MS instrumenta Agilent 7500ce sa oktopolnom reakcionom ćelijom

(*Octopole Reaction System* – ORS) u modu za merenje tačnih koncentracija elemenata (eng. *FullQuant mode*). Optimizacija instrumenta je urađena korišćenjem rastvora za podešavanje (*Tuning solution* – *Agilent*) sa 1 µg L⁻¹ Li, Mg, Co, Y, Ce i Tl. Kalibracija ICP-MS instrumenta je urađena korišćenjem *Fluka Multielement Standard Solution IV*, sa 6 standardnih rastvora. Standardni rastvori i slepe probe su pripremani sa 2 % HNO₃. Spisak elemenata merenih u uzorcima je dat u Tabeli 8. Opsezi koncentracija elemenata u slepoj probi i standardnim rastvorima su iznosili 0-5 mg L⁻¹ (Cd, Co, Mn, Mo, Sb, Sr), 0-10 mg L⁻¹ (Cr, Cu, Ni), 0-20 mg L⁻¹ (Al, As, Ba, Pb, V) i 0-50 mg L⁻¹ (Fe, Zn). U zavisnosti od koncentracije elemenata u uzorcima i kalibracije instrumenta, određeni uzorci su razblaživani sa 2 % HNO₃.

Tabela 8. Elementi čiji je sadržaj određivan u biljnim uzorcima.

Godina uzorkovanja /izlaganja	Vreme uzorkovanja/izlaganja	Tip uzorka	Određivani elementi	Izotopi olova ¹
2002.-2006.	maj i septembar	listovi	As, Cd, V, Pb	X
2009.	jul	listovi	Al, As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Sr, V, Zn	X
2009.	septembar	listovi	As, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Pt, Zn	
2011./2012.	leto 2011, jesen i zima 2011./2012.	mahovine	Pb	X
2012.	septembar	listovi	As, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Pt, Zn	
2014.	maj i septembar	listovi	Al, As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Pb, Sb, Sr, V, Zn	

¹Izotopi olova su označeni samo za uzorke u kojima su mereni.

Granice detekcije su računate prema Agilent metodi za LOD (eng. *limit of detection*) (Agilent Technologies, 2006):

$$LOD = \frac{(3\sigma \times \text{koncentracija standardnog rastvora})}{(S - B)} \quad (17)$$

gde je σ standardna devijacija udara prilikom merenja slepe probe, S je broj udara rastvora koncentracije 10 ppb, a B je broj udara slepe probe.

Da bi se dobio nivo pouzdanosti od 95 %, potrebno je ponoviti merenje 7 puta. Vrednosti granica detekcije merenih elemenata su date u Tabeli 9.

Tabela 9. Granice detekcije (LOD) ICP-MS tehnike za određivane elemente

Element	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Al	0,040
As	0,015
Ba	0,012
Cd	0,002
Cr	0,015
Co	0,001
Cu	0,005
Fe	4,100
Mn	0,098
Ni	0,022
Pb	0,005
Pt	0,02
Sr	0,163
V	0,001
Zn	0,200

Merenja svih uzoraka su vršena u 3 ponavljanja i srednje vrednosti su izračunate na osnovu vrednosti analiziranih poduzoraka. Dobijeni rezultati su računati po jedinici suve mase.

Kontrola kvaliteta metode razlaganja uzoraka mikrotalasnom digestijom je izvršena analizom standardnog referentnog materijala, *lichen-336 (IAEA)* i procenat prinosa (eng. *recovery*) je bio u opsegu 60-120 % sertifikovanih vrednosti (Tabela 10.).

Tabela 10. Izmerene koncentracije elemenata u tragovima u uzorcima i u referentnom materijalu – lišaj-336 (*lichen-336, IAEA*)

Element	Referentna vrednost ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Izmerena vrednost ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Prinos (%)
Al	680	571,2	84
As	0,63	0,76	120
Ba	6,4	5,1	80
Cd	0,117	0,077	66
Co	0,29	0,23	78
Cr	1,06	1,03	97
Cu	3,6	3,64	101
Fe	430	366	85
Mn	63	55	88
Pb	4,9	5,5	112
Sb	0,073	0,071	97
Sr	9,3	8,6	92
V	1,47	1,03	70
Zn	30,4	18,2	60

Referentni materijal NIST 1643e (*Trace elements in water – National Institute of Standards and Technology*) je korišćen za određivanje preciznosti merenja koncentracija elemenata u uzorcima. Dobijena su dobra poklapanja između referentnih i eksperimentalno određenih vrednosti koncentracija (Tabela 11.).

Tabela 11. Izmerene koncentracije elemenata u tragovima u uzorcima i referentnom materijalu NIST 1643e

Element	Referentna vrednost ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Izmerena vrednost ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Preciznost merenja (%)
Al	141,8	133,48	94
As	60,45	58,08	96
Ba	544	572,25	105
Cd	6,568	6,157	94
Co	27	24,57	91
Cr	20,4	19,48	95
Cu	22,76	22,31	98
Fe	98,1	92,12	94
Mn	38,97	35,1	90
Mo	121,4	111,32	92
Ni	62,41	66,88	107
Pb	19,63	19,89	101
Sb	58,3	60,3	103
Sr	323,1	316,5	98
V	37,86	38,38	101
Zn	78,5	75,36	96

Pored izmerenih elemenata navedenih u Tabeli 8., za statističke analize su korišćeni i podaci o koncentracijama Cr, Fe, Ni, Cu, Zn i Pb u uzorcima listova sakupljenim od 2002. do 2006. godine, izmerenim ICP-OES tehnikom na instrumentu *SpectroGenesis EOP II*, *Spectroanalytical Instruments GMBH* (Aničić *et al.*, 2011).

Koncentracije i odnosi izotopa olova u uzorcima su takođe mereni korišćenjem ICP-MS instrumenta, u modu za određivanje izotopa (eng. *Isotope Analysis Mode*). Urađena je eksterna korekcija da bi se utvrdila preciznost merenja odnosa izotopa olova i odredili korekcionni faktori zbog *mass bias* („diskriminacija na osnovu mase”) efekta u ICP-MS instrumentu. *Mass bias* se može definisati kao odstupanje izmerenih odnosa izotopa od njihove „stvarne vrednosti” zbog različitog prenosa jona kroz instrument do detektora, usled njihovih različitih masa. Preciznost merenja odnosa izotopa je određena analiziranjem 5 µg L⁻¹ rastvora standarda izotopa NIST SRM 981 (*Common Lead Isotopic Standard – National Institute of Standards and Technology*) i iznosila je ±0,30 %. Korekcionni faktori su automatski preračunati za odnose ²⁰⁶Pb/²⁰⁴Pb, ²⁰⁷Pb/²⁰⁶Pb i ²⁰⁸Pb/²⁰⁷Pb i iznosili su 1,0217, 0,9925 i 0,9968, redom.

3.7. Određivanje koncentracije platine u uzorcima

Koncentracija platine je određivana u uzorcima listova sakupljenih 2009. i 2012. godine, ICP-MS metodom, u *FullQuant* modu. Za uklanjanje interferenci su korišćene matematičke korekcije, koje su se pokazale kao zadovoljavajuća metoda prilikom određivanja koncentracije platine u biljnim uzorcima metodom ICP-MS (Djingova *et al.*, 2003).

U analitičkoj hemiji, interferenca je pojava koja se javlja usled prisustva neke supstance u uzorku, drugačije od one koja se ispituje, koja može da se meri odabranom analitičkom tehnikom i onemogućava merenje ispitivane supstance, zbog čega nastaju greške u analitičkim rezultatima. Najčešća su spektralna preklapanja, poliatomske ili molekularne spektralne interference, koje nastaju kao produkt kombinacije dva ili više jona. Uzroci su plazma gas, komponente matrice u rastvoru i uzorku, drugi elementi analita, O ili N dospeli iz vazduha, itd. Često se javljaju i dvostruko naelektrisanje interference, u čijem slučaju se formira jon sa dvostrukim pozitivnim naelektrisanjem i stvara se pik na polovini njegove mase, ili izobarske interference, kada izotopi drugih elemenata u

uzorku stvaraju interference na istoj masi kao analit. U slučaju platine, koja se meri na masi 195, interferencu predstavlja hafnium, ^{179}Hf , čiji oksid $^{179}\text{Hf}^{16}\text{O}$ ima istu masu kao i ^{195}Pt . Stoga se, za tačno i precizno određivanje koncentracije Pt mora otkloniti interferenca Hf.

Jedan od često korišćenih načina da se uklone uticaji interference su matematičke korekcije. Princip podrazumeva da se meri izotop interference na drugoj masi i vrši se korekcija, jer se zna odnos intenziteta interference u masi analita i na alternativnoj masi. Dakle, da bi se dobio samo signal Pt na masi 195 (odnosno broj udara u detektor u sekundi – *counts per second, cps*) potrebno je od ukupnog signala na toj masi oduzeti signal Hf:

$$S_{Pt} = S_{195} - S_{int} \quad (18)$$

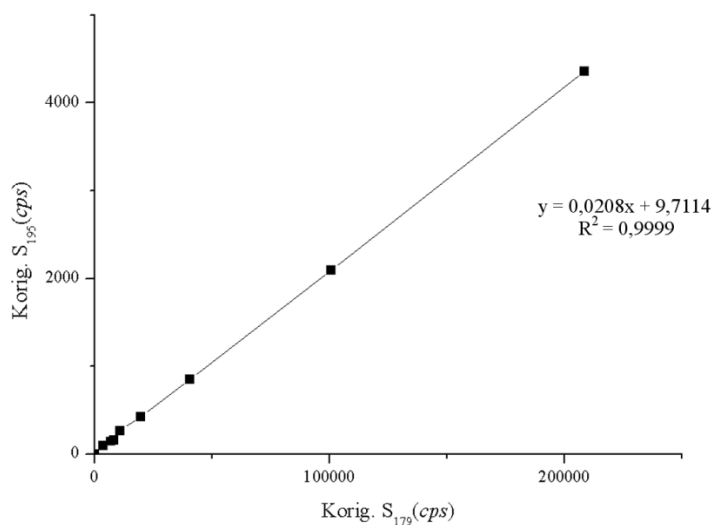
gde je S_{Pt} korigovani signal Pt, S_{195} signal na masi 195, a S_{int} signal interference Hf na masi 195.

Da bi se odredio signal interference Hf, potrebno je odrediti signale Hf na masi 179 i na masi 195 i utvrditi njihovu korelaciju. Svrha ove korelacije, pored određivanja korekcione jednačine za izračunavanje signala Pt, je da se utvrdi da li interference na signalu 195 potiču samo od Hf ili je prisutna i neka druga interference. Naime, ako je dobijena korelacija Hf na masama 179 i 195 linearna, tj. ako je $R^2 = 1$, interference potiču samo od Hf.

Da bi se odredila jednačina za korekciju, pravljena je serija rastvora poznate koncentracije Hf, korišćenjem standarda Hf (*AccuStandard Hafnium ICP-23N-1*) (Tabela 12.). Signali izmerenih standardnih rastvora su korigovani signalima slepe probe i određena je njihova korelacija (Slika 21.).

Tabela 12. Merenje signala Hf na masama 179 i 195

Konc. standarda Hf	Signal (broj udara u detektor – cps)		Korigovani signal (broj udara u detektor – cps)	
	S_{179} (^{179}Hf)	S_{int} (195 int. – $^{179}\text{Hf}^{16}\text{O}$)	korig. S_{179} ($S_{179} - S_0$)	korig. S_{int} ($S_{\text{int}} - S_0$)
slepa proba (S_0)	201	14	0	0
0,1 ppb	3753	106	3552	92
0,2 ppb	7129	159	6928	145
0,25 ppb	8465	169	8264	155
0,3 ppb	10974	278	10773	264
0,5 ppb	19977	441	19776	427
1 ppb	40823	866	40622	852
2,5 ppb	100866	2110	100665	2096
5 ppb	208786	4370	208585	4356



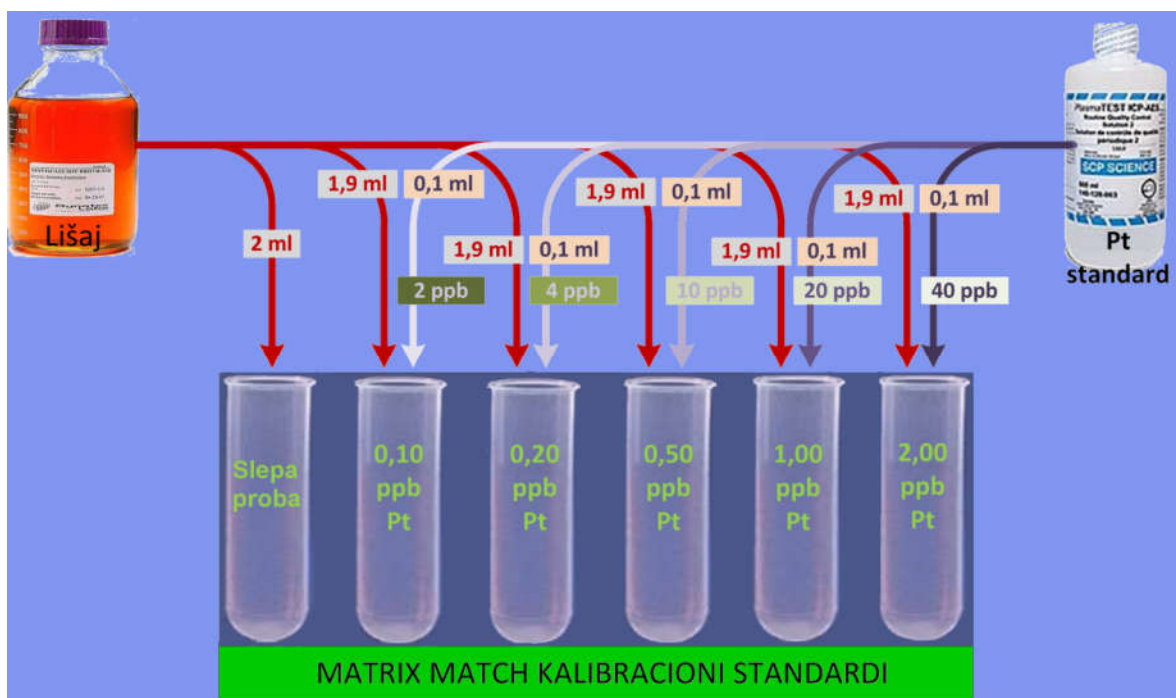
Slika 21. Korelacija Hf na masama 179 i 195.

S obzirom da je $R^2 \approx 1$, interference na masi 195 potiču samo od Hf. Dobijena formula linearne zavisnosti predstavlja signal interference Hf na masi 195 i dalje se implementira u jednačinu za određivanje signala Pt u uzorku (18):

$$S_{Pt} = S_{195} - S_{\text{int}} = S_{195} - 0,0208 \times S_{179} - 9,7 \quad (19)$$

Određivanje niske koncentracije platine u uzorku kompleksne matrice, kakav je biljni materijal, zahteva primenu odgovarajućih koraka u pripremi uzoraka. Da bi se eliminisao uticaj matrice, pravljeni su *matrix match* kalibracioni standardi. *Matrix match*

standardi podrazumevaju rastvore slične matrice kao što su uzorci koji se analiziraju, što omogućava smanjenje uticaja matrice uzorka na kvalitet rezultata. Za pripremu standarda je korišćen rastvor referentnog materijala lišaja (*lichen-336, IAEA*), koji ne sadrži platinu, u koji su dodavane odgovarajuće koncentracije standarda platine (*AccuStandard Platinum ICP-42H-10X-1*), da bi se dobilo potrebno razblaženje (Slika 22.). Granica detekcije Pt je bila 0,3 ng g⁻¹. Koncentracije platine u uzorcima listova su izražene po jedinici suve mase.



Slika 22. Pravljenje *matrix match* kalibracionih standarda.

3.8. SEM-EDS analiza

Skenirajuća elektronska mikroskopska analiza (SEM) je izvršena korišćenjem *Jeol JSM-5800* instrumenta sa energo-disperzivnim spektroskopskim detektorom (EDS) za analizu hemijskog sastava čestica nađenih na površini listova sakupljenih u septembru 2014 u Botaničkoj bašti. Uzimani su isecci veličine 5x5 mm sa svežih netretiranih listova i postavljani su na podloge za uzorke sa dvostrano-lepljivom trakom. Potom su sušeni na sobnoj temperaturi u čistoj prostoriji. Pripremana su četiri uzorka, i sa lica i sa naličja lista, za svaku vrstu. Uzorci su prekriveni tankim slojem zlata da bi se osigurala provodljivost uzoraka i omogućila analiza morfologije i karakterizacija uzoraka. Za prevlačenje isečaka uzoraka listova tankim slojem zlata korišćen je *Polaron SC502*

raspršivač. Instrument je radio na 20 kV. Oko 20 nasumično odabranih polja je odabrano za analizu i posmatrana su sa različitim uveličanjem. Kalibracija EDS detektora je urađena merenjem standarda nikla. Pored elementarne analize čestica, rađena je i elementarna analiza površine listova, da bi se odredio sadržaj elemenata u površinskom sloju listova. Nasumično je određeno oko 10 tačaka u okviru svakog polja na površini lica i naličja svakog uzorka lista i urađena je EDS analiza u tim tačkama. Sadržaj elemenata je dat u %.

3.9. Statistička analiza

3.9.1. Formiranje klasa i klastera uzoraka – SON i SOM

3.9.1.1. Pretpriprema podataka

S obzirom na to da su neki od merenih elemenata esencijalni sastojci tkiva biljaka, neophodno je napraviti razliku između onoga što se može smatrati prirodnim nivoom elemenata u biljci i antropogenog doprinosa odabranih elemenata. Koncentracije elemenata u tragovima u listovima *A. hippocastanum* i *Tilia* spp. su normalizovane u odnosu na vrednosti tih elemenata u „Referentnoj biljci“ (RB) (Markert, 1992), da bi se odredio samo antropogeni doprinos elementima u tragovima u uzorcima. Stoga, faktori zagađenja (F_z) su izračunati kao odnos izmerenih koncentracija pojedinačnih elemenata i sadržaja tih elemenata u RB:

$$F_z = \frac{C}{C_{ref}} \quad (20)$$

gde je C koncentracija elementa izmerena u uzorku, a C_{ref} je koncentracija tog elementa u RB.

Pored toga, sve ulazne vrednosti su normalizovane u opsegu 0-1, pre nego što su na njih primenjeni SON/SOM algoritmi, da bi se osiguralo da sve promenljive budu od istog značaja prilikom formiranju SON/SOM (Kalteh *et al.*, 2008).

3.9.1.2. Samoorganizujuće mreže – SON

Formiranje klasa uzoraka na osnovu ukupnog opterećenja elementima u tragovima u njima je vršeno korišćenjem SON-a. SON se sastoji od dva sloja, pri čemu ulazni sloj sadrži N neurona koji odgovaraju broju promenljivih (u ovom slučaju broj merenih elemenata), dok izlazni sloj sa M neurona, koji odgovaraju broju klasa u koje su uzorci raspoređeni.

SON analiza je primenjena na uzorke sakupljene od 2002. do 2006. godine i na uzorke sakupljene 2014. godine. U analizi uzoraka iz 2002.-2006. godine ulazni sloj je sadržao 9 neurona (As, Cd, Cr, Cu, Fe, Ni, Pb, V, Zn), dok je u analizi uzoraka iz 2014. godine, ulazni sloj imao 15 neurona (Al, As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Sb, Sr, V, Zn). U oba slučaja izlazni sloj je sadržao tri neurona, tj. klase SON-a, koje su određene različitim nivoom zagađenja, tj. opterećenja elementima u tragovima.

ANOVA test sa *Duncan post hoc* testom ili *Kruskal-Wallis* test, u zavisnosti da li podaci imaju normalnu raspodelu ili ne, su korišćeni za određivanje značajnosti razlika ($p < 0,05$) između SON klasa u pogledu koncentracija elemenata u uzorcima listova, u zavisnosti od prostornih i vremenskih varijacija tokom perioda istraživanja.

3.9.1.3. Samoorganizujuće mape – SOM

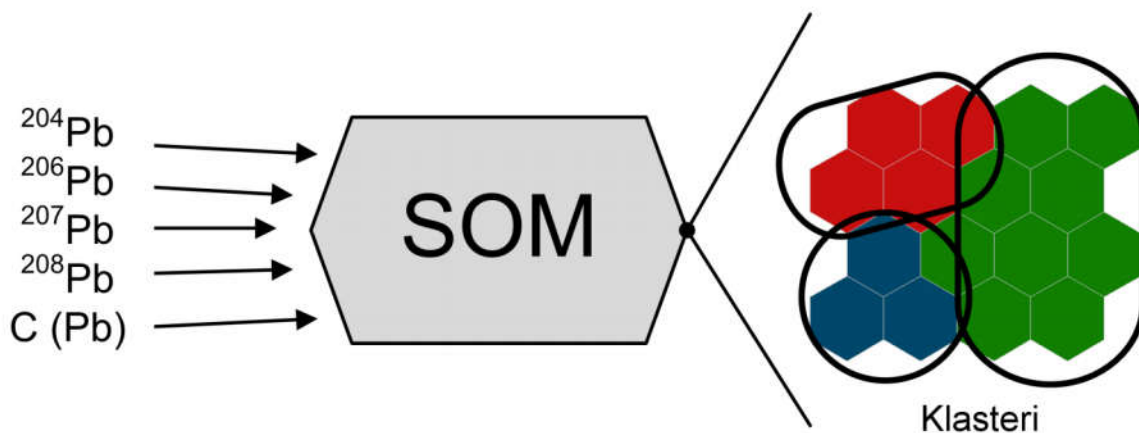
Za grupisanje uzoraka na osnovu njihove međusobne sličnosti u sadržaju elemenata u tragovima korišćen je SOM. SOM ima dva sloja neurona: ulazni sloj se sastoji od jednog neurona za svaku promenljivu i dvodimenzionalni izlazni sloj, koji se sastoji od jedinica mape prikazanih u obliku heksagonalnog saća. Ulazni sloj je potpuno povezan sa dvodimenzionalnim slojem (Kiang, 2001). Broj izlaznih neurona (jedinica na mapi), koji određuje preciznost i mogućnost uopštavanja SOM-a, se često određuje korišćenjem sledeće formule (Mari *et al.*, 2010):

$$M = 5\sqrt{n} \quad (21)$$

gde je M broj jedinica mape, a n je broj uzoraka za treniranje.

Korišćenje formule za odabir broja izlaznih neurona omogućuje smanjenje topografske i kvantizacijske greške.

Broj neurona u ulaznom sloju, tj. broj analiziranih promjenljivih se razlikovao u zavisnosti od potreba istraživanja. Prilikom određivanja prostornih i/ili vremenskih obrazaca u koncentracijama elemenata u uzorcima listova, broj neurona u ulaznom sloju je odgovarao broju elemenata koji se ispituju, kao i u slučaju SON-a (9 za uzorke sakupljene od 2002. do 2006. godine i 15 za uzorke sakupljene 2014. godine). Osim toga, SOM je primenjen i za identifikaciju i diferencijaciju izotopa olova, pri čemu je ulazni sloj imao pet neurona: doprinosi četiri izotopa olova (^{204}Pb , ^{206}Pb , ^{207}Pb i ^{208}Pb) i koncentracija olova (Slika 23.).



Slika 23. Šematski prikaz primene SOM-a za analizu izotopa i koncentracije olova.

SOM je primenjen za analizu izotopa u uzorcima listova (sakupljenim 2002. do 2006. godine i 2009. godine) i u uzorcima mahovinama izloženih u urbanoj sredini (2011. godina).

Za analizu je korišćena SOM implementacija (*Neural Network Toolbox*) koja je dostupna na Mathworks (2011).

3.9.2. Rangiranje uzoraka – PROMETHEE-GAIA i PMC

3.9.2.1. PROMETHEE-GAIA

Uzorci listova sakupljeni 2014. godine su rangirani na osnovu ukupnog opterećenja elementima u tragovima u njima, tj. koncentracija svih elemenata korišćenjem metode PROMETHEE. Prilikom podešavanja parametara, za funkciju preferencije je odabrana funkcija V oblika (kriterijum sa linearnom preferencijom) za sve promjenljive i najviša

koncentracija svake promenljive je ustanovljena kao prag, tako da se svaka vrednost promenljive koja je niža od ovog praga posmatra kao značajna u analizi (Herngren *et al.* 2006). Vrednosti težinskih koeficijenata (Tabela 13.) su izračunati na osnovu koncentracija posmatranih elemenata u „Referentnoj biljci” (RB) (Markert, 1992), kao mere njihovog antropogenog obogaćenja, uzimajući u obzir postavljene pragove. Najviša vrednost nekog od elemenata u RB je ustanovljena kao najniža vrednost težinskog kriterijuma. Stoga, težinski koeficijenti oslikavaju relativni značaj vrednosti RB za svaki element i redosled prioriteta na osnovu njihove količine u životnoj sredini.

Tabela 13. Parametri za rangiranje PROMETHEE tehnike

Elementi (kriterijumi)	Funkcija preferencije	P_i^a (mg kg ⁻¹)	C_{RP}^b (mg kg ⁻¹)	Težinski koeficijenti (W) ^c
Al	V oblik	539	80	0,03
V		3,67	0,5	4,04
Cr		4,71	1,5	1,35
Mn		555,6	200	0,01
Fe		764	150	0,01
Co		0,52	0,2	10,10
Ni		4,53	1,5	1,35
Cu		38,09	10	0,2
Zn		79,5	50	0,04
As		1,68	0,1	20,19
Sr		110,6	50	0,04
Cd		0,08	0,05	40,39
Sb		3,12	0,1	20,19
Ba		51	40	0,05
Pb		3,06	1	2,02

^amaksimalna koncentracija

^bkoncentracija u RB (Markert, 1992)

^cizračunati korišćenjem sledeće jednačine $W_i = \frac{C_{RP}^{\max} / C_i}{\sum C_{RP}^{\max} / C_i} \cdot 100$

*pragovi – apsolutni

Za vizuelni prikaz rangiranih uzoraka, korišćen je PROMETHEE-ev vizuelni komplement – GAIA. Nivo kvaliteta 2D GAIA analize je bio 76,4 % (pouzdan nivo kvaliteta je iznad ili oko 70 %).

3.9.2.2. Srednja verovatna koncentracija – PMC

Pored korišćenja PROMETHEE-a, dodatno rangiranje uzoraka je vršeno na osnovu srednje verovatne koncentracije (*Probable Mean Concentration* – PMC). PMC predstavlja koncentraciju zagađujućeg jedinjenja iznad koje se očekuje da se često javljaju štetni efekti (MacDonald *et al.*, 2000). Uglavnom se koristi za procenu kontaminacije sedimenata u vodenim ekosistemima, jer daje dobru osnovu za predviđanje toksičnosti sedimenata. PMC je računata na osnovu prilagođene formule iz MacDonald *et al.* (2000):

$$PMC = 1/n \sum (C_1 + C_2 + \dots + C_n) \quad (22)$$

gde su $C_1, C_2, \dots, C_n$ koncentracije elementa u tragovima, a n je broj izmerenih elemenata u uzorcima.

3.9.3. Obrada rezultata primenom analize glavnih komponenti

Analiza glavnih komponenti (*Principal Component Analysis* – PCA) je korišćena za određivanje zavisnosti između merenih elemenata i na osnovu rezultata analize su određivani izvori zagađenja tim elementima. U ovom istraživanju, analiza glavnih komponenti sa ortogonalnom rotacijom je korišćena za određivanje uticaja izvora na koncentracije elemenata u tragovima u uzorcima listova različitih biljnih vrsta. U okviru tri različite analize glavnih komponenti analizirane su koncentracije elemenata u tragovima u uzorcima listova sakupljenih: a) 2002.-2006. godine, b) u julu 2009. i c) 2014 godine.

- U okviru istraživanja od 2002. do 2006. godine, vrednosti pet elemenata (As, Cd, Cr, Ni i Pb) izmerenih u PM10 i uzorcima listova su uključeni u analizu. Listovi *A. hippocastanum* su sakupljeni kod Botaničke bašte, dok su PM10 uzorkovani na automatskoj stanici u blizini Instituta za javno zdravlje, u blizini Botaničke bašte.
- U analizu glavnih komponenti su uključene koncentracije 13 elemenata (Al, As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, V, Zn) izmerenih u uzorcima listova (*A. hippocastanum*, *T. cordata*, *B. pendula* i *A. platinoides*) sakupljenim u julu 2009. godine, pri čemu su odvojeno analizirani neoprani uzorci i uzorci oprani vodom. Listovi su sakupljeni sa tri lokaliteta: Botanička bašta, Karađordev park i Studentski park.

- Koncentracije izmerenih elemenata (Al, As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Sb, Sr, V, Zn) u uzorcima listova sakupljenim tokom 2014. godine su uključene u analizu glavnih komponenti. Korišćene su četiri biljne vrste (*A. hippocastanum*, *Tilia* spp., *B. pendula* i *A. platinoides*) sakupljene sa četiri lokaliteta (Botanička bašta, Karađorđev park, Studentski park i Zemunski park).

U slučaju analize uzoraka listova sakupljenih 2014. godine, pre analize glavnih komponenti je urađena clr transformacija podataka da bi se uklonio efekat „zatvorenih podataka“. Clr transformacije su urađene korišćenjem CoDa Pack softvera.

Analizama su izdvojene glavne komponente sa svojstvenim vrednostima većim od 1. U obzir su uzimani težinski koeficijenti koji imaju značajnost, tj. koji imaju vrednosti $>0,5$. Analiza glavnih komponenti je urađena korišćenjem SPSS 12 softvera (IBM, 2003).

3.9.4. Obrada rezultata primenom korelacione analize

Korelacionom analizom su određivane međusobne zavisnosti promenljivih, tj. merenih elemenata, odnosno jačine njihove povezanosti u uzorcima listova. Korelacionom analizom su obuhvaćeni rezultati dobijeni merenjem koncentracija elemenata u uzorcima listova uzorkovanih od 2002. do 2006. godine. Kao značajna zavisnost između dva elementa je uzimana ona čija vrednosti koeficijenta korelacije (r) iznosi $>0,6$. Korelaciona analiza je urađena korišćenjem SPSS 12 softvera (IBM, 2003).

3.9.5. Ostali statistički testovi

Statistička značajnost ($p < 0,05$) između koncentracija olova u uzorcima listova i mahovina je određivana t -testom, ANOVA ili *Mann-Whitney U* testom, u zavisnosti da li podaci imaju normalnu raspodelu i homogenosti varijanse uzoraka. *Kolmogorov-Smirnov* ($K-S$) sa *Lilliefors* korekcijom i *Levene* testovi su korišćeni za određivanje normalnosti i homogenosti varijanse uzoraka, redom.

4. Rezultati i diskusija

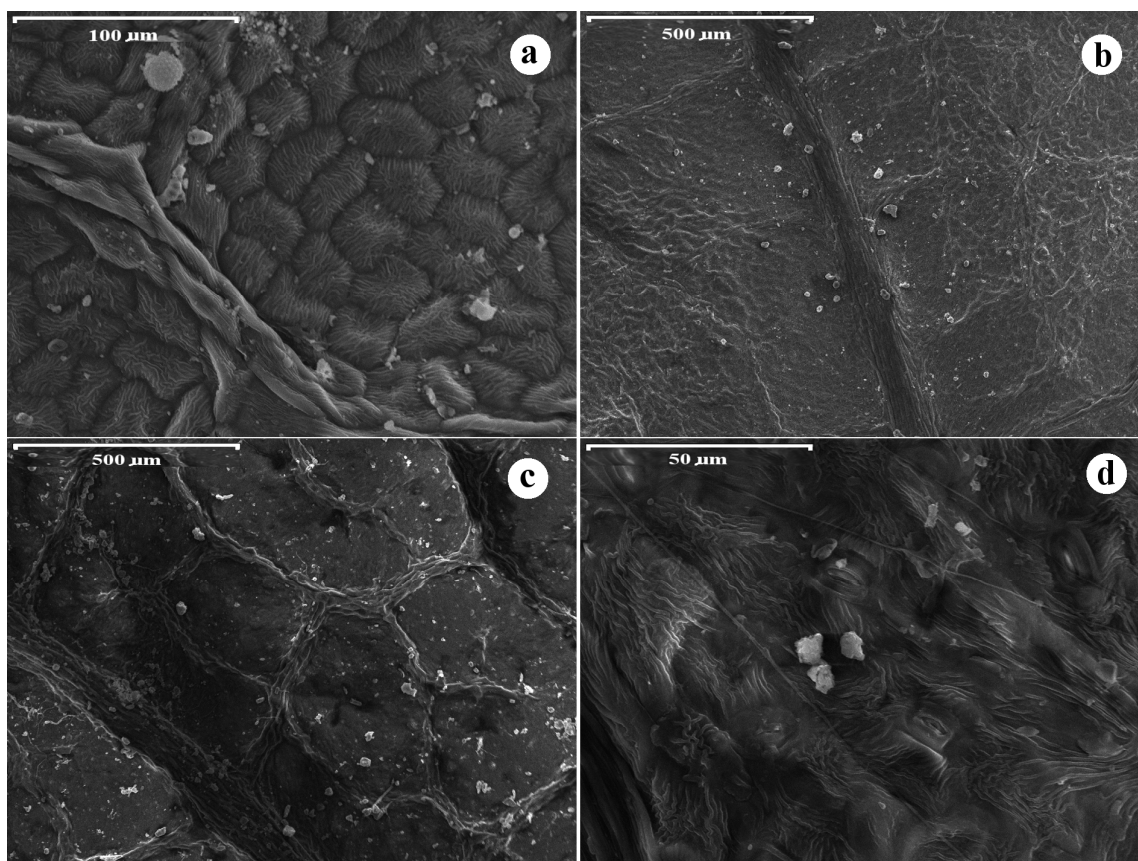
4.1. Karakterizacija površine listova i deponovanih frakcija

4.1.1. Morfološka karakterizacija površine listova i deponovanih čestica

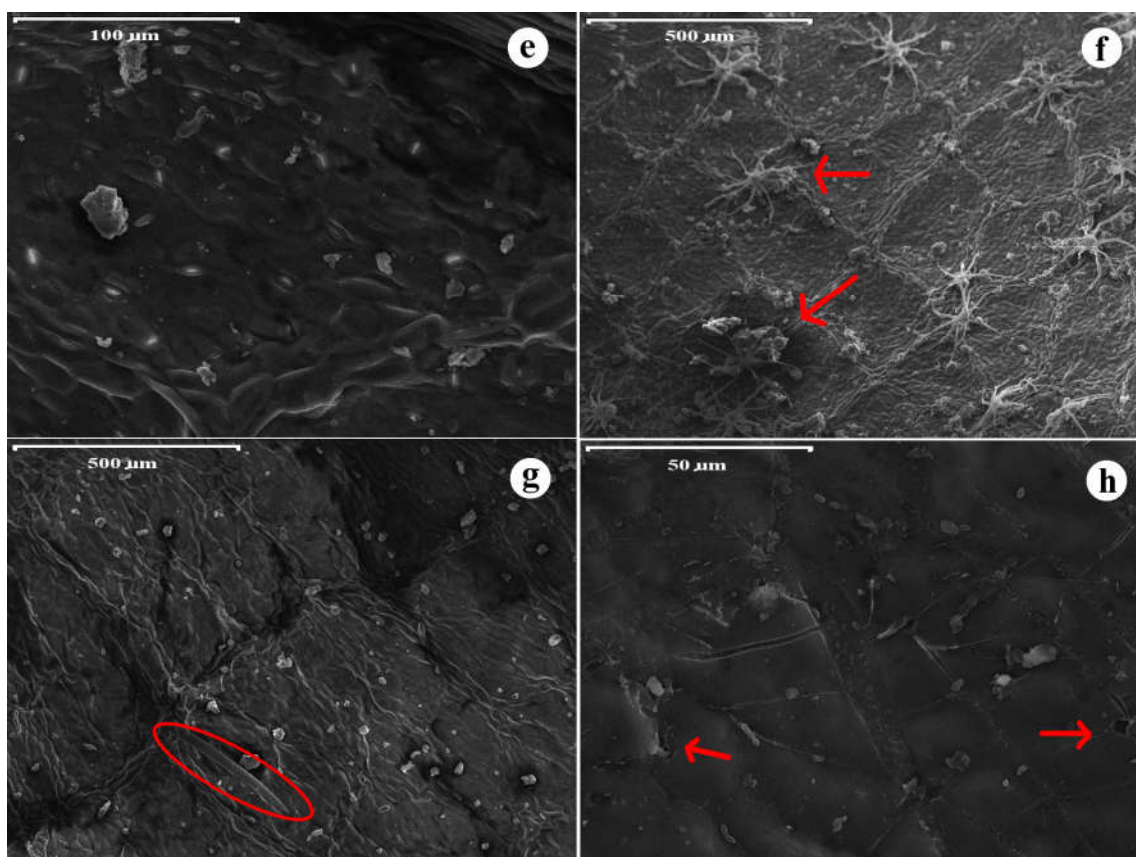
Korišćenjem tehnike SEM, analizirana je površina lica i naličja listova četiri biljne vrste, *A. hippocastanum*, *Tilia* spp., *B. pendula* i *A. platanoides*, sakupljenim septembra 2014. godine na lokalitetu Botanička bašta (Deljanin *et al.*, 2016). Uočene su čestice različitih frakcija na površini listova, kao i dosta „krupnih” čestica (Slika 24.). Distribucija PM na listovima je bila nejednaka, kao što je uočeno i u drugim istraživanjima (Tomašević *et al.*, 2005; Popek *et al.*, 2013; Song *et al.*, 2015). Broj čestica je bio veći na licu lista i veći stepen taloženja je uočen na neravnim zonama ili u blizini glavnih nerava (Slika 24a-c). Prisustvo trihoma olakšava adsorpciju PM (Simon *et al.*, 2014), što je dovelo do većeg broja PM u blizini trihoma na listovima *Tilia* spp. (Slika 24f, g). Na površini svih vrsta su uočeni agregati koji se sastoje od manjih čestica ($<2,5\ \mu\text{m}$). U nekoliko istraživanja (Teper, 2009; Terzaghi *et al.*, 2013) je ustanovljeno da sitne čestice ($<1\ \mu\text{m}$) mogu da formiraju agregate na listovima i iglicama biljaka; ipak, mehanizam njihovog nastajanja nije u potpunosti razjašnjen.

Smatra se da su neki od najvažnijih faktora koji utiču na zadržavanje čestica, i elemenata u tragovima vezanih za njih, svojstva površine lista i osobine deponovanih čestica (Dzierżanowski *et al.*, 2011; Sæbø *et al.*, 2012; Simon *et al.*, 2014). S obzirom da je većina ovih osobina specifična za pojedinačne biljne vrste, razlike između vrsta imaju važnu ulogu u zadržavanju čestica (Tiwary *et al.*, 2009). Čestice različite veličine su uočene u blizini stoma (Slika 24d, e). Neka istraživanja ukazuju da ultrafine čestice do $0,1\ \mu\text{m}$ (Ottelé *et al.*, 2010) ili fine čestice do $2\ \mu\text{m}$ (Song *et al.*, 2015) mogu da uđu u tkivo lista kroz stome. Međutim, osim čestica koje mogu da uđu kroz stome, čak i čestice u blizini stoma ili one koje prekrivaju stome mogu da utiču na fiziologiju listova (Popek *et al.*, 2013). Povrede listova i promene u voštanom sloju su uočene u nekim slučajevima (Slika 24h). Neki autori su ukazali na translokaciju čestica uhvaćenih u voštanom sloju u tkivo lista kroz kutikulu (Schreck *et al.*, 2012) ili usled povreda na površini lista (Grantz *et al.*, 2003), kao još neke od puteva ulaska za elemente. Ipak, za većinu elemenata, mehanizmi unosa preko listova nisu dovoljno poznati. Hovmand *et al.*, 2009 su pokazali da se 98 %

sadržaja olova u iglicama *Picea abies* unosi preko iglica i potiče iz atmosferske depozicije.



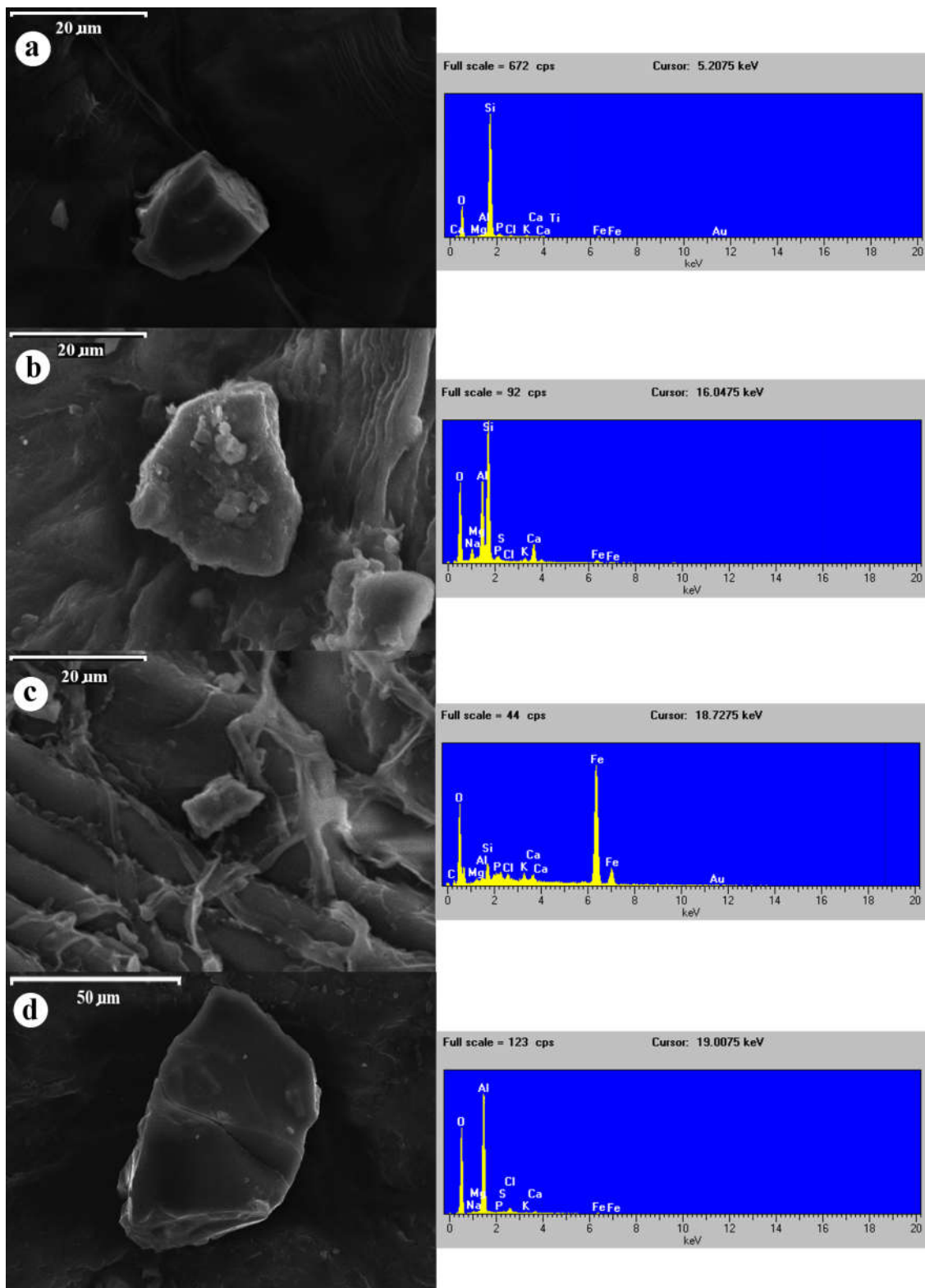
Slika 24. SE mikrofotografije površina listova i čestice na njima – a) *A. hippocastanum* (lice lista), čestice na neravnim delovima; b) *A. platanoides* (lice lista), čestice u blizini glavne nervature lista; c) *A. platanoides* (naličje lista), čestice na neravnim delovima; d) *A. hippocastanum* (naličje lista), čestice u blizini stoma; e) *A. platanoides* (naličje lista), čestice u blizini stoma; f) i g) *Tilia* spp. (lice lista), trihomi; h) *B. pendula* (lice lista), povrede na površini lista. Strelice i elipse označavaju povrede i trihome.



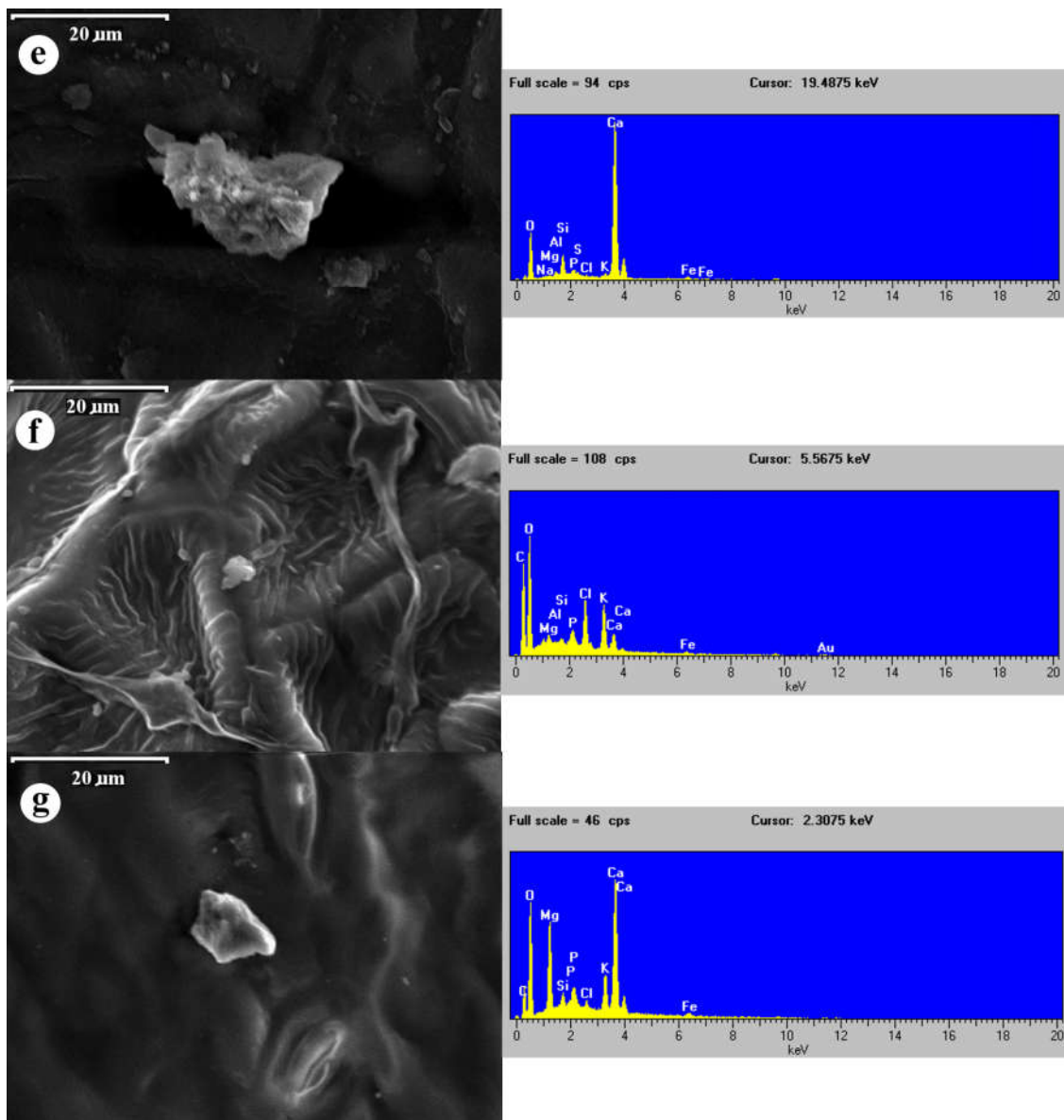
Slika 24. SE mikrografije površina listova i čestica na njima - Nastavak.

4.1.2. Određivanje elementarnog sastava čestica na površini listova

Rezultati EDS analize su pokazali da su najzastupljeniji elementi u česticama na listovima bili raspoređeni u nizu: $O > C > Si > Al > Fe$ (Deljanin *et al.*, 2016). Silicijum, aluminijum i gvožđe su glavni sastavni delovi čestica na površini listova. Za ove elemente se smatra da potiču iz mineralne prašine ili zemljišta (Schreck *et al.*, 2012) jer ulaze u sastav aluminosilikatnih čestica ili formiraju okside (Slika 25a-d). Ostali elementi u česticama, kao što su Ca, Mg, K, P i S, su bili prisutni u manjim količinama, uglavnom kao oksidi (Slika 25e-g). Hlor je verovatno bio prisutan u vakuolama trihoma listova. Pored pojedinačnih čestica nađenih na površini listova, EDS metodom je određen i elementarni sastav površine listova, u vidu tačkaste analize. Analiza je pokazala da su najzastupljeniji elementi u površinskom sloju listova $C > O > Ca > K > Si > Mg > Cl > Fe$. Ovi elementi uglavnom predstavljaju gradivne elemente u biljkama, kao i makro- i mikronutrijente, neophodne u fiziologiji biljke. Tabela sa sadržajem elemenata u površinskom sloju listova je data u Prilogu 1., Tabela 1.



Slika 25. SE mikrografije najčešće uočenih čestica na površini listova, sa njihovim ED spektrima. Udari pulseva fotona u punoj vertikalnoj skali (eng. *counts per second – cps*) su prikazani u gornjem levom uglu ED spektara.

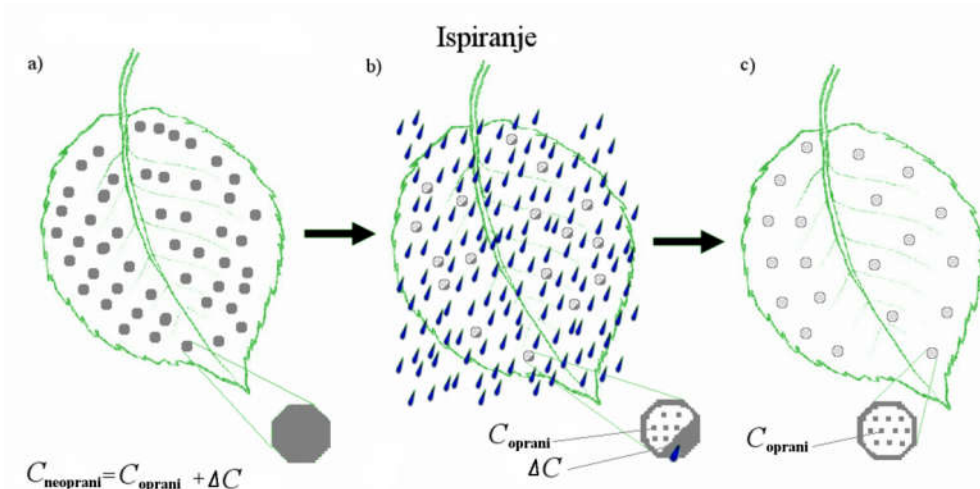


Slika 25. SE mikrografije najčešće uočenih čestica na površini listova, sa njihovim ED spektrima - Nastavak.

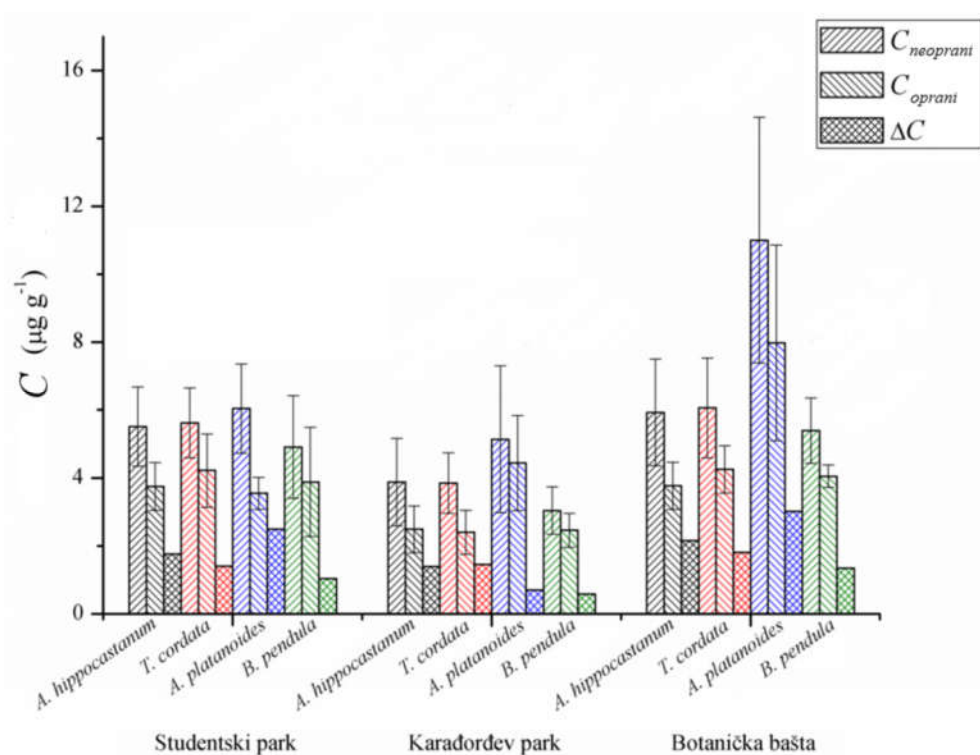
4.1.3. Hemijska analiza deponovanih frakcija

4.1.3.1. Koncentracija olova u neopranim i opranim uzorcima listova

Koncentracija olova je izmerena u listovima četiri biljne vrste (*A. hippocastanum*, *T. cordata*, *B. pendula* i *A. platanoides*), sakupljenih u Karađorđevom parku, Studentskom parku i Botaničkoj bašti u julu 2009. godine (Deljanin *et al.*, 2014). Ukupna koncentracija olova ($C_{neoprani}$) u listovima predstavlja koncentraciju olova u neopranim uzorcima i obuhvata jako i slabo vezane čestice iz vazduha obogaćene olovom, nataložene na površini listova, kao i olovo akumulirano u tkivu listova (Slika 26.). Olovo nataloženo na površini listova (u obliku čestica) se sastoji od jako vezane frakcije (C_{oprani}) i slabo vezane frakcije (ΔC), koja može da se ukloni sa lisne površine vetrom ili kišom (Slika 26.). Primenom kratkog ispiranja listova bidestilovanom vodom se „simulira” spiranje kišom i na taj način se može ukloniti labilno vezana frakcija. Može se pretpostaviti da koncentracija olova u opranim uzorcima listova predstavlja olovo akumulirano u listovima i olovo sadržano u sitnim česticama koje su jako vezane za površinu listova. Stoga labilna frakcija (ΔC) predstavlja razliku između koncentracije olova u neopranim listovima ($C_{neoprani}$) i koncentracije u opranim listovima (C_{oprani}) (Slika 26.). Srednje vrednosti koncentracije olova u neopranim ($C_{neoprani}$) i opranim (C_{oprani}) listovima i razlike u ovim koncentracijama (ΔC) iz tri ispitivana parka su prikazane na Slici 27. Koncentracija olova je bila statistički značajno veća u neopranim uzorcima ($p = 0,05$), što ukazuje da čak i kratko ispiranje listova bidestilovanom vodom ima značajan uticaj na koncentraciju olova u uzorcima. Najviše koncentracije olova u neopranim i opranim uzorcima listova su izmerene na lokaciji kod Botaničke bašte, koja je najviše izložena uticaju saobraćaja. Koncentracije olova na ovom lokalitetu su bile statistički značajno veće od vrednosti iz Karađorđevog parka ($p < 0,05$), ali nisu bile značajno veće od vrednosti iz Studentskog parka. U ispitivanju istih listopadnih biljnih vrsta, Tomašević *et al.* (2011) su ukazali da ista procedura pranja uzoraka može da smanji veliku varijabilnost u koncentraciji elemenata između poduzoraka iste vrste ili istog lokaliteta, i na taj način može doprineti reprezentativnijoj slici o sadržaju elemenata na svakom lokalitetu i u celoj oblasti istraživanja.



Slika 26. Šematski prikaz ispiranja uzoraka listova i frakcija na površini listova.



Slika 27. Srednje vrednosti koncentracije olova (sa standardnim devijacijama) u neopranim ($C_{neoprani}$) i opranim (C_{oprani}) uzorcima listova i njihova razlika (ΔC).

U jednom od prethodnih radova vezanih za biomonitoring korišćenjem listova u Beogradu (Tomašević *et al.*, 2005), nakon pranja listova bidestilovanom vodom u trajanju od 30 min u ultrasoničnom kupatilu, koncentracija olova u ispranoj frakciji i u tkivu listova je bila u pozitivnoj korelaciji sa atmosferskim zagađenjem olovom detektovanim tokom dve uzastopne godine. Pranje zimzelenih listova *Quercus ilex* u destilovanoj vodi, sa protresanjem tokom 15 minuta, je dovelo do značajnog uklanjanja olova (De Nicola *et al.*, 2008). U istom istraživanju je navedeno da neoprani listovi mogu dati bolji uvid u razlike u zagađenju vazduha između urbanih i udaljenih oblasti, kao i između urbanih lokaliteta.

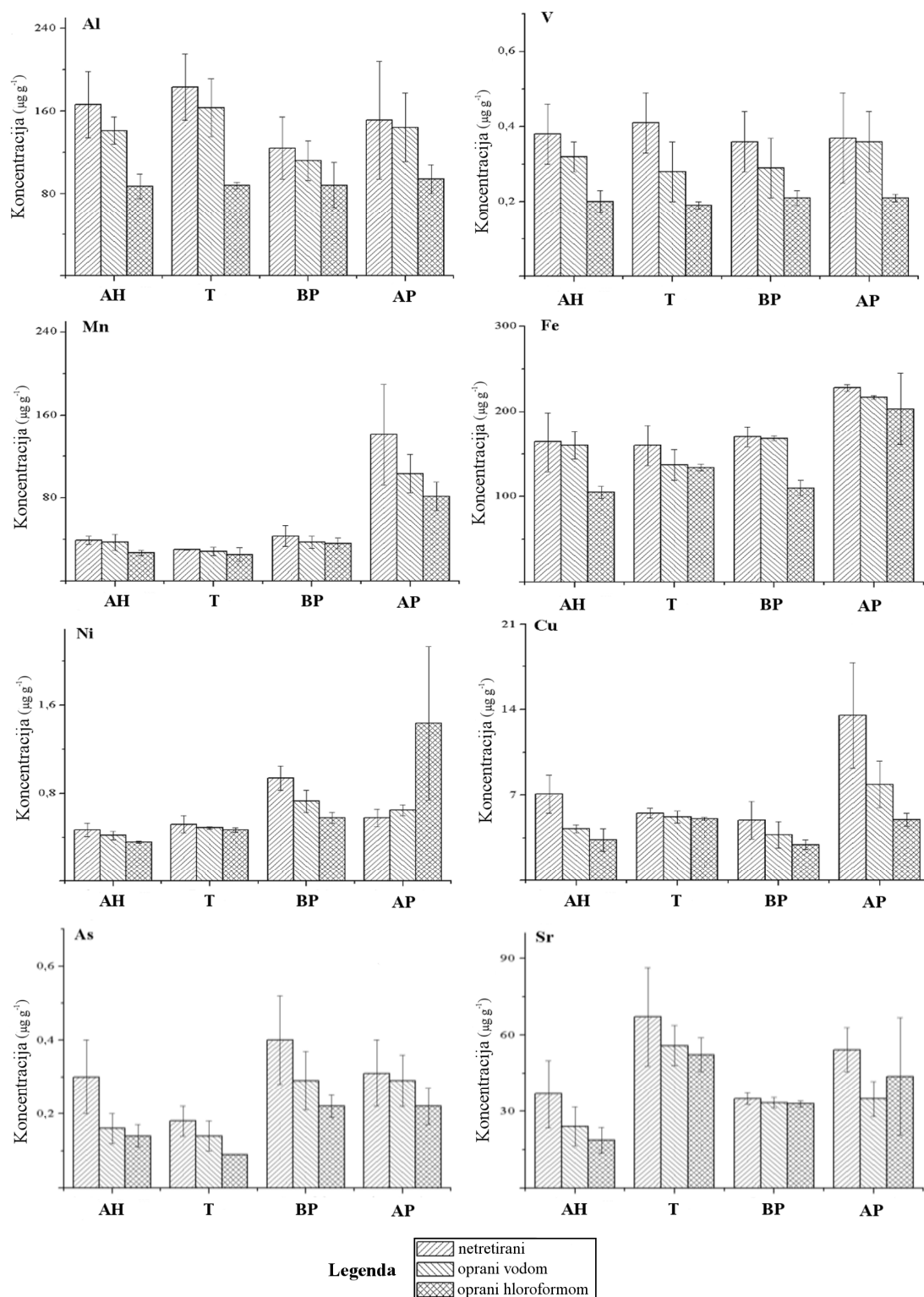
Razlika u koncentraciji olova između neopranih i opranih uzoraka listova (ΔC na Slici 27.) nastaje usled uklanjanja čestica sa površine listova koje sadrže olovo. Poznato je da elementi u tragovima poreklom iz vazduha, kao što je olovo, mogu da se talože na lisnim površinama putem suve i vlažne atmosferske depozicije (Bargagli, 1998). Taloženje i akumulacija elemenata i mogućnost njihovog spiranja zavise od osobina samih elemenata, karakteristika čestica i površine lista. Prema ranijim istraživanjima, čestice iz vazduha svih veličina se mogu naći na površini listova; većina čestica uočenih na listovima u Beogradu spadaju u klasu finih čestica (prečnik, $D < 2 \mu m$) (Tomašević *et al.*, 2005). Može se pretpostaviti da se ΔC frakcija uglavnom sastoji od krupnih čestica koje se mogu lako sprati kišom ili ukloniti vetrom. Znatna količina elemenata nataloženih na površini listova, uključujući olovo, se nalaze u obliku koji je nerastvoran u vodi (Tomašević *et al.*, 2005).

Na osnovu rezultata je ustanovljeno da ΔC frakcija može da čini veliki deo ukupne koncentracije olova ($C_{neoprani}$). Iako je koncentracija olova u neopranim uzorcima listova bila najveća na lokalitetu Botanička bašta, odnosi koncentracije u deponovanom sloju na površini listova i koncentracije u neopranim uzorcima listova ($\Delta C/C_{neoprani}$) su bili slični za sve lokalitete. U pogledu pojedinačnih biljnih vrsta, labilna frakcija olova (ΔC) nataložena na površini listova, je predstavljala oko 30 % od ukupne koncentracije u listovima: *A. hippocastanum* (35 %), *T. cordata* (30 %), i *A. platanoides* (28 %). Ipak, pranje uzoraka je doprinelo uklanjanju 22 % od ukupne količine olova u slučaju uzoraka *B. pendula*, ukazujući na najveće zadržavanje čestica na površini listova ove vrste. Dobijeni rezultati se slažu sa razlikama u akumulaciji čestica iz vazduha na površini listova 20 biljnih vrsta, uzorkovanih tokom 2009. i 2010. godine u Norveškoj (Sæbø *et*

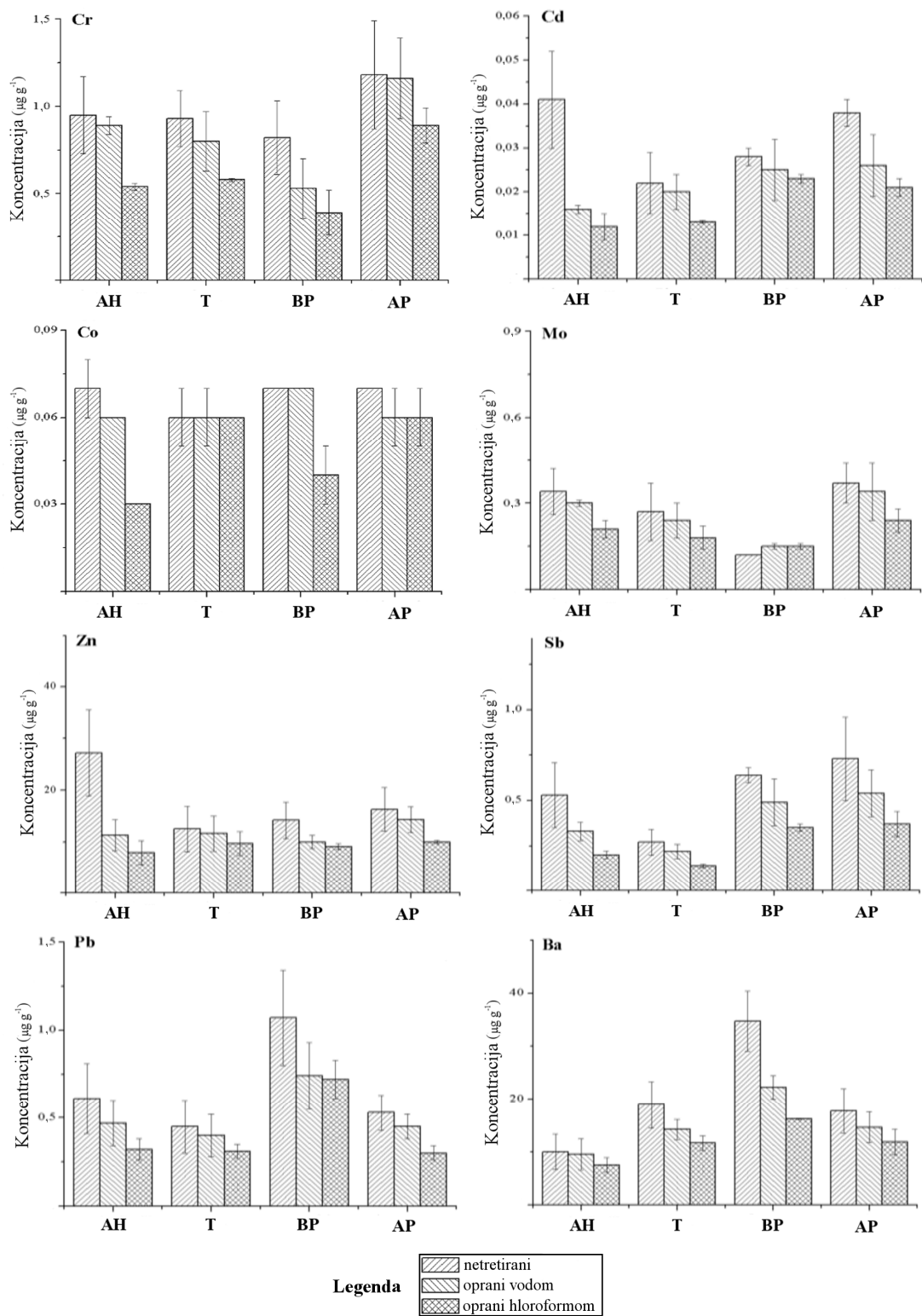
al., 2012). Visok stepen zadržavanja čestica $<10\ \mu\text{m}$ na površini listova *B. pendula* su uočili i (Dzierżanowski i Gawroński, 2011), i to je pripisano uticaju debelog voštanog sloja na površini listova. Uočeno je da olovo dostiže čak 70 % ukupne sadržine labilne frakcije metala u tragovima u česticama iz urbane sredine (Voutsas & Samara, 2002). Takođe, ukazano je da je olovo u atmosferskim česticama srednje rastvoran element (Birmili *et al.*, 2006). Kao što je napomenuto ranije, usvajanje olova putem listova se smatra glavnim putem kojim ovaj element dospeva iz vazduha u tkivo listova (Klaminder *et al.*, 2005; Hovmand *et al.*, 2009). Takođe, površinski sloj zemljišta u Beogradu je bio blago bazan (pH=8) (Tomašević *et al.*, 2008), što dovodi do smanjene biodostupnosti metala u tragovima (Bargagli, 1998).

4.1.3.2. Koncentracije elemenata u tragovima u netretiranim listovima i listovima opranim vodom i hloroformom

Listovi vrsta *A. hippocastanum*, *Tilia* spp., *B. pendula* i *A. platanoides* su sakupljeni u septembru 2014. godine u Botaničkoj bašti (Deljanin *et al.*, 2016). Izmerene su koncentracije odabranih elemenata u tragovima u: netretiranim uzorcima, uzorcima opranim vodom i uzorcima opranim hloroformom i rezultati su prikazani na Slici 28. Koncentracije elemenata u netretiranim uzorcima listova predstavljaju ukupnu količinu elemenata deponovanih u obliku čestica: a) na površini listova, b) uhvaćenih u voštani sloj, c) akumuliranih u tkivu listova. Koncentracije elemenata u tragovima na površini listova, koje se mogu ukloniti kišom ili vetrom, uglavnom predstavljaju labilnu frakciju. Stoga, može se smatrati da koncentracije elemenata u uzorcima listova nakon pranja dejonizovanim vodom predstavljaju sumu sadržaja elemenata u voštanom sloju i u tkivu listova. Koncentracije u voštanom sloju predstavljaju imobilisanu frakciju, koja se ne može ukloniti pranjem vodom. Pranjem uzoraka u hloroformu, voštani sloj se rastvara i čestice ugrađene u njega se uklanjaju, omogućavajući određivanje sadržaja elemenata u tragovima u samom tkivu listova.



Slika 28. Koncentracije elemenata (µg g⁻¹ suve mase) u uzorcima listova četiri biljne vrste sakupljenih na lokalitetu Botanička bašta, septembra 2014. godine. Vrste: AH – *A. hippocastanum*, T – *Tilia* spp., BP – *B. pendula*, AP – *A. platanoides*.



Slika 28. Koncentracije elemenata ($\mu\text{g g}^{-1}$ suve mase) u uzorcima listova četiri biljne vrste sakupljenih na lokalitetu Botanička bašta, septembra 2014. godine - Nastavak.

Razlika u koncentraciji između netretiranih uzoraka i uzoraka opranih vodom predstavlja frakciju sa površine listova (P u % u Tabeli 14.). Pretpostavlja se da se ova frakcija uglavnom sastoji od krupnih čestica ($10 < D < 100 \mu\text{m}$), ali i od krupnih čestica ($2,5 < D < 10 \mu\text{m}$) (Dzierżanowski *et al.*, 2011). Terzaghi *et al.* (2013) su zaključili da se čestice veće od $10 \mu\text{m}$ mogu isprati sa površine, dok manje čestice ostaju inkorporirane u voštanom sloju. Razlika između koncentracija u uzorcima opranim vodom i uzorcima opranim hloroformom predstavlja frakciju u voštanom sloju (V u % u Tabeli 14.), i pretpostavlja se da barem deo ove frakcije čine krupne čestice (Dzierżanowski *et al.*, 2011). Čestice koje se nalaze u voštanom sloju su najverovatnije imobilisane (Popek *et al.*, 2013; Przybysz *et al.*, 2014) i ostaju u voštanom sloju do kraja vegetacione sezone, kada nakon opadanja listova elementi sadržani u njima dospevaju u zemljište.

Tabela 14. Udeo (u %) uklonjenih i akumuliranih frakcija elemenata u tragovima po biljnim vrstama

%	<i>A. hippocastanum</i>				<i>Tilia spp.</i>				<i>B. pendula</i>				<i>A. platanooides</i>			
	P	V	U	A	P	V	U	A	P	V	U	A	P	V	U	A
Al	15	32	47	53	11	41	52	48	10	19	29	71	5	33	38	62
V	15	32	47	53	32	21	53	47	21	20	41	59	<1	43	44	56
Cr	6	37	43	57	14	24	38	62	35	18	53	47	2	23	25	75
Mn	5	26	31	69	6	10	16	84	13	3	16	84	27	15	42	58
Fe	2	34	36	64	14	2	16	84	1	34	35	65	5	6	11	89
Co	10	39	49	51	0	0	0	100	2	41	43	57	15	0	15	85
Ni	9	13	22	78	5	5	10	90	22	16	38	62	/	/	/	/
Cu	40	13	53	47	6	3	9	91	24	16	40	60	42	21	63	37
Zn	58	13	71	29	8	15	23	77	29	7	36	64	12	26	38	62
As	48	4	52	48	18	29	47	53	28	16	44	56	7	20	27	73
Sr	35	14	49	51	17	5	22	78	5	1	6	94	/	/	/	/
Cd	60	10	70	30	11	31	42	58	10	9	19	81	33	13	46	54
Sb	38	25	63	37	19	28	47	53	23	22	45	55	26	22	48	52
Ba	6	19	25	75	25	14	39	61	36	17	53	47	18	15	33	67
Pb	24	23	47	53	12	19	31	69	31	2	33	67	16	27	43	57

P – uklonjeno sa površine lista sa vodom, V – uklonjeno iz voštanog sloja hloroformom, U – ukupno uklonjeno (površina+voštani sloj), A – akumulirano (u tkivu lista). Vrednosti su izračunate kao procenti od ukupnih izmerenih koncentracija (koncentracije u netretiranim uzorcima).

Uklonjena količina elemenata u tragovima (U u Tabeli 14.) predstavlja zbir frakcija opranih vodom i hloroformom, dok akumulirani sadržaj predstavlja sadržaj elemenata u tragovima u tkivu listova (A u Tabeli 14.). Procenti uklonjenih elemenata u tragovima sa površine listova i iz voštanog sloja su bili uglavnom slični kod različitih vrsta. Iako neki od akumuliranih elemenata mogu biti usvojeni putem korenovog sistema iz zemljišta,

uklonjena frakcija elemenata u tragovima (frakcija sadržana na površini listova i u voštanom sloju) vodi poreklo iz vazduha, jer se nalazi na površini listova.

Kao što je prikazano u Tabeli 14., listovi *Tilia* spp. su bili najefikasniji u akumulaciji elemenata u tragovima u tkivu listova, dok su *B. pendula* i *A. platanooides* bili manje efikasni u akumulaciji, a *A. hippocastanum* je imao najmanju količinu akumuliranih elemenata u tragovima u listovima. Sæbø *et al.* (2012) su takođe uočili najviši stepen akumulacije čestica na površini i u voštanom sloju kod vrste *B. pendula*, potom kod vrsta *Tilia cordata* i *A. platanooides* i najmanji kod vrste *A. hippocastanum*, od posmatranih vrsta. Ipak, u skorijem istraživanju, Sæbø *et al.* (2015) su ukazali na korelacije između deponovanih čestica i nekih elemenata u tragovima u česticama za vrstu *A. platanooides* ali ne i za vrstu *T. cordata*. Akumulacija čestica, i posledično elemenata u tragovima, na lišću drveća je uzrokovana i regulisana brojnim mehanizmima, jer morfološka svojstva listova, struktura i hemijski sastav voštanog sloja imaju bitnu ulogu u njihovom zadržavanju, kao što su primetili i Popek *et al.* (2013). Dzierżanowski *et al.* (2011) su primetili bitnu ulogu strukture i hemijskog sastava voštanog sloja u zadržavanju čestica, dok su Sæbø *et al.* (2012) uočili pozitivnu korelaciju između taloženja čestica na površini listova, dlakavosti listova i količine voska na listovima. Još jedan bitan faktor koji bi trebalo uzeti u obzir su meteorološki uslovi. Akumulacija čestica i elemenata u tragovima na listovima je dinamičan proces, i ne oslikava ukupni sadržaj nataložen tokom vegetacionog ciklusa, kao što su primetili Sæbø *et al.* (2012) i Popek *et al.* (2013) za masenu depoziciju čestica, jer periodi padavina i vetar mogu da smanje količinu čestica na površini listova.

Sve vrste su zadržale određenu količinu elemenata u tragovima na/u njihovima listovima, izuzev Co u listovima *Tilia* spp., u čijem slučaju su izmerene koncentracije bile iste, nezavisno od načina pripreme uzorka za analizu. Ipak, izmerena koncentracija Co je bila jako niska ($\approx 0,06 \mu\text{g g}^{-1}$). Nije uočen opadajući trend u koncentracijama Ni i Sr u listovima *A. platanooides* prilikom primene različitih procedura pranja uzoraka (Slika 28.). S druge strane, koncentracije ovih elemenata u uzorcima *A. platanooides* opranih hloroformom su imale visoke vrednosti standardne devijacije, što ukazuje na veliku varijabilnost posmatranih elemenata u datim uzorcima i mogućnost kontaminacije. Takođe, nivoi uklonjenih i/ili akumuliranih koncentracija elemenata su se razlikovali kod pojedinačnih vrsta ali i između različitih vrsta, te izgleda da količina uklonjenih

elemenata zavisi od hemijskih osobina samog elementa, kao i od morfoloških svojstava biljnih vrsta (npr. trihomi, voštani sloj, hrapavost listova).

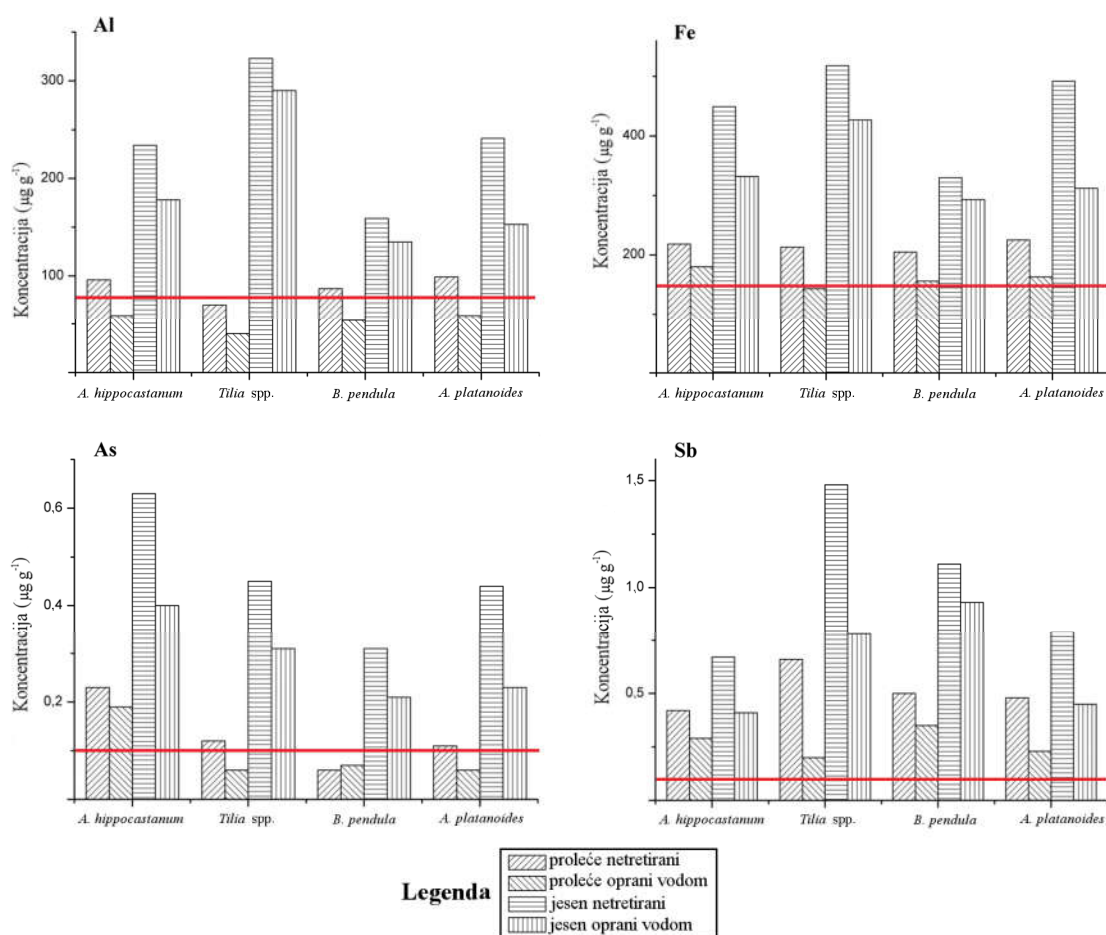
Može se pretpostaviti da su neki elementi uglavnom prisutni na površini lista, dok su drugi prisutni u većem obimu u voštanom sloju. Ipak, nije uočeno prisustvo određenog elementa u nekom od navedenih slojeva kod svih ispitivanih vrsta, osim Al i Cu, koji su mahom prisutni u voštanom sloju i na površini listova, redom (Tabeli 14.). Dzierżanowski *et al.* (2011) su uočili da je količina čestica u voštanom sloju veća nego količina čestica na površini lista kod nekih vrsta. To bi moglo da uzrokuje veće uklanjanje nekih elemenata iz voštanog sloja nakon pranja hloroformom, u slučaju da su prisutne čestice obogaćene određenim elementom. Ipak, potrebno je još analiza hemijskog sastava i strukture voštanog sloja kod različitih biljnih vrsta da bi se potvrdio ovakav zaključak.

Elementi poput Al, V, Cr, Cu, Zn, As, Cd i Sb, koji se uglavnom emituju iz antropogenih izvora (npr., emisije iz izduvnih gasova automobila, ostale emisije iz saobraćaja, sagorevanje fosilnih goriva, itd.), su bili među elementima sa najvećim procentom uklanjanja (>40 %, Tabeli 14.), nakon pranja uzoraka vodom i hloroformom. Najveći procenat uklanjanja je uočen u slučaju Sb (51 %). Kada su dobijene koncentracije upoređene sa vrednostima „Referentne biljke”, RB (RB = 0,1 µg g⁻¹ za Sb) (Markert, 1992), uočeni su najviši nivoi koncentracije Sb tokom cele godine, sa koncentracijama većim od 2 do 15 puta od vrednosti u RB (Slika 29.). Antimon potiče iz ne-izduvnih emisija iz vozila i predložen je kao pogodan element za praćenje emisija iz saobraćaja (Dongarrà *et al.*, 2009). Glavni izvor Sb je habanje materijala kočionih obloga, pa se Sb često povezuje sa Cu. Sternbeck *et al.* (2002) su ustanovili da se Cu i Sb emituju iz kočionih sistema i odredili odnos koncentracija Cu/Sb koji iznosi 4,6±2,3; ipak u ovom istraživanju je odnos bio veoma promenljiv i uglavnom je imao više vrednosti (16,2±7,9).

U slučaju uzoraka istih biljnih vrsta sakupljenih 2009. godine (Slika 27.), pranjem vodom je uklonjeno do 30 % Pb, dok je u slučaju uzoraka sakupljenih 2014. godine, nakon primenjene iste tehnike pranja, uklonjena manja količina olova, osim u slučaju *B. pendula*. Ipak, koncentracija Pb u netretiranim uzorcima uzorkovanim 2014. godine je bila znatno niža, uglavnom ispod 1 µg g⁻¹, dok je u uzorcima sakupljenim 2009. godine,

srednja vrednost izmerene koncentracije Pb bila $5,5 \mu\text{g g}^{-1}$, što je najverovatnije uzrok razlike u rezultatima.

Rezultati ukazuju da je manje od 15 % Mn, Ni, Cu, Zn i Sr prisutno u voštanom sloju, dok je 60 % ili više od ukupne koncentracije akumulirano u tkivu listova. Slični rezultati su dobijeni i prilikom analize voštanog sloja iglica jele (*Abies alba*) (Gandois & Probst 2012), ukazujući da se mikronutrijenti poput Ni, Cu i Zn ne zadržavaju u voštanom sloju, već se akumuliraju u tkivu listova kao posledica usvajanja preko korenovog sistema ili preko listova iz vazduha.



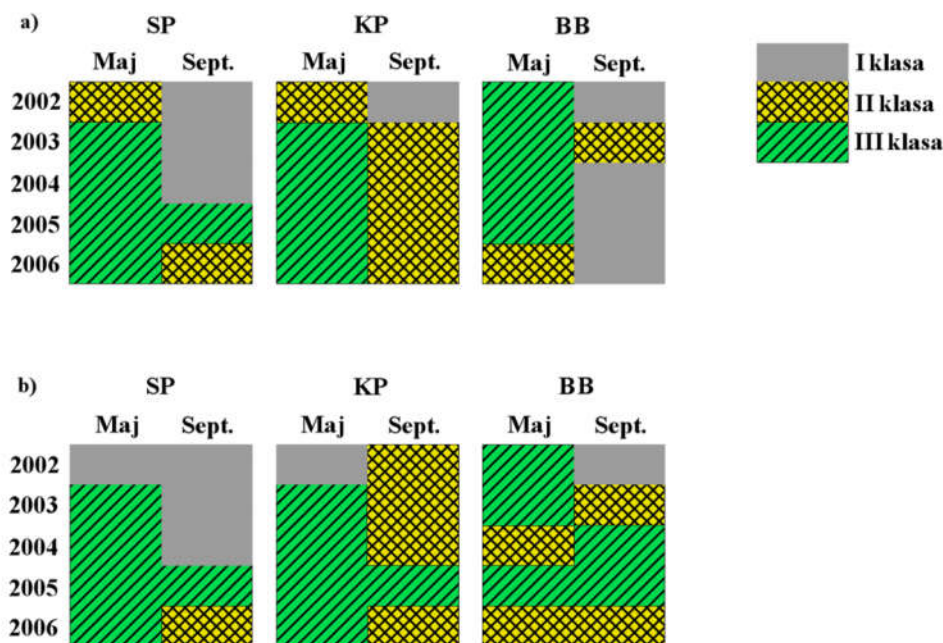
Slika 29. Poređenje koncentracija Al, Fe, As i Sb ($\mu\text{g g}^{-1}$ suve mase) u prolećnim i jesenjim uzorcima (sakupljenim 2014. godine) četiri ispitivane vrste (netretirani i uzorci oprani vodom) sa vrednostima „Referentne biljke” RB (Markert, 1992) (crvena linija).

4.1.4. Primena Kohonenovih neuronskih mreža i metoda rangiranja na osnovu više parametara u biomonitoringu

4.1.4.1. Klasifikacija i rangiranje uzoraka

Listovi *A. hippocastanum* i *Tilia* spp. su sakupljeni na početku i na kraju vegetativnog perioda (maj i septembar) u periodu od 2002. do 2006. godine. Pre dalje analize, određivani su faktori zagađenja (F_z) u uzorcima listova za posmatrane elemente (As, Cd, Cr, Cu, Fe, Ni, Pb, V, Zn) (Deljanin *et al.*, 2015a). Dobijene vrednosti faktora zagađenja su korišćene za određivanje antropogenog doprinosa elemenata u listovima. Najviše vrednosti su dobijene za Pb, jer su svi uzorci imali vrednosti iznad 1, osim dva uzorka sakupljena 2006. godine. To ukazuje na najveće antropogeno obogaćenje ovim elementom, najverovatnije zbog velike upotrebe olovnog benzina tokom posmatranog perioda. Vrednosti faktora zagađenja za Fe i As su u većini uzoraka bile iznad 1, dok je otprilike polovina uzoraka imala vrednosti iznad 1 za Cu, V i Cd. Koncentracije Cr, Ni i Zn su uglavnom bile ispod vrednosti „Referentne biljke”, ukazujući na njihovo prirodno poreklo. Smatra se da su glavni izvori elemenata u tragovima tokom posmatranog perioda bile emisije iz saobraćaja i resuspenzija prašine sa saobraćajnica (Rajšić *et al.* 2008), što je u saglasnosti sa povećanim vrednostima F_z za pomenute elemente. Vrednosti faktora zagađenja za sve uzorke listova sakupljenih od 2002. do 2006. godine su prikazani u Prilogu 1. Tabela 2.

Uzorci su klasifikovani korišćenjem SON-a koji se sastojao od devet neurona u ulaznom sloju, po jedan neuron za svaki ispitivani element, i tri neurona u izlaznom sloju. SON je primenjen na svaku biljnu vrstu i uzorci su razdvojeni u tri klase (Slika 30.). Ove klase predstavljaju različite nivoe zagađenja, pri čemu klasa I odgovara najvećem, klasa II srednjem i klasa III najmanjem nivou zagađenja, s obzirom da vrednosti faktora zagađenja pojedinačnih elemenata opadaju od klase I do klase III.



Slika 30. Rezultati SON-a za faktore zagađenja elemenata u tragovima u uzorcima listova: a) *A. hippocastanum* b) *Tilia* spp. I, II, i III – klase SON-a; klasa I predstavlja najviši, klasa II srednji i klasa III najniži nivo zagađenja. SP – Studentski park, KP – Karađorđev park, BB – Botanička bašta.

U slučaju uzoraka *A. hippocastanum*, prva klasa se sastojala od jesenjih uzoraka, druga od jesenjih i prolećnih i treća klasa u najvećoj meri od prolećnih uzoraka (Slika 30a). Prolećni uzorci iz druge klase su uglavnom sakupljeni tokom 2002. godine, koja se odlikuje višim vrednostima faktora zagađenja u uzorcima u odnosu na naredne godine. Sezonska akumulacija je uočljiva u uzorcima listova, osim u slučaju uzoraka sakupljenih u Studentskom parku 2005. godine, što generalno ukazuje na veliku osetljivost *A. hippocastanum* kao biomonitora (Tabela 15.). S druge strane, višegodišnji obrazac akumulacije je takođe uočljiv, jer su uzorci iz 2002. godine, sa najvišim vrednostima faktora zagađenja, klasifikovani u više klase (klasa II za prolećne uzorke i klasa I za jesenje uzorke) nego uzorci iz narednih godina, jer je ukupna akumulacija elemenata u tragovima u uzorcima listova opadala tokom godina. Ipak, ova pravilnost nije uočena za lokalitet BB, u čijem slučaju su jesenji uzorci sa početka i kraja ispitivanog perioda stavljeni u klasu I, dok su prolećni uzorci iz 2006. godine stavljeni su višu (zagađeniju) klasu nego prolećni uzorci iz 2002. godine.

Tabela 15. Uočena sezonska akumulacija u listovima *A. hippocastanum* i *Tilia* spp.

Sezonska akumulacija (maj-septembar)	Udeo uzoraka ^a (%)	
	<i>A. hippocastanum</i>	<i>Tilia</i> spp.
Klasa II (III) → Klasa I (II) (povećanje zagađenja) ^b	93	54
Iste klase (isto zagađenje) ^c	7	33
Klasa I (II) → Klasa II (III) (smanjenje zagađenja) ^d	0	13

^aklasifikovanih uz pomoć SON-a

^bpostoji sezonska akumulacija od maja do septembra

^cnema sezonske akumulacije od maja do septembra

^dsmanjenje akumulacije od maja do septembra

S druge strane, SON klase formirane za uzorke listova *Tilia* spp. su sadržale i jesenje i prolećne uzorke (Slika 30b). Pravilnost u sezonskoj akumulaciji nije uočena (Tabela 15.), jer su u nekim slučajevima prolećni uzorci pripadali klasi sa višim nivoom zagađenja od jesenjih uzoraka (KP 2002 i BB 2004), ili su pripadali istoj klasi (SP 2002 i 2005, KP 2005 i BB 2005 i 2006). Takođe, godišnja akumulacija je bila manje uočljiva nego u slučaju uzoraka listova *A. hippocastanum*. Stoga, na osnovu sezonske i godišnje akumulacije, listovi *A. hippocastanum* pokazuju veću osetljivost od listova *Tilia* spp., što ovu vrstu čini boljim biomonитором. Rezultati dobijeni na osnovi SON klasa se slažu sa sezonskim i godišnjim trendovima u biomonitoringu ranije uočenim za područje Beograda (Aničić *et al.*, 2011).

Korišćenjem K-S testa je potvrđena normalna raspodela koncentracija svih elemenata nakon primene logaritamske transformacije podataka ($p > 0,20$), osim u slučaju Cu i Cd ($p < 0,05$). Razlike između klasa za uzorke listova *A. hippocastanum* i *Tilia* spp. su bile statistički značajne ($p < 0,05$) za sve elemente, osim za V između klasa I i II. Poređenjem lokaliteta ustanovljene su značajne razlike ($p < 0,05$) u vrednostima Cu i As za SP u odnosu na druga dva lokaliteta i u vrednostima V na lokalitetu KP. S druge strane, uočena je godišnja razlika u koncentracijama Pb, jer su koncentracije u uzorcima iz 2002. godine bile značajno različite ($p < 0,01$) od onih u uzorcima sakupljenim tokom ostalih godina. Ovo zapažanje odgovara smanjenju akumulacije olova u listovima drveća tokom posmatranog perioda. Uočene su i značajne razlike ($p < 0,05$) u vrednostima Cr, Fe, V i Cd prilikom poređenja uzoraka iz različitih godina.

Ukupno zagađenje elementima u tragovima u uzorcima četiri biljne vrste (*A. hippocastanum*, *Tilia* spp., *B. pendula* i *A. platanoides*), sakupljenih 2014. godine je određivano korišćenjem SON-a i PROMETHEE-a kao multivarijantnih metoda za klasifikaciju i rangiranje (Tabela 16.) (Deljanin *et al.*, 2016). Dodatno rangiranje je urađeno na osnovu PMC vrednosti. Najviše rangirani uzorci, ili u slučaju SON-a, klasifikovani u klasu III, su imali najveće sadržaje elemenata u tragovima. To su uglavnom bili jesenji uzorci, netretirani ili oprani vodom, koji pripadaju istim biljnim vrstama sa istih lokaliteta, što ukazuje na sličnost između uzoraka, nezavisno od načina pripreme. Grupu najmanje zagađenih uzoraka (tj., klasa I u SON-u i najniže rangirani uzorci na osnovu PROMETHEE-a i PMC-a) su činili uglavnom prolećni uzorci, ali i jesenji uzorci tretirani hloroformom, ili u nekim slučajevima i uzorci oprani vodom. Jedini jesenji uzorak u klasi I koji nije tretiran je uzorak *Tilia* spp., uzorkovan u Botaničkoj bašti. Uzorci iz Botaničke bašte su imali najniže koncentracije svih elemenata u tragovima. U prethodnim istraživanjima (Aničić *et al.*, 2011; Tomašević *et al.*, 2011), vrednosti koncentracija elemenata u tragovima na ovom lokalitetu su bile promenljive, ali uglavnom u srednjem opsegu izmerenih koncentracija u ispitivanim parkovima. S druge strane, koncentracija Pb na lokalitetu Botanička bašta je uvek bila visoka u poređenju sa drugim lokalitetima, zbog velikog uticaja saobraćaja. Međutim, koncentracija Pb u ovom istraživanju je znatno niža ($0,75 \mu\text{g g}^{-1}$). Stoga se može pretpostaviti da je, nakon prestanka upotrebe olovnog benzina Republici Srbiji 2011. godine, emisija olova na ovom lokalitetu znatno smanjena.

Tabela 16. Rangiranje uzoraka na osnovu SON-a, PROMETHEE-a i PMC-a. Skraćenice naziva lokaliteta: B - Botanička bašta, K - Karađorđev Park, S - Studentski Park, Z - Zemunski Park; Oznake načina pripreme uzoraka: **1** - netretirani, **2** – oprani dejonizovanom vodom, **3** – oprani hloroformom; vrednosti u zagradama: (rang PROMETHEE-a) i [PMC vrednost]. Klase SON-a: III - uzorci sa najvišim koncentracijama, II - uzorci sa srednjim koncentracijama, I - uzorci sa najnižim koncentracijama

SON	<i>A. hippocastanum</i>	<i>Tilia spp.</i>	<i>B. pendula</i>	<i>A. platanoides</i>
III	maj	B: /* K: / S: / Z: /	B: / K: / S: / Z: /	B: / K: / S: / Z: /
	sept.	B: / K: / S: 1 (3),[3,03]; 2 (9),[2,01] Z: 1 (21),[1,96]	B: / K: 1 (8),[2,87]; 2 (17),[2,09] S: 1 (11),[2,14]; 2 (18),[1,65] Z: 1 (1),[5,05]; 2 (4),[2,85]	B: / K: 1 (6),[1,77]; 2 (7),[1,36] S: 1 (5),[2,10]; 2 (16),[1,47] Z: 1 (2), [2,59]
	maj	B: / K: 1 (32),[1,05] S: / Z: /	B: / K: / S: 1 (37),[1,00] Z: 1 (29),[1,74]	B: / K: 1 (15),[1,25]; 2 (23),[0,87] S: / Z: 1 (34),[1,32]; 2 (52),[1,01]
	sept.	B: 1 (13),[1,15] K: 1 (33),[1,38]; 2 (48),[1,02] S: / Z: 2 (45),[1,20]	B: / K: / S: / Z: /	B: 1 (20),[1,30] K: 1 (12),[1,52]; 2 (24),[1,24] S: / Z: 1 (10), [2,59]; 2 (19), [2,02]
II	maj	B: 1 (25),[0,72]; 2 (43),[0,52] K: 2 (44), [0,80] S: 1 (31),[1,10]; 2 (42),[0,88] Z: 1 (56),[0,96]; 2 (62),[0,59]	B: 1 (50),[0,64]; 2 (60),[0,36] K: 2 (55),[0,54] S: 2 (63),[0,52] Z: 2 (64),[0,54]	B: 1 (27),[0,51]; 2 (41),[0,44] K: / S: / Z: /
	sept.	B: 2 (51),[0,79]; 3 (58),[0,54] K: / S: / Z: /	B: 1 (40),[0,90]; 2 (47),[0,77]; 3 (57),[0,56] K: / S: / Z: /	B: 1 (54),[0,64]; 2 (59),[0,43] K: 2 (53),[0,55] S: 2 (49),[0,65] Z: 2 (61),[0,60]
	maj	B: 2 (51),[0,79]; 3 (58),[0,54] K: / S: / Z: /	B: 1 (40),[0,90]; 2 (47),[0,77]; 3 (57),[0,56] K: / S: / Z: /	B: 2 (26),[1,15]; 3 (38),[0,92] K: / S: / Z: /
	sept.	B: 2 (51),[0,79]; 3 (58),[0,54] K: / S: / Z: /	B: 1 (40),[0,90]; 2 (47),[0,77]; 3 (57),[0,56] K: / S: / Z: /	B: 2 (26),[1,15]; 3 (38),[0,92] K: / S: / Z: /
I	maj	B: 2 (51),[0,79]; 3 (58),[0,54] K: / S: / Z: /	B: 1 (40),[0,90]; 2 (47),[0,77]; 3 (57),[0,56] K: / S: / Z: /	B: 2 (26),[1,15]; 3 (38),[0,92] K: / S: / Z: /

*Uzorci biljne vrste/sa tog lokaliteta nisu klasifikovani u posmatranu SON klasu/sezonu.

Normalna distribucija koncentracija elemenata je potvrđena korišćenjem K-S testa ($p > 0,05$), nakon što je primenjena logaritamska transformacija podataka, osim za Cr i Zn. Prilikom analize razlika između SON klasa, ustanovljene su značajne razlike ($p < 0,05$) za vrednosti svih elemenata. Naime, klasa III se značajno razlikuje od ostale dve klase u vrednostima svih elemenata (osim Ba i Sb između klasa III i II), dok su razlike između klasa II i I bile značajne za koncentracije Al, V, Mn, Fe, Co, Ni, Pb, Cr, Zn. Uopšteno gledano, sadržaji elemenata u tragovima u listovima uglavnom nisu prelazili vrednosti RB (Markert, 1992), osim u slučaju elemenata Al, Fe, As i Sb (Slika 29.), koji su imali više vrednosti koncentracija od RB tokom cele godine.

Sezonska akumulacija se može uočiti posmatrajući rangiranje uzoraka uz pomoć PROMETHEE-a i klasa SON-a, jer su jesenji uzorci uglavnom rangirani iznad prolećnih uzoraka, tj. nalaze se u višoj klasi SON-a. Razlike u sezonskim koncentracijama ispitivanih elemenata su bile značajne ($p < 0,05$), osim u slučaju Cu i Zn. Takođe, jesenji uzorci oprani vodom su uglavnom rangirani na višim pozicijama (tj. imaju veći sadržaj elemenata u sebi) nego netretirani prolećni uzorci, osim uzoraka *A. hippocastanum* i *B. pendula* sakupljenim u Karađorđevom parku. S obzirom da su uzorci iz Botaničke bašte oprani i hloroformom, rangiranje tih uzoraka je nešto drugačije. Uzorci *B. pendula* i *A. platanooides*, sakupljeni u Botaničkoj bašti, su imali opadajući trend: $S1 > S2 > S3 > M1 > M2$ (S – septembar, M – maj; 1 – netretirani, 2 – oprani vodom, 3 – oprani hloroformom), jer su jesenji uzorci bili rangirani iznad prolećnih, a netretirani iznad opranih uzoraka. Rangiranje uzoraka *Tilia* spp. je bilo $S1 > S2 > M1 > S3 > M2$, a uzoraka *A. hippocastanum* $S1 > M1 > S2 > M2 > S3$. Ovo ukazuje da rangiranje uzoraka zavisi od količine uklonjenih frakcija sa površine listova i/ili iz voštanog sloja, i razlikuje se u zavisnosti od vrste drveta, verovatno zbog specifičnih morfoloških svojstava, kao što je pomenuto ranije. Na osnovu rezultata SON-a i PROMETHEE-a zaključeno je da je lokalitet sa najvišim koncentracijama elemenata u tragovima bio Studentski park, dok je biljna vrsta sa najvećom akumulacijom elemenata u tragovima bila *A. platanooides*. Rangiranje na osnovu PMC vrednosti je dalo drugačije rezultate (najzagađeniji lokalitet je bio Zemunski park, a najveća akumulacija elemenata je uočena kod vrste *Tilia* spp.), što ukazuje na bolju kompatibilnost SON-a i PROMETHEE-a za klasifikaciju i rangiranje uzoraka u biomonitoring istraživanjima.

S obzirom da SON klasifikuje uzorke bez posebnog redosleda i rangiranja, broj uzoraka dodeljenih u SON klase je iskorišćen za podelu uzoraka rangiranih PROMETHEE-om i na osnovu PMC vrednosti u grupe slične SON klasama. Tako prvih 14 uzoraka rangiranih PROMETHEE-om i PMC-om predstavlja klasu III, sledećih 21 uzoraka klasu II i poslednjih 29 uzoraka klasu I (Tabela 17.); klasa III predstavlja uzorke sa najvišim koncentracijama elemenata, a klasa I uzorke sa najnižim koncentracijama. Kada se upoređuju rezultati SON-a i PROMETHEE-a, 46 od 64 (72 %) uzoraka je klasifikovano u istu klasu, dok je 18 uzoraka (28 %) klasifikovano u različite klase. Većina elemenata koji su dodeljeni u različite klase su bili rangirani u gornjem ili donjem delu svojih klasa u SON-u i/ili PROMETHEE-u. To su uglavnom prolećni netretirani uzorci, ili jesenji uzorci oprani vodom; dakle, prolećni uzorci sa neznatno povišenim koncentracijama elemenata ili jesenji uzorci sa relativno smanjenim koncentracijama. Ako se u obzir uzmu i rezultati PMC-a, 40 od 64 uzoraka (62,5 %) su klasifikovani u iste klase korišćenjem sve tri metode, dok su ostali uzorci (24 uzoraka – 37,5 %) klasifikovani u iste klase korišćenjem dve od tri metode (SON, PROMETHEE i PMC). Dakle, postoji veliki stepen slaganja u rezultatima klasifikovanja uzoraka korišćenjem sve tri metode, što ukazuje na mogućnost njihovog uporednog korišćenja. Ipak, kao što je navedeno ranije, SON i PROMETHEE imaju bolji stepen slaganja, i njihova kombinacija predstavlja bolji izbor za ovakav tip istraživanja.

Tabela 17. Rangiranje uzoraka SON-om, PROMETHEE-om i PMC-om. Skraćenice naziva uzoraka su prikazane po redosledu – biljna vrsta, lokalitet, sezona i priprema uzoraka. T, AH, AP i BP - *Tilia* spp., *A. hippocastanum*, *A. platanooides* i *B. pendula*; Z, S, K, B - Zemunski park, Studentski park, Karađorđev park i Botanička bašta; S i M – septembar i maj; 1, 2, 3 – netretirani, oprani dejonizovanom vodom, oprani hloroformom. I, II, i III – klase nivoa zagađenja, klasa III odgovara najvišim (podebljano), klasa II srednjim (kurziv) i klasa I najnižim (podvučeno) vrednostima koncentracija elemenata. Skraćenice naziva uzoraka su prikazane u Prilogu 1. Tabela 3.

uzorak	PROMETHEE		SON klasa	PMC	
	rang	ϕ		rang	vrednost
TZS1	1	0,500	III	1	5,05
APZS1	2	0,394	III	6	2,59
AHSS1	3	0,306	III	2	3,03
TZS2	4	0,221	III	4	2,85
APSS1	5	0,212	III	8	2,10
APKS1	6	0,175	III	13	1,77
APKS2	7	0,130	III	<i>20</i>	<i>1,36</i>
TKS1	8	0,129	III	3	2,87
AHSS2	9	0,124	III	11	2,01
BPZS1	10	0,102	<i>II</i>	<i>5</i>	<i>2,59</i>
TSS1	11	0,096	III	7	2,14
BPKS1	12	0,094	<i>II</i>	<i>16</i>	<i>1,52</i>
AHBS1	13	0,077	<i>II</i>	<i>29</i>	<i>1,15</i>
APBS1	14	0,077	<i>II</i>	<i>18</i>	<i>1,41</i>
BPKM1	<i>15</i>	<i>0,065</i>	<i>II</i>	<i>23</i>	<i>1,25</i>
APSS2	<i>16</i>	<i>0,055</i>	III	<i>17</i>	<i>1,47</i>
TKS2	<i>17</i>	<i>0,049</i>	III	9	2,09
TSS2	<i>18</i>	<i>0,042</i>	III	<i>15</i>	<i>1,65</i>
BPZS2	<i>19</i>	<i>0,037</i>	<i>II</i>	10	2,02
BPBS1	<i>20</i>	<i>0,034</i>	<i>II</i>	<i>22</i>	<i>1,30</i>
AHZS1	<i>21</i>	<i>0,033</i>	III	12	1,96
APZS2	<i>22</i>	<i>0,025</i>	<i>II</i>	<i>27</i>	<i>1,17</i>
BPKM2	<i>23</i>	<i>0,015</i>	<i>II</i>	<u>42</u>	<u>0,87</u>
BPKS2	<i>24</i>	<i>0,006</i>	<i>II</i>	<i>25</i>	<i>1,24</i>
AHBM1	<i>25</i>	<i>0,001</i>	<u>I</u>	<u>48</u>	<u>0,72</u>
APBS2	<i>26</i>	<i>-0,003</i>	<u>I</u>	<i>28</i>	<i>1,15</i>
BPBM1	<i>27</i>	<i>-0,005</i>	<u>I</u>	<u>61</u>	<u>0,51</u>
BPBS2	<i>28</i>	<i>-0,010</i>	<u>I</u>	<i>33</i>	<i>1,02</i>
TZM1	<i>29</i>	<i>-0,012</i>	<i>II</i>	14	1,74
APKM1	<i>30</i>	<i>-0,016</i>	<i>II</i>	<u>36</u>	<u>0,99</u>
AHSM1	<i>31</i>	<i>-0,020</i>	<u>I</u>	<i>30</i>	<i>1,10</i>
AHKM1	<i>32</i>	<i>-0,030</i>	<i>II</i>	<i>31</i>	<i>1,05</i>

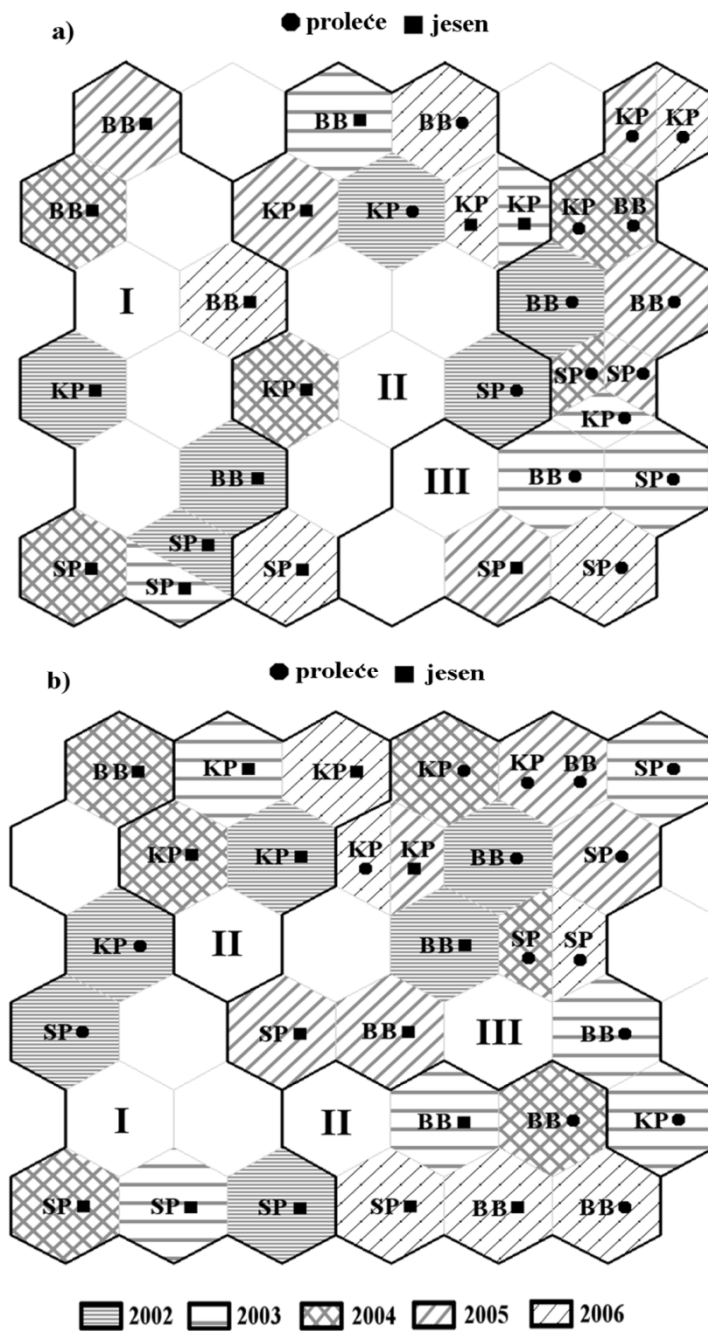
AHKS1	<u>33</u>	<u>-0,032</u>	<u>II</u>	<u>19</u>	<u>1,38</u>
BPZM1	<u>34</u>	<u>-0,035</u>	<u>II</u>	<u>21</u>	<u>1,32</u>
APSM1	<u>35</u>	<u>-0,045</u>	<u>II</u>	<u>40</u>	<u>0,89</u>
BPBS3	<u>36</u>	<u>-0,046</u>	<u>I</u>	<u>46</u>	<u>0,78</u>
TSM1	<u>37</u>	<u>-0,048</u>	<u>II</u>	<u>35</u>	<u>1,00</u>
APBS3	<u>38</u>	<u>-0,049</u>	<u>I</u>	<u>38</u>	<u>0,92</u>
TKM1	<u>39</u>	<u>-0,054</u>	<u>I</u>	<u>43</u>	<u>0,81</u>
TBS1	<u>40</u>	<u>-0,055</u>	<u>I</u>	<u>39</u>	<u>0,90</u>
BPBM2	<u>41</u>	<u>-0,059</u>	<u>I</u>	<u>62</u>	<u>0,44</u>
AHSM2	<u>42</u>	<u>-0,065</u>	<u>I</u>	<u>41</u>	<u>0,88</u>
AHBM2	<u>43</u>	<u>-0,066</u>	<u>I</u>	<u>59</u>	<u>0,52</u>
AHKM2	<u>44</u>	<u>-0,071</u>	<u>I</u>	<u>44</u>	<u>0,80</u>
AHZS2	<u>45</u>	<u>-0,071</u>	<u>II</u>	<u>26</u>	<u>1,20</u>
APZM1	<u>46</u>	<u>-0,073</u>	<u>II</u>	<u>24</u>	<u>1,25</u>
TBS2	<u>47</u>	<u>-0,076</u>	<u>I</u>	<u>47</u>	<u>0,77</u>
AHKS2	<u>48</u>	<u>-0,076</u>	<u>II</u>	<u>32</u>	<u>1,02</u>
APSM2	<u>49</u>	<u>-0,080</u>	<u>I</u>	<u>49</u>	<u>0,65</u>
TBM1	<u>50</u>	<u>-0,084</u>	<u>I</u>	<u>51</u>	<u>0,64</u>
AHBS2	<u>51</u>	<u>-0,086</u>	<u>I</u>	<u>45</u>	<u>0,79</u>
BPZM2	<u>52</u>	<u>-0,098</u>	<u>II</u>	<u>34</u>	<u>1,01</u>
APKM2	<u>53</u>	<u>-0,099</u>	<u>I</u>	<u>55</u>	<u>0,55</u>
APBM1	<u>54</u>	<u>-0,111</u>	<u>I</u>	<u>50</u>	<u>0,64</u>
TKM2	<u>55</u>	<u>-0,116</u>	<u>I</u>	<u>58</u>	<u>0,54</u>
AHZM1	<u>56</u>	<u>-0,125</u>	<u>I</u>	<u>37</u>	<u>0,96</u>
TBS3	<u>57</u>	<u>-0,125</u>	<u>I</u>	<u>54</u>	<u>0,56</u>
AHBS3	<u>58</u>	<u>-0,127</u>	<u>I</u>	<u>56</u>	<u>0,54</u>
APBM2	<u>59</u>	<u>-0,142</u>	<u>I</u>	<u>63</u>	<u>0,43</u>
TBM2	<u>60</u>	<u>-0,152</u>	<u>I</u>	<u>64</u>	<u>0,36</u>
APZM2	<u>61</u>	<u>-0,156</u>	<u>I</u>	<u>52</u>	<u>0,60</u>
AHZM2	<u>62</u>	<u>-0,159</u>	<u>I</u>	<u>53</u>	<u>0,59</u>
TSM2	<u>63</u>	<u>-0,160</u>	<u>I</u>	<u>60</u>	<u>0,52</u>
TZM2	<u>64</u>	<u>-0,162</u>	<u>I</u>	<u>57</u>	<u>0,54</u>

Bez multivarijantnog klasifikovanja/rangiranja, teško je dobiti podatke o ukupnom sadržaju elemenata u tragovima u uzorcima listova, te je upotreba SON-a i PROMETHEE-a vrlo korisna i precizna. Korišćenjem PROMETHEE-a uzorci se rangiraju na osnovu sadržaja elemenata u njima, ali nije jasno definisano kolike su razlike između tih sadržaja. Ukupan tok (Φ), iako je predstavljen numeričkom vrednošću, se ponekad ne može koristiti za kvantifikovanje razlika između sadržaja elemenata, jer pokazuje kako se neki uzorak rangiran na višu poziciju od drugog, ali nije uvek jasno da li postoji značajna razlika između njih. S druge strane, *SON* raspoređuje uzorke u nekoliko klasa na osnovu sličnosti između sadržaja elemenata u njima, stavljajući u istu klasu one uzorke koji se na osnovu ukupne količine elemenata u njima značajno razlikuju od ostalih uzoraka. Stoga je kombinacija SON i PROMETHEE analize pogodan metod klasifikacije/rangiranja za potrebe procene koncentracija elemenata u tragovima u biomonitoringu korišćenjem listova drveća.

4.1.4.2. Klusterska analiza

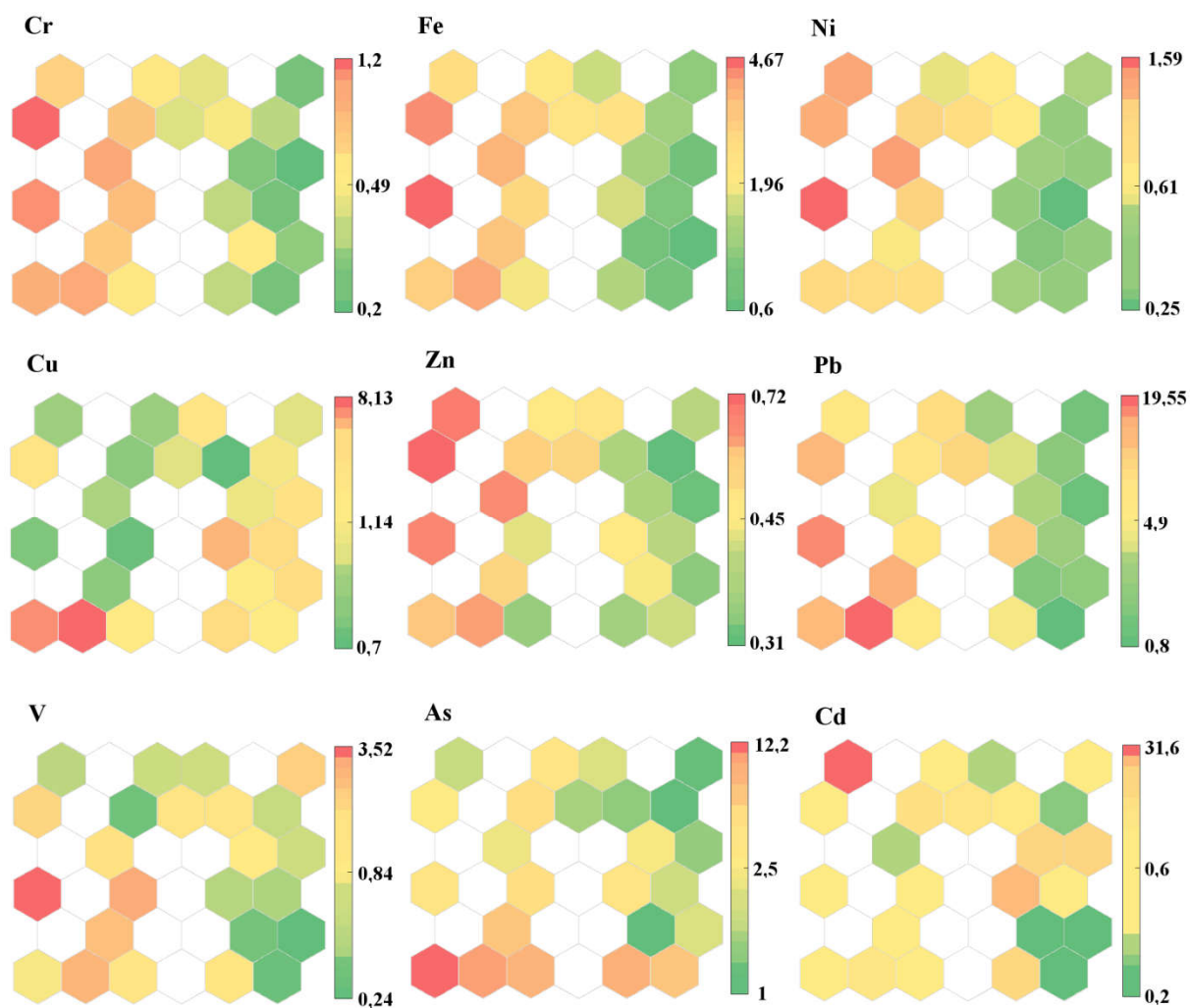
4.1.4.2.1. SOM

SOM analize su urađene za uzorke listova sakupljene u periodu od 2002. do 2006. godine, pojedinačne za svaku od dve biljne vrste, *A. hippocastanum* i *Tilia* spp. (Deljanin *et al.*, 2015a). Nakon toga je urađena SOM analiza za uzorke sakupljene 2014. godine, prvo sve zajedno, a potom i po pojedinačnim vrstama (*A. hippocastanum*, *Tilia* spp., *B. pendula*, *A. platanoides*). Na osnovu SOM analize je utvrđivana sličnost uzoraka, na osnovu formiranih grupa uzoraka. Dati su kombinovani rezultati SOM-a i SON-a za uzorke iz perioda 2002.-2006. godine (Slika 31.) i mape komponenti za pojedinačne faktore zagađenja u istim uzorcima (Slika 32. i Slika 33.), da bi se utvrdili prostorni i vremenski obrasci (sezonske razlike i godišnji trendovi) u koncentracijama elemenata u tragovima u urbanoj sredini.

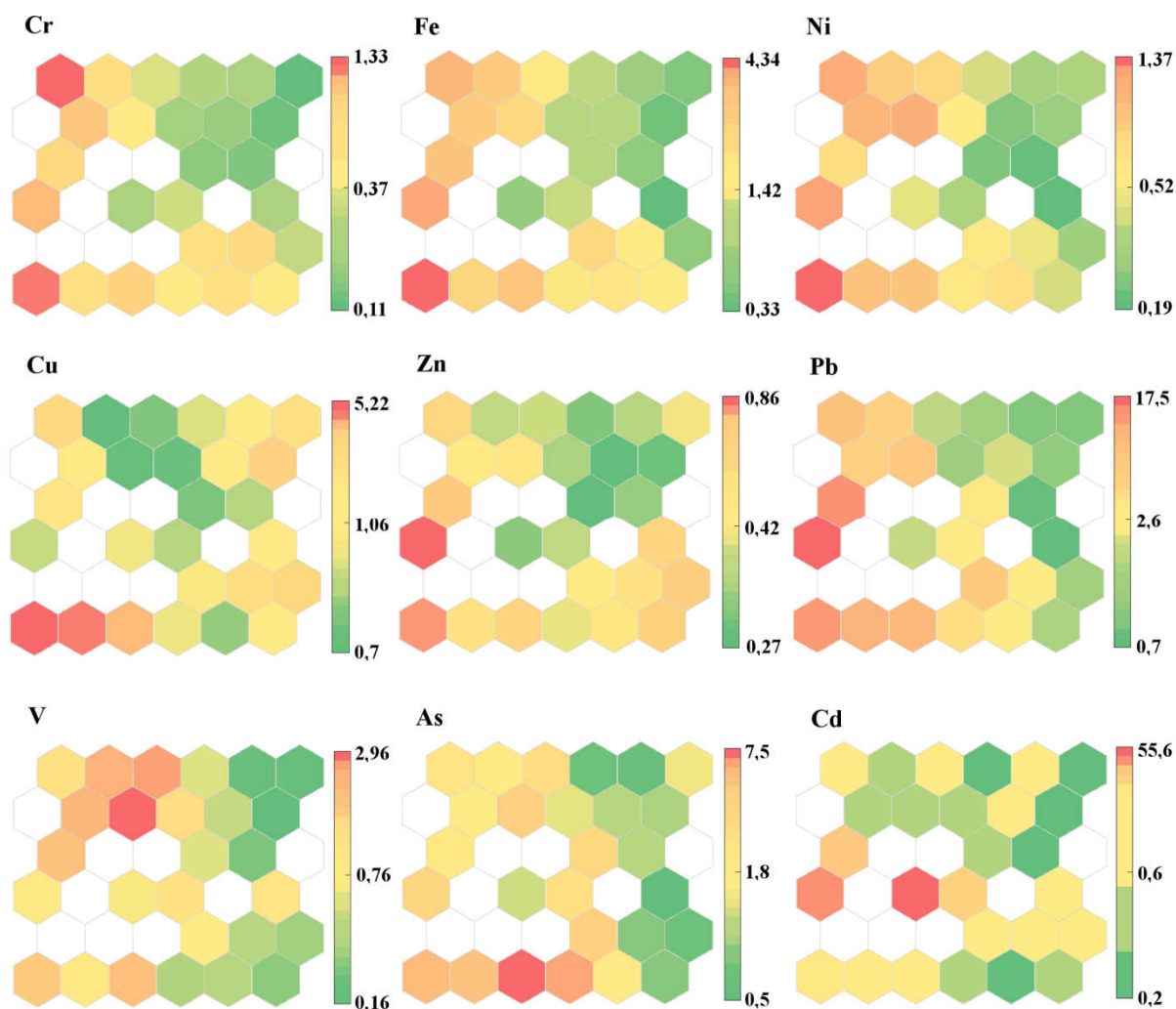


Slika 31. Rezultati SOM-a za faktore zagađenja elemenata u tragovima u uzorcima listova (2002.-2006. godina): a) *A. hippocastanum* b) *Tilia* spp. I, II, i III – klase SON-a, klasa I predstavlja najviši, klasa II srednji i klasa II najniži nivo zagađenja.

Na SOM mapi je uočljiva sezonska akumulacija tokom vegetacione sezone za sve ispitivane godine, posebno kod uzoraka *A. hippocastanum* (Slika 31a), jer su posebni klasteri formirani za prolećne i jesenje uzorke, koji se poklapaju sa jedinicama mape komponenti sa nižim i višim faktorima zagađenja, redom (Slika 32.). Prolećni uzorci su grupisani, jer su prolećni listovi izloženi zagađenju iz vazduha tokom kraćeg vremena, i skoro su potpuno odvojeni od jesenjih uzoraka, sa izuzetkom jesenjih uzoraka iz KP, sakupljenih 2003. i 2006., i iz SP, sakupljenih 2005. godine. Jesenji uzorci, iako formiraju jedan klaster, su rasutiji i stoga manje slični između sebe nego prolećni uzorci. Razlog je verovatno što su jesenji listovi izloženi zagađenju tokom dužeg vremenskog perioda, tokom koga dolazi do promena intenziteta emisija elemenata u tragovima iz različitih izvora. U slučaju *Tilia* spp. uzoraka (Slika 31b), prolećni uzorci sakupljeni iz KP i SP 2002. godine su odvojeni od ostatka prolećnih uzoraka i nalaze se na drugoj strani mape, gde se uglavnom nalaze jesenji uzorci. S druge strane, na mapi komponenti (Slika 33.) za uzorke *Tilia* spp., prolećni i jesenji klasteri ne odgovaraju u potpunosti jedinicama mape sa nižim i višim faktorima zagađenja uzoraka.



Slika 32. Mape komponenti SOM-a za faktore zagađanja elemenata u tragovima u uzorcima listova *A. hippocastanum*. Mape komponenti odgovaraju SOM-u prikazanom na Slici 31a. Boje ukazuju na vrednosti faktora zagađanja elemenata u tragovima (skala na desnoj strani mape komponenti).



Slika 33. Mape komponenti SOM-a za faktore zagađenja elemenata u tragovima u uzorcima listova *Tilia* spp. Mape komponenti odgovaraju SOM-u prikazanom na Slici 31b. Boje ukazuju na vrednosti faktora zagađenja elemenata u tragovima (skala na desnoj strani mape komponenti).

U pogledu godišnjih obrazaca u faktorima zagađenja elementima u tragovima u uzorcima listova, klasteri pojedinačnih godina nisu izdvojeni (Slika 31.). Ipak, manji klasteri koji se sastoje od nekoliko uzoraka su uočljivi za svaku godinu. Za uzorke *A. hippocastanum* najistaknutije su grupe uzoraka iz 2002. i 2003. godine, a potom grupe uzoraka iz 2004. i 2006. godine, dok su u slučaju *Tilia* spp., formirane grupe uzoraka iz svih godina. Ipak, neke razlike u nivou zagađenja elementima u tragovima tokom perioda 2002.-2006. se mogu uočiti, jer su uzorci sakupljeni od 2002. do 2004. uglavnom grupisani zajedno, dok su uzorci

sakupljeni 2005. i 2006. formirali zasebne klastere. Najviše koncentracije za većinu elemenata su izmerene 2002. i 2004. godine, osim u slučaju Cd, dok su najniže izmerene u kasnijim godinama istraživanja, od 2004. do 2006. godine, osim za Fe. Stoga se može zaključiti da je emisija određenih elemenata u tragovima bila dominantna tokom nekog vremena. Može se pretpostaviti da su individualni doprinosi pojedinačnih elemenata bili različiti tokom tog perioda, dok je nivo ukupnog zagađenja elementima u tragovima bio viši na početku ispitivanog perioda i niži na njegovom kraju, što se takođe može uočiti u klasifikaciji uzoraka (Slika 30.).

Delimičan prostorni obrazac je uočen kod uzoraka *A. hippocastanum* (Slika 31a), jer su uzorci sakupljeni u SP formirali dva odvojena klastera, jedan koji se sastoji od jesenjih uzoraka i odgovara visokim faktorima zagađenja većine elemenata (Slika 32.), i drugi koji se sastoji od prolećnih i uzoraka sakupljenih u jesen 2005., koji imaju niske faktore zagađenja. Ipak, u slučaju Cu, prolećni uzorci iz SP imaju srednje nivoe vrednosti faktora zagađenja. Većina uzoraka iz KP formira grupu koja je u potpunosti odvojena od uzoraka iz SP, osim uzorka iz proleća 2003., što ukazuje da ne postoje sličnosti između ova dva lokaliteta. Uzorak iz KP sakupljen u jesen 2002. godine je odvojen od ostalih uzoraka, verovatno usled visoke koncentracije većine elemenata u njemu. Uzorci sa BB lokaliteta formiraju nekoliko manjih grupa koje se nalaze blizu uzoraka iz SP i iz KP, ukazujući na sličnosti u akumulaciji elemenata u tragovima sa oba lokaliteta. Takođe, dva uzorka iz BB, koji su uzorkovani 2004. i 2005. godine, formiraju mali klaster odvojen od ostalih uzoraka.

Slični rezultati su dobijeni i za uzorke *Tilia* spp. (Slika 31b): SP uzorci takođe formiraju dve grupe sa višim i nižim faktorima zagađenja, osim uzorka iz proleća 2002. koji je odvojen od ostalih, a imao je visoke koncentracije svih elemenata, osim Cu, i uzorka iz jeseni 2005. godine, koji je imao visoke koncentracije svih elemenata i najviše vrednosti Cd (Slika 33.). Takođe, uzorci sakupljeni u KP i BB su formirali klastere, iako uzorci iz BB nisu bili blisko postavljeni na mapi, što ukazuje na veću sličnost uzoraka iz KP.

Na mapi komponenti za uzorke *A. hippocastanum* (Slika 32.) formirani su skoro odvojeni klasteri visokih i niskih faktora zagađenja. Uzorci sa najvišim koncentracijama za većinu ispitivanih elemenata u tragovima su grupisani na levoj strani mape, dok su uzorci sa

najnižim vrednostima grupisani na desnoj strani mape, osim Cu i delimično Cd, u čijim slučajevima je gradijent bio skoro suprotan. Dva manja klastera su izdvojena na gornjem levom delu mape, i sastoje se uglavnom od uzoraka sa visokim vrednostima faktora zagađenja. Uzorci sakupljeni iz KP, tokom jeseni 2002. su imali maksimalne vrednosti faktora zagađenja za Fe, Ni i V, visoke za Pb, Zn i Cr, ali niske i umerene vrednosti za Cu, As, Cd. Dva uzorka iz BB, sakupljeni tokom jeseni 2004. i 2005. godine su imali visoke vrednosti faktora zagađenja za Cr, Zn i Cd i srednje za Fe i Ni. Najviše vrednosti za Cu su izmerene u uzorcima sakupljenim u jesen 2002. i 2004. godine u SP. Ti uzorci su imali i najviše vrednosti Pb i As i umerene vrednosti ostalih elemenata u tragovima. Ovi rezultati su u saglasnosti sa rezultatima korelacione analize, gde su dobijeni korelacioni koeficijenti >0,6 za pomenute elemente (Fe, Ni, V, Pb, Zn i Cr, ali takođe i Cu, Pb i As) (Tabela 18.). Navedeni elementi uglavnom potiču iz izduvnih gasova vozila i drugih emisija iz saobraćaja.

Tabela 18. Rezultati korelacione analize za uzorke *A. hippocastanum* (2002.-2006. godina)

	Cr	Fe	Ni	Cu	Zn	Pb	V	As	Cd
Cr	1,00								
Fe	0,93	1,00							
Ni	0,83	0,88	1,00						
Cu	0,29	0,27	-0,01	1,00					
Zn	0,84	0,82	0,82	0,30	1,00				
Pb	0,76	0,83	0,57	0,68	0,70	1,00			
V	0,57	0,70	0,62	0,18	0,44	0,67	1,00		
As	0,42	0,38	0,19	0,70	0,29	0,61	0,23	1,00	
Cd	-0,01	0,02	0,20	-0,01	0,28	0,02	-0,16	-0,07	1,00

Mapa komponenti sadržaja elemenata u tragovima u uzorcima *Tilia* spp. je imala drugačiji raspored (Slika 33.). Uzorci sa najvišim vrednostima faktora zagađenja se nalaze u levom i donjem levom delu mape, dok su uzorci na najnižim vrednostima grupisani na desnom i gornjem desnom delu, u zavisnosti od elementa. Ipak, korelacije između elemenata uočene kod uzoraka *A. hippocastanum* su takođe uočene i na mapi komponenti *Tilia* spp. i potvrđene su korelacionom analizom (Tabela 19.). Dobijeni koeficijenti korelacije su bili >0,6 za elemente Fe, Cr, Ni, Zn i Pb. U slučaju Cu, najviše vrednosti su takođe dobijene za uzorke sakupljene u SP, tokom jeseni 2002.-2004. Ipak, ovi uzorci su imali i visoke do umerene nivoe svih elemenata u tragovima.

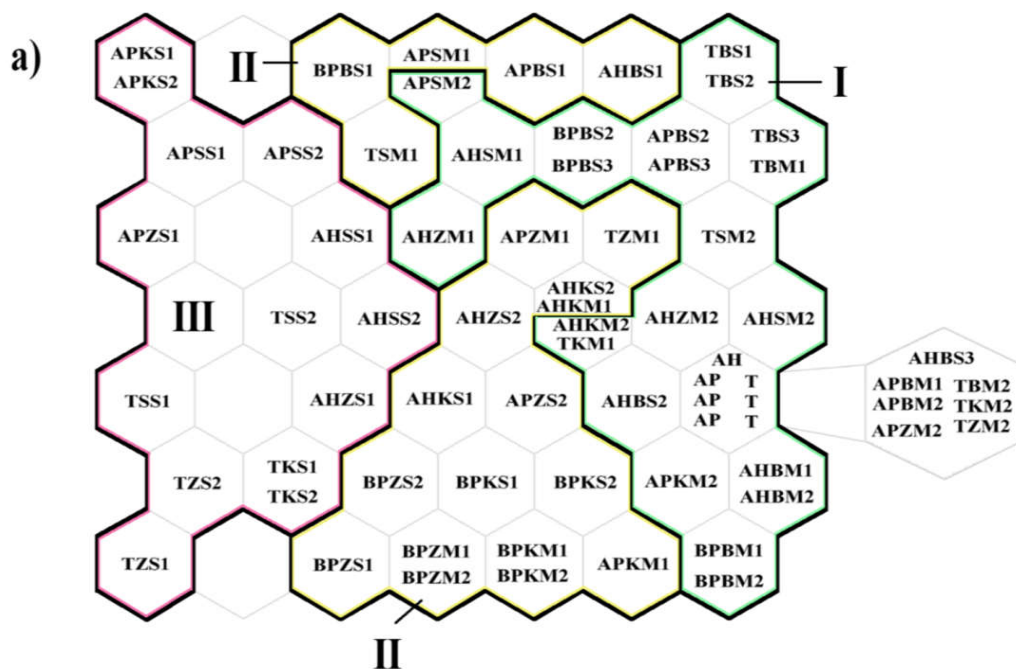
Tabela 19. Rezultati korelacione analize za uzorke *Tilia* spp. (2002.-2006. godina)

	Cr	Fe	Ni	Cu	Zn	Pb	V	As	Cd
Cr	1,00								
Fe	0,88	1,00							
Ni	0,83	0,93	1,00						
Cu	0,50	0,53	0,53	1,00					
Zn	0,66	0,71	0,65	0,40	1,00				
Pb	0,69	0,85	0,78	0,43	0,77	1,00			
V	0,33	0,50	0,61	0,03	0,19	0,41	1,00		
As	0,37	0,54	0,55	0,42	0,30	0,55	0,40	1,00	
Cd	0,07	0,10	0,14	-0,09	0,28	0,35	0,01	0,00	1,00

Kao što je već pomenuto, klaster uzoraka iz SP se poklapa sa najvišim i umerenim vrednostima faktora zagađenja za Cu u uzorcima *A. hippocastanum* (Slika 32.), dok su u slučaju *Tilia* spp. najviše vrednosti bile u jesenjim uzorcima, i umerene i niske u prolećnim uzorcima (Slika 33.). Ovo je verovatno posledica lokalnog izvora Cu (verovatno radionica za obradu metala), kao što je prethodno uočeno (Aničić *et al.*, 2011). Stoga, izgleda da je Cu dominantan element u listovima na SP lokalitetu.

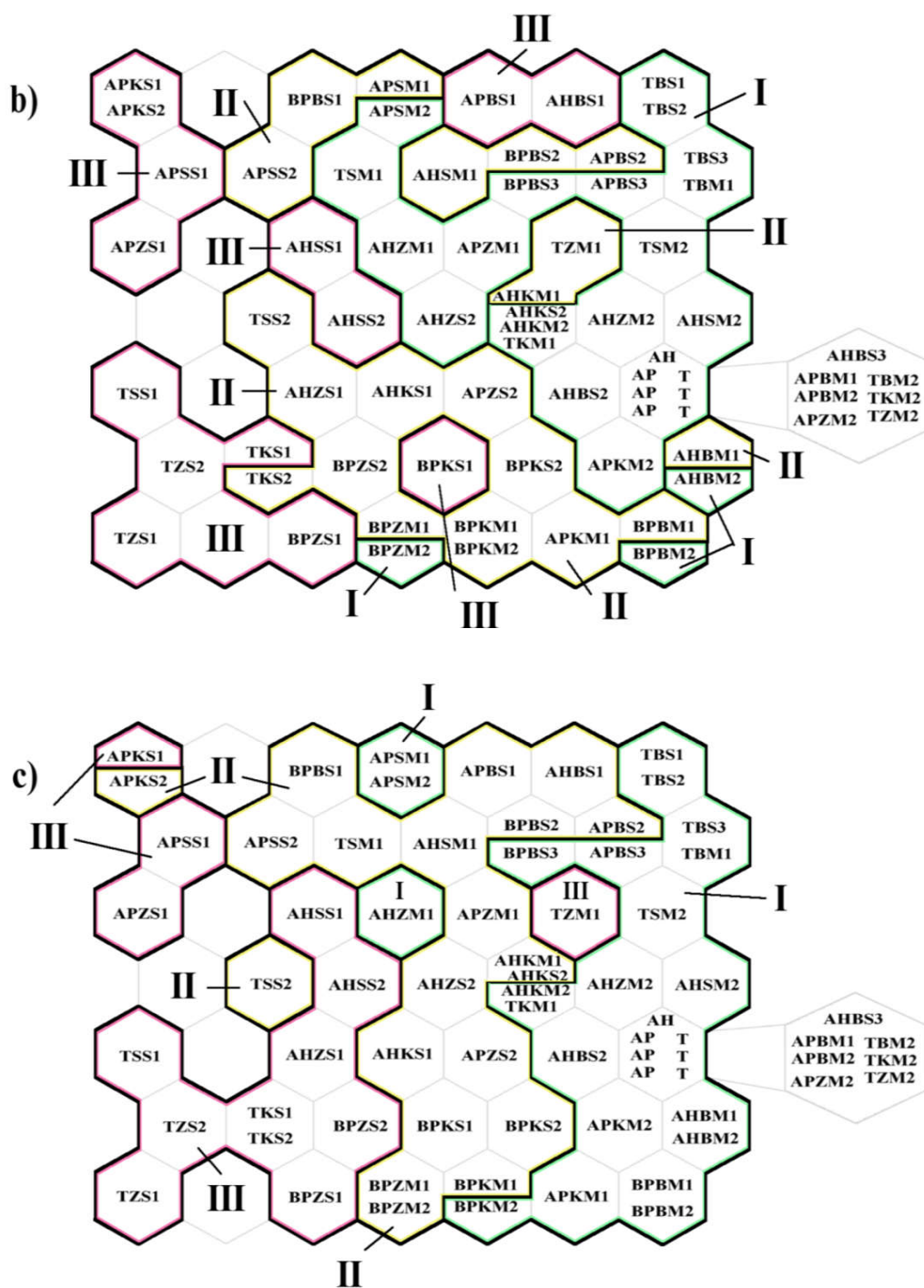
Mogućnost kombinovanja SOM analize sa nekom od metoda klasifikovanja i rangiranja uzoraka (SON, PROMETHEE, PMC) je istraživano na primeru uzoraka sakupljenih 2014. godine (Slika 34.). Kombinovane SOM-SON, SOM-PROMETHEE i SOM-PMC analize su prikazane na Slici 34a, 34b i 34c, redom. SOM analiza je pokazala da su uzorci sa višim koncentracijama elemenata u tragovima, koji su sakupljeni u jesen, grupisani na levoj strani mape (lista uzoraka sa skraćenicama je prikazana u Prilogu 1. Tabela 3.) Na desnoj strani mape su grupisani uzorci sa niskim koncentracijama, uglavnom sakupljeni u proleće ili jesenji uzorci oprani vodom ili hloroformom. Uočljivo je da uzorci sa višim koncentracijama formiraju istaknutije klastere, koji se sastoje od uzoraka listova iste vrste, uzorkovanih u jesen. Izgleda da usled visoke koncentracije jednog ili više elemenata u uzorcima postoji manja sličnost između njih, te da su zbog toga uglavnom razdvojeni. Kod uzoraka sa niskim koncentracijama ova pravilnost nije uočena, jer su uzorci bili uglavnom grupisano zajedno, nezavisno od vrste ili lokaliteta sa koga potiču. Ovo se takođe oslikava u činjenici da jedinice mape sa u kojima se nalazi više od jednog uzorka uglavnom sadrže uzorke sa nižim

koncentracijama, pre svega prolećne uzorke ili u nekim slučajevima, jesenje uzorke oprane vodom ili hloroformom. Uočeno je da su netretirani uzorci i uzorci oprani vodom iste vrste, sakupljeni na istom lokalitetu i iste sezone, uglavnom grupisani zajedno u istoj jedinici mape ili u susednim jedinicama.



Slika 34. SOM analiza koncentracije elemenata u uzorcima listova iz 2014. godine za sve biljne vrste u kombinaciji: a) sa SON-om, b) sa PROMETHEE-jem, c) sa PMC-om; I, II i III – SON, PROMETHEE i PMC klase, klasa III odgovara najvišim, klasa II srednjim i klasa I najnižim koncentracijama. PROMETHEE rangovima i vrednostima PMC su dodeljene klase na osnovu broja uzoraka koji pripadaju klasama u SON-u. Skraćenice: vrste: AH – *A. hippocastanum*, T – *Tilia* spp., BP – *B. pendula*, AP – *A. platanoides*; lokaliteti: B - Botanička bašta, K - Karađorđev park, S - Studentski park, Z - Zemunski park; sezona uzorkovanja: M – maj, S – septembar; priprema uzoraka: 1 - netretirani, 2 – oprani dejonizovanom vodom, 3 – oprani hloroformom. Kompletan lista skraćenica u nazivima uzoraka je prikazana u Prilogu

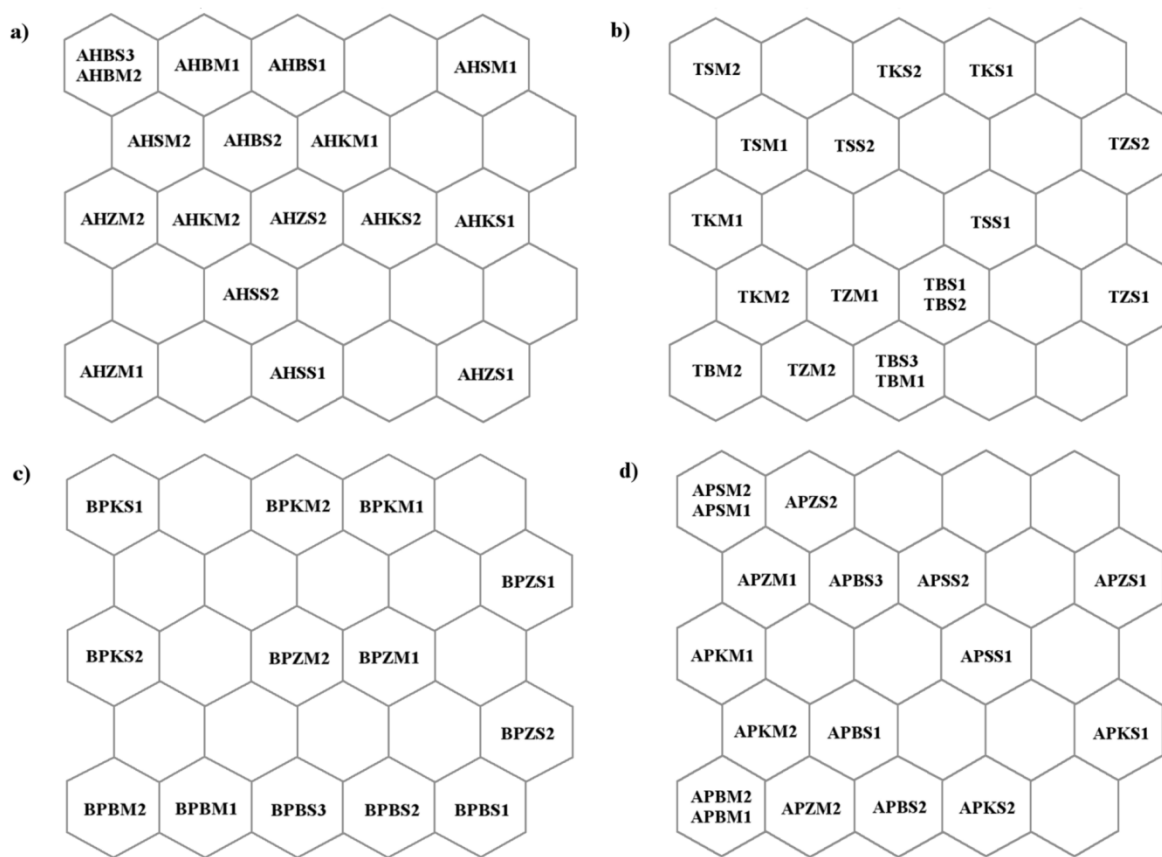
1. Tabela 3.



Slika 34. SOM analiza koncentracije elemenata u uzorcima listova iz 2014. godine za sve biljne vrste u kombinaciji: a) sa SON-om, b) sa PROMETHEE-jem, c) sa PMC-om - Nastavak.

Uzorci sakupljeni u Botaničkoj bašti (B) su grupisani, i formiraju dve manje grupe. Obe grupe čine uzorci klasifikovani u klase sa niskim sadržajem elemenata u tragovima, što ukazuje na nizak nivo zagađenja na ovom lokalitetu. Uzorci iz Zemunskog parka (Z) su uglavnom razdvojeni, što ukazuje na mali stepen sličnosti uzoraka.

SOM analiza za pojedinačne biljne vrste je potvrdila dobijene rezultate (Slika 35.). Uzorci sakupljeni u Botaničkoj bašti formiraju klastere kod svih biljnih vrsta, osim u slučaju *A. platanoides*. Takođe, netretirani uzorci i uzorci oprani vodom sa istih lokaliteta su postavljeni zajedno, kao što je uočeno i na zajedničkoj SOM mapi. Uzorci *A. hippocastanum* oprani vodom su grupisani zajedno, što nije uočeno kod drugih biljnih vrsta.

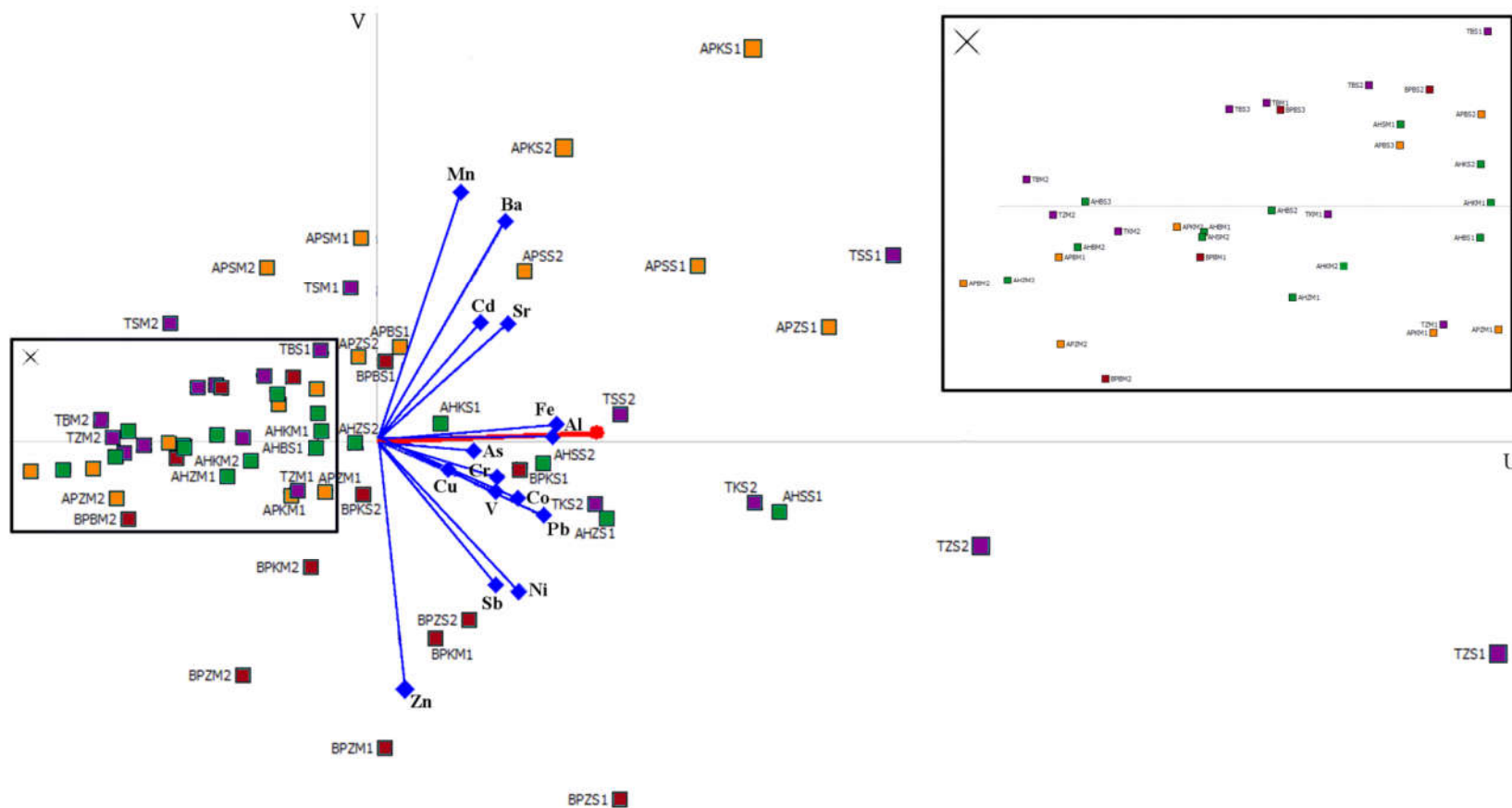


Slika 35. Rezultati SOM analize za koncentracije elemenata u tragovima u uzorcima listova pojedinačnih biljnih vrsta iz 2014. godine: a) *A. hippocastanum*, b) *Tilia* spp., c) *B. pendula*, d) *A. platanoides*.

Multivarijantno klasifikovanje i rangiranje uzoraka, korišćenjem SON-a i PROMETHEE-a se pokazalo kao koristan i pogodan alat za procenjivanje koncentracija elemenata u tragovima u biomonitoringu korišćenjem listova drveća. Iako su rezultati SON-a u boljoj saglasnosti sa rezultatima SOM-a nego što je to slučaj sa rezultatima PROMETHEE-a, kombinacija SON-a i PROMETHEE-a sa dodatkom SOM-a za formiranje klastera podataka može biti korisno za mapiranje lokaliteta i biljnih vrsta prilikom određivanja nivoa zagađenja elementima u tragovima.

4.1.4.2.2. GAIA i analiza glavnih komponenti

Vizuelni komplement PROMETHEE-a, GAIA, pruža vizuelno razumevanje sličnosti između uzoraka (Slika 36.) (Deljanin *et al.*, 2016). Pozicije uzoraka se određuju na osnovu određenog broja kriterijuma, u ovom slučaju, koncentracija elemenata u tragovima, na taj način da su uzorci sa sličnim osobinama (sadržajima elemenata u tragovima) blizu jedni drugima. Raspored uzoraka u GAIA je veoma sličan kao raspored uzoraka na SOM mapi, jer su uzorci sa višim koncentracijama postavljeni na desnoj strani mape i međusobno su udaljeni, dok su uzorci sa niskim koncentracijama postavljeni na levoj strani mape i grupisani su zajedno. Projekcije uzoraka (prikazanih na Slici 36. u obliku kvadrata) na pravac ose ukazuju na njihov odnos sa promenljivom koja označava osu, u ovom slučaju koliko je visoka koncentracija posmatranog elementa u tom uzorku. Na primer, pravci osa ukazuju da su najviše koncentracije Mn i Ba (APKS1) i Cd (APZS1) izmerene u uzorcima *A. platanoides*, Zn u uzorku *B. pendula* (BPZS1), Cu i As u uzorku *A. hippocastanum* (AHSS1), a Al, V, Cr, Co, Ni, Sb i Pb (TZS1) i Sr (TSS1) u uzorcima *Tilia* spp.



Slika 36. 2D GAIA prikaz uzoraka listova ispitivanih biljnih vrsta. Uvećani deo u gornjem desnom uglu (levi deo slike) sadrži uzorke sa najnižim koncentracijama elemenata, i njihov raspored. Uzorci listova – kvadrati u boji, elementi u tragovima – ose, crvena linija – osa „odluke”. Boje kvadrata predstavljaju različite vrste: zelena – *A. hippocastanum*, ljubičasta – *Tilia* spp., braon – *B. pendula*, narandžasta – *A. platanoides*, Spisak uzoraka listova sa skraćenicama je dat u Prilogu 1. Tabela 3.

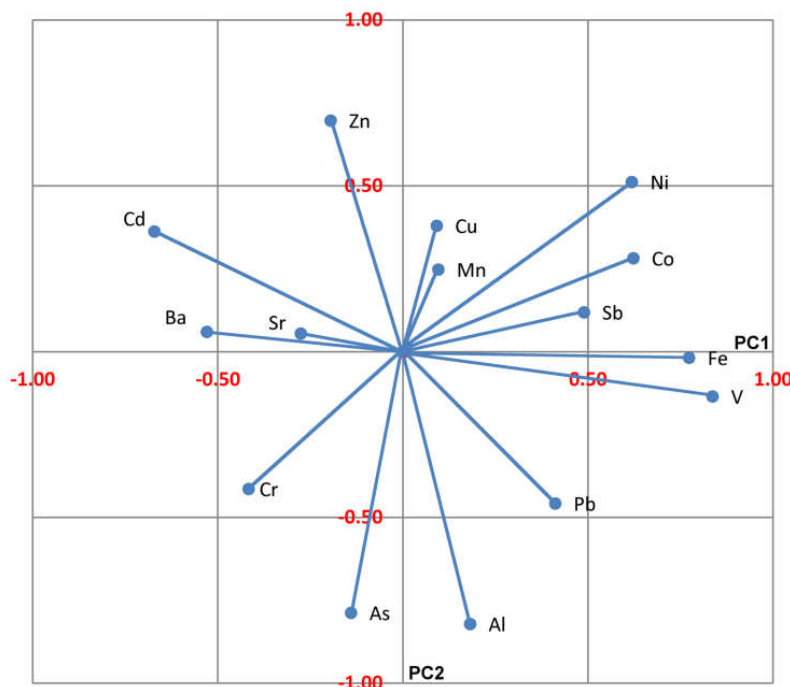
Orijentacija osa na GAIA mapi ukazuje kako su promenljive međusobno povezane. Elementi u tragovima, prikazani kao ose povučene iz centra mape, pokazuju koliko su elementi u vezi jedan s drugim, tj. ose elemenata koji su u korelaciji su blizu jedne drugima. Analiziranjem mape, mogu se uočiti tri grupe elemenata: 1) Al, V, Cr, Fe, Co, Ni, Cu, As, Sr, Sb i Pb; 2) Mn, Ba, Cd i Sr; 3) Zn, Sb i Ni; gde se Sr osa nalazi između prve i druge grupe, a Sb i Ni ose između prve i treće grupe, što ukazuje na njihovu povezanost sa obe grupe (Slika 36.). Grupe odgovaraju komponentama u analizi glavnih komponenti sa ortogonalnom (*Varimax*) rotacijom (Tabela 20.).

Tabela 20. Analiza glavnih komponenti (sa ortogonalnom rotacijom) elemenata u tragovima u uzorcima listova svih ispitivanih biljnih vrsta

	Komponente		
	1	2	3
Al	0,873	0,361	0,152
V	0,813	0,174	0,326
Cr	0,791	0,279	0,324
Mn	0,029	0,902	0,001
Fe	0,721	0,401	0,131
Co	0,670	0,343	0,481
Ni	0,564	0,223	0,728
Cu	0,701	0,096	-0,124
Zn	-0,158	0,030	0,791
As	0,830	0,078	-0,253
Sr	0,547	0,499	0,062
Cd	0,322	0,740	0,070
Sb	0,621	0,051	0,585
Ba	0,212	0,803	0,164
Pb	0,893	0,221	0,287
Varijansa (%)	54	11	10

Ipak, s obzirom da se koncentracije elemenata u tragovima mogu smatrati podacima koji imaju konstantan zbir, mora se obratiti pažnja na potencijalni efekat „zatvorenosti podataka” (Filzmoser *et al.*, 2009a; Reimann *et al.*, 2012a). Naime, ose elemenata na GAIA mapi su mahom sve grupisane zajedno u desnom delu slike, što ukazuje da je efekat „zatvorenih podataka” prisutan i može da dovede do pogrešnih zaključaka. Zbog toga je na originalan set podataka primenjena „centrirana” logaritamska transformacija (clr) koja omogućava pravilan prikaz ovakvog tipa podataka i odražava realne odnose između

elemenata u tragovima (Filzmoser *et al.*, 2009a; Reimann *et al.*, 2012a). Posebna analiza glavnih komponenti je urađena sa transformisanim vrednostima koncentracija elemenata u tragovima i biplot prve dve komponente je prikazan na Slici 37. Prva komponenta (PC1) doprinosi ukupnoj varijansi sa 24 %, dok druga komponenta (PC2) doprinosi sa 19 %.



Slika 37. Biplot analize glavnih komponenti sa primenjenom clr transformacijom.

Na Slici 37 se uočava „otvaranje” podataka, tj. ose elemenata su raspoređene na sva četiri kvadranta, kao i donekle različite korelacije između promenljivih, tj. elemenata u tragovima. Zbog toga, klasičan grafički prikaz analize glavnih komponenti sa transformisanim podacima omogućava preciznije određivanje potencijalnih izvora elemenata u tragovima. Ipak, treba napomenuti da GAIA mapa ne predstavlja klasičan biplot prikaz, već projekciju trodimenzionalnog sistema, te se raspored osa elemenata u tragovima ne može posmatrati uobičajenim načinom, po kvadrantima.

Rangiranje uzoraka listova, korišćenjem PROMETHEE softvera, je vršeno na osnovu sadržaja elemenata u tragovima u njima, tj. na osnovu nivoa zagađenja. Na osnovu tog rangiranja su uzorci i raspoređeni vizuelno, na GAIA mapi, ukazujući na njihovu međusobnu

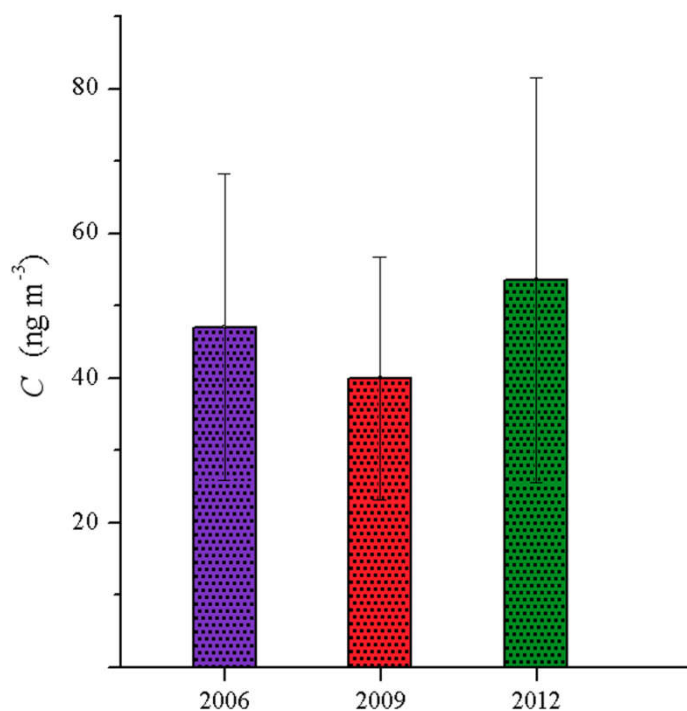
sličnost u sadržajima elemenata u tragovima. Stoga, da bi se zadržala komplementarnost PROMETHEE-a i GAIA-e, vrednosti dobijene clr transformacijom nisu korišćene u GAIA-i.

S druge strane, GAIA mapa, koja predstavlja grafički prikaz i dopunu PROMETHEE-a, može da pruži detaljnije podatke o odnosima između uzoraka rangiranih PROMETHEE-jem, koncentracijama elemenata u njima i razlikama između biljnih vrsta, jer je prikazan i raspored individualnih uzoraka. Takođe se može zaključiti da mapa GAIA ima bolji vizuelni prikaz od SOM-a, gde su potrebni dodatni alati (kao što su SON ili PROMETHEE ili mape komponenti koncentracija pojedinačnih elemenata), da bi se procenio nivo sadržaja elemenata u pojedinačnim uzorcima.

4.2. Koncentracije elemenata u tragovima u česticama iz vazduha i uzorcima listova tokom višegodišnjeg perioda

4.2.1. Koncentracije čestica u vazduhu i elemenata u tragovima u njima

Promena koncentracije PM10 u Beogradu, izmerena na mernim stanicama kod Gradskog zavoda za javno zdravlje i na trgu Dimitrija Tucovića, tokom 2006., 2009. i 2012. godine je prikazana na Slici 38 (Deljanin *et al.*, 2015b). Blago smanjenje koncentracije PM10 je zapaženo tokom prvih godina istraživanja (2006.-2009.), sa ponovnim povećanjem 2012. godine. Ipak, razlike u koncentracijama čestica tokom perioda posmatranja nisu bile značajne i mogu biti u okvirima uobičajenih varijacija u životnoj sredini.



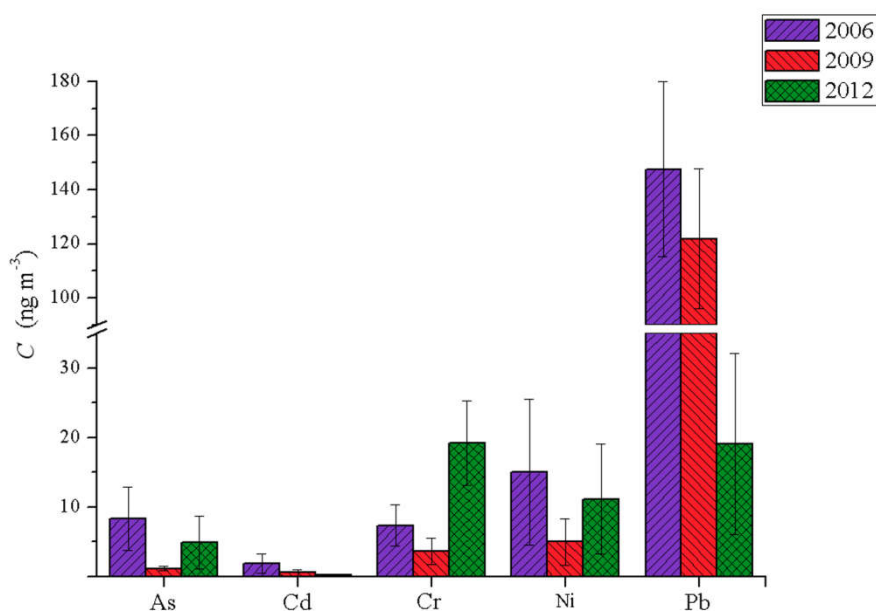
Slika 38. Koncentracija PM10 u vazduhu tokom ispitivanog perioda.

Najvažniji izvor emisije čestica u urbanim zonama je nepotpuno sagorevanje fosilnih goriva, trenje mehaničkih komponenti kao što su kočnice i gume na vozilima, povećan udeo transportnih, putničkih i vozila na dizel pogon, saobraćaj, kao i procesi sagorevanja u industriji i domaćinstvima (Fuller & Green, 2006). Ipak, još jedan izvor koji može imati značajan uticaj na sadržaj i sastav PM10 u vazduhu je mineralna prašina, koja ima velike geografske varijacije.

Srednja vrednost koncentracije PM10 2006. godine je bila $47 \mu\text{g m}^{-3}$, dok je 2012. koncentracija bila $54 \mu\text{g m}^{-3}$, što prevazilazi propisanu granicu Evropske unije od $50 \mu\text{g m}^{-3}$ (dnevna granica koja ne sme da se pređe tokom više od 35 dana u godini) (European Commission, Directive 2008/50/EC). Propisana granična vrednost srednje godišnje koncentracije (prosečna vrednost za celu godinu) je 40 m^{-3} , i prekoračena je 2006. i 2012. godine, dok je 2009. godine srednja vrednost koncentracije iznosila 40 m^{-3} . Iako su u zakonu Republike Srbije propisane iste dnevne i godišnje granične vrednosti kao i u Evropskoj Uniji, njihova primena počinje od januara 2016. godine (Vlada Republike Srbije, Službeni glasnik 11/10 i 75/10). Nivo koncentracije PM10 predložen od strane Svetske zdravstvene organizacije ($20 \mu\text{g m}^{-3}$ – godišnji prosek) (WHO, 2006), je prekoračen tokom svih posmatranih godina.

Iako, kao što je pomenuto ranije, razlike u koncentracijama PM10 tokom posmatranog perioda nisu bile značajne, koncentracije elemenata u tragovima u vazduhu su pokazale drugačije rezultate (Slika 39.). Koncentracija Cr je imala najviše vrednosti 2012. godine. Zbog velike toksičnosti Cr (VI) i povezanosti sa zdravstvenim oboljenjima (WHO, 2007), praćenje koncentracija hroma u vazduhu je veoma značajno, mada često koncentracije Cr predstavljaju ukupan sadržaj ovog elementa. S druge strane, najniže vrednosti koncentracija Cd i Pb su izmerene 2012. Godine. Na nivou EU propisane su godišnje granične vrednosti koncentracije Pb (500 ng m^{-3}) (European Commission, Directive 2008/50/EC), i ciljne vrednosti koncentracija As (6 ng m^{-3}), Cd (5 ng m^{-3}) i Ni (20 ng m^{-3}), izmerenih u PM10 (European Commission, Directive 2004/107/EC). Godišnja granična vrednost koncentracije Pb nije prekoračena tokom ispitivanog perioda, jer su koncentracije bile niže od 150 ng m^{-3} . Uopšteno gledano, koncentracije svih ispitivanih elemenata su bile

ispod graničnih vrednosti prema propisima EU. Jedino prekoračenje predstavlja vrednost koncentracije As 2006. godine ($8,3 \text{ ng m}^{-3}$). Ipak, trebalo bi napomenuti da se određivanje prekoračenja graničnih vrednosti određuje na osnovu 5-godišnjeg perioda praćenja. U slučaju arsena, jedino prekoračenje je uočeno 2006. godine, pa bi stoga 5-godišnji prosek bio ispod propisanih graničnih vrednosti. Na osnovu dobijenih rezultata i sa očekivanim sličnim trendom koncentracije elemenata u tragovima tokom narednih godina, ne očekuju se veći problemi u ispunjavanju zahtevanih nivoa koncentracije elemenata u tragovima za kvalitet vazduha u Beogradu.



Slika 39. Srednje godišnje koncentracije elemenata u tragovima u PM10 tokom ispitivanog perioda.

Poređenje rezultata dobijenih u ovom ispitivanju sa drugim sličnim istraživanjima u Turskoj i Kinu pokazalo je da su povećane koncentracije Ni, ali i niže koncentracije As, Cd i Cr (Gaga *et al.*, 2012; Xu *et al.*, 2012; Kuzu *et al.*, 2013). Nikl se uglavnom emituje tokom sagorevanja fosilnih goriva ili u izduvnim gasovima vozila jer se koristi kao aditiv u gorivima, iako je utvrđeno njegovo povišeno prisustvo usled geološkog porekla u Beogradu (Ekološki bilten, 2011). Olovo je predstavljalo najzastupljeniji element u uzorcima, jer je u periodu od 2006. do 2012. godine i dalje bilo korišćeno kao aditiv u benzinu, ali sa značajno opadajućim trendom tokom ispitivanog perioda, kao rezultat povećane upotrebe

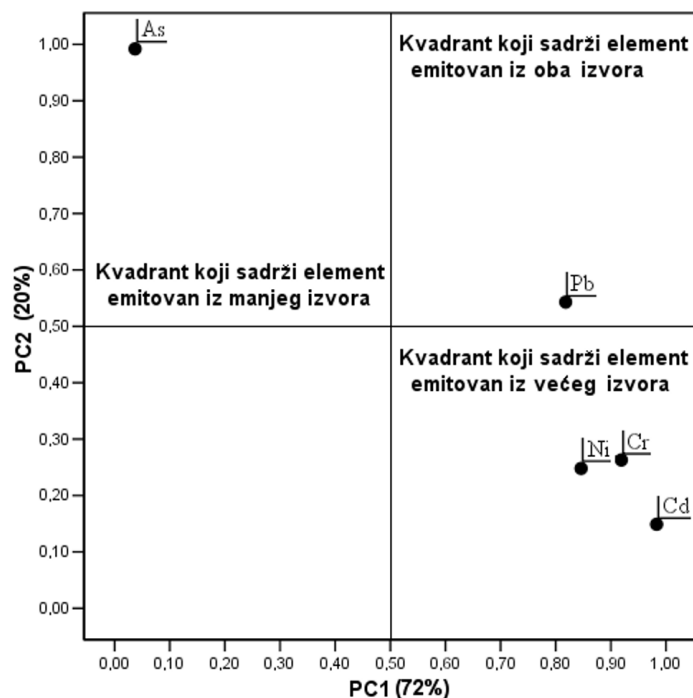
bezolovnog benzina. Ipak, sadržaj olova u vazduhu je i dalje povišen u odnosu na dobijene vrednosti u nekim ispitivanjima, s obzirom da je u većini članica EU olovni benzin izbačen iz upotrebe od januara 2000. godine, iako je u nekim zemljama članicama to urađeno još ranije (Hjortenkrans *et al.*, 2006). Pokazano je da kočione obloga predstavljaju izvore emisije Cd, Cr i Ni (Wiseman *et al.*, 2013), dok različite elektronske komponente i akumulatori u automobilima, koji sadrže Cd, predstavljaju izvore ovog elementa (Fernandez-Espinosa & Ternero-Rodriguez, 2004).

Ukupni sadržaj elemenata u tragovima u PM10 za 2012. godinu je prikazan u dve sezone, april-septembar i oktobar-mart (Tabela 21.), jer period taloženja čestica na površinu listova traje od aprila do septembra, tokom vegetacionog ciklusa listopadnog drveća. Ova godina je od posebnog značaja, jer predstavlja period nakon što je olovni benzin izbačen iz upotrebe, početkom 2011. godine. Više prosečne godišnje koncentracije Cr i Ni 2012. godine su posledica povećane emisije ovih elemenata u zimskom periodu (oktobar-mart, Tabela 20.), verovatno zbog sagorevanja fosilnih goriva za grejanje.

Tabela 21. Sezonske koncentracije elemenata u tragovima u PM10 2012. godine ($\mu\text{g g}^{-1}$; RSD su prikazane u %)

		As	Cd	Cr	Ni	Pb
Godišnje	srednja v.	108	4,7	923	624	491
	SD	53	4,3	1557	1392	284
	RSD (%)	49,07	91,49	168,69	223,08	57,84
Apr-Sept	srednja v.	75	4,3	544	209	430
	SD	30	3	82	58	133
	RSD (%)	40	69,77	15,07	27,75	30,93
	min	17	0,05	163	61	127
	max	331	59	976	461	1732
Okt-Mar	srednja v.	141	5,2	1302	1038	551
	SD	52	3	2263	1962	398
	RSD (%)	36,88	57,69	173,81	189,02	72,23
	min	8,6	0,04	111	60	75
	max	934	58	12822	14567	4357

Analiza glavnih komponenti je sprovedena da bi se odredili izvori emisije elemenata u tragovima (As, Cd, Cr, Ni i Pb) u vazduhu tokom perioda 2002.-2006. godina. Rezultati dobijeni nakon ortogonalne rotacije i doprinos svake komponente su prikazani na Slici 40.

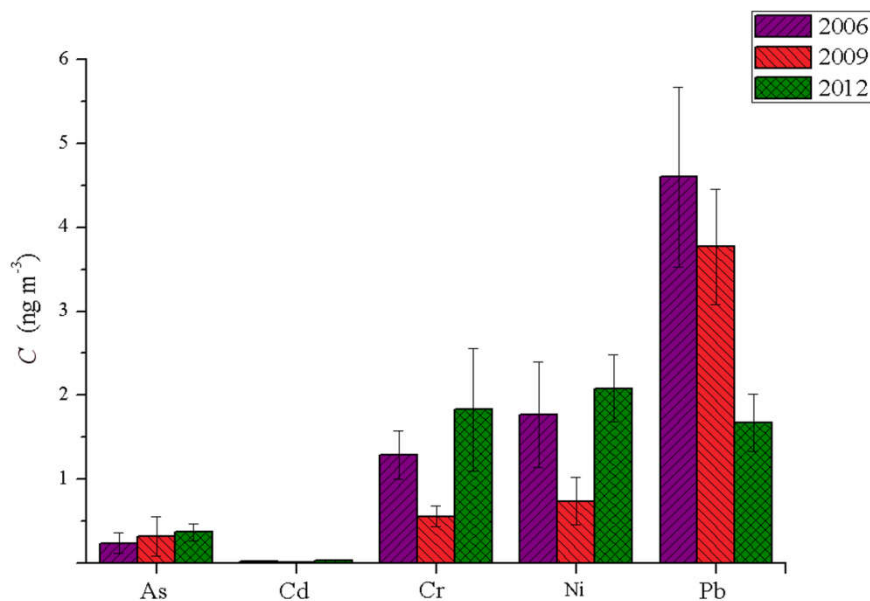


Slika 40. Analiza glavnih komponenti elemenata u tragovima u PM10 u periodu 2002.-2006. godina.

Identifikovane su dve glavne komponente koje određuju 92 % ukupne varijanse podataka za period 2002.-2006. godina. Prva komponenta se dovodi u vezu sa povećanim udelima Cd, Ni, Pb i Cr i određuje 72 % ukupne varijanse. Ova komponenta verovatno predstavlja sagorevanje fosilnih goriva poreklom iz stacionarnih izvora i saobraćaja. Korišćenje olovnog benzina se može istaći kao glavni izvor Pb, iako se resuspenzija prethodno zagađenog zemljišta ne može zanemariti. Pulles *et al.* (2012) su naveli da sagorevanje ulja za podmazivanje motora može biti potencijalni izvor elemenata u tragovima (Cd, Cr, Ni, Pb), pored sagorevanja goriva. Druga komponenta je imala visoke udele As i umerene udele Pb, što se može pripisati sagorevanju uglja. Ova komponenta je predstavljala 20 % ukupne varijanse.

4.2.2. Elementi u tragovima u uzorcima listova

Koncentracije elemenata u tragovima u listovima predstavljaju posledicu taloženja čestica iz vazduha tokom vegetacione sezone, od aprila do septembra. Posmatrane su koncentracije elemenata u tragovima u uzorcima listova vrste *A. hippocastanum* sakupljenih 2006., 2009. i 2012. godine na lokalitetu Botanička bašta i u Karađorđevom parku (Slika 41.) (Deljanin *et al.*, 2015b). Nakon smanjenja koncentracija elemenata tokom 2009. godine, došlo je do novog povećanja 2012. godine, osim u slučaju olova, koje je imalo kontinualni pad koncentracije tokom ispitivanog perioda. Ipak, koncentracija As nije imala snižene vrednosti 2009. godine. Takođe, najviše vrednosti koncentracija su izmerene u listovima uzorkovanim 2012. godine, sa izuzetkom Pb. Međutim, na početku posmatranog perioda, najzastupljeniji element u listovima je bilo Pb. Kao što je već napomenuto (Hovmand *et al.*, 2009), iako emisija olova značajno opada tokom poslednjih godina, ono je i dalje prisutno u životnoj sredini.



Slika 41. Srednje vrednosti koncentracija elemenata u tragovima u listovima *A. hippocastanum* tokom ispitivanog perioda.

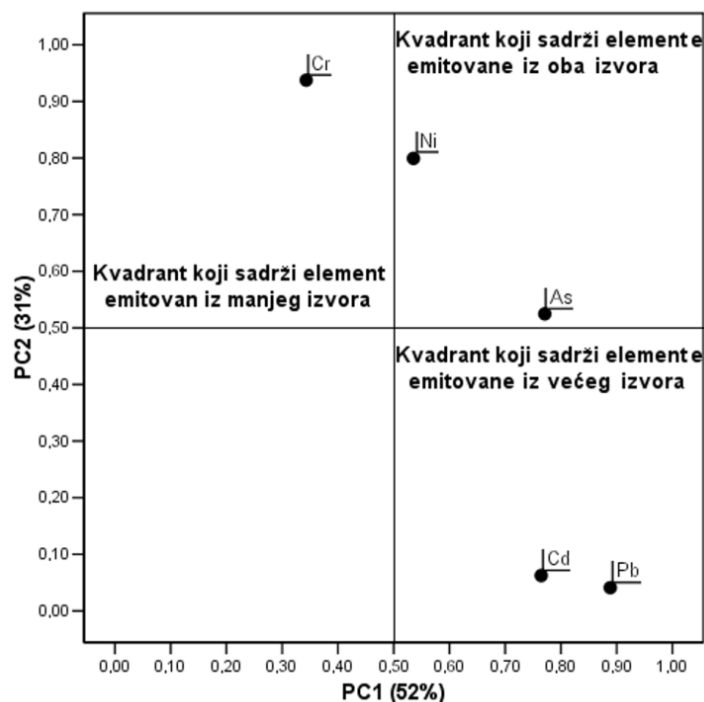
Smanjenje koncentracije olova u listovima tokom vremena kao posledica smanjenja upotrebe olovnog benzina je zabeleženo i za druge biljne vrste (Gratani *et al.*, 2008; Dmuchowski *et al.*, 2009). Uprkos tome, koncentracija olova je imala više vrednosti tokom ispitivanih godina u poređenju sa vrednošću koncentracije "Referentne biljke" ($RB = 1 \mu\text{g g}^{-1}$, određeno u Markert, 1992). Ipak, 2012. godine, koncentracija Pb je imala niže vrednosti od koncentracija Cr i Ni. Glavni izvor Ni i Cr je stacionarno sagorevanje fosilnih goriva, koji su uglavnom aktivni tokom grejne sezone (Pacyna *et al.*, 2007). Sa druge strane, ovi elementi potiču i iz mnogih izvora u saobraćaju (kočione obloge, habanje i potrošnja guma, sagorevanje benzina) (Hjortenkrans *et al.*, 2006). Povećani nivo koncentracija Ni bi mogao da ukaže i na moguću resuspenziju čestica sa zemljišta na ovim lokalitetima. Kada su upoređene vrednosti koncentracija ostalih elemenata sa vrednostima RB, ustanovljeno je da je koncentracija As imala više vrednosti ($RB = 0,01 \mu\text{g g}^{-1}$), dok koncentracije Cd nisu prekoračile vrednosti RB ($RB = 0,05 \mu\text{g g}^{-1}$) tokom ispitivanog perioda.

Trend smanjenja koncentracije olova u vazduhu i u uzorcima listova je bio uočljiv i pre zvanične zabrane upotrebe olovnog benzina. Ipak, koncentracija olova nakon 7-godišnjeg perioda je bila 7 puta manja u vazduhu i 3 puta manja u uzorcima listova nego na početku ispitivanog perioda (2006. godine), što ukazuje da su tokom tog perioda glavni izvori olova bili saobraćaj i olovo poreklom iz prethodnih emisija iz saobraćaja, koje je i dalje prisutno u životnoj sredini. Neki autori smatraju da je, nakon zabrane upotrebe olovnih aditiva u benzinu, doprinos Pb iz sagorevanja benzina mali (Denier van der Gon i Appelman, 2009); stoga, drugi izvori olova postaju značajniji (Pulles *et al.*, 2012).

U odnosu na referentni monitoring, prednost biomonitoringa korišćenjem biljaka se ogleda u tome što tkivo biljaka može dati bolji uvid u osetljivost živih organizama i njihov odgovor na zagađenje vazduha. U zavisnosti od vrste, sadržaj elemenata u tragovima u biljnom tkivu je proporcionalan urbanizaciji, industrijskoj aktivnosti i gustini saobraćaja (Onder & Dursun, 2006). Kao što je napomenuto u prethodnim istraživanjima (Šućur *et al.*, 2010; Aničić *et al.*, 2011; Tomašević *et al.*, 2008, 2011), divlji kesten predstavlja dobar bioindikator zagađenja vazduha određenim elementima u tragovima, jer dobro odražava promene u zagađenju vazduha olovom. Listovi drveća mogu biti efikasan biomonitor uticaja

izvora zagađenja zbog njihove sposobnosti da akumuliraju elemente u tragovima. Takođe, posmatrani efekat predstavlja prosečnu vrednost tokom vremena, što može biti pouzdaniji rezultat od podatka dobijenog direktnim određivanjem koncentracije zagađujuće supstance u vazduhu tokom kratkog vremenskog perioda (24 h). Ipak, direktno poređenje koncentracija elemenata u tragovima u PM10 i u uzorcima listova nije moguće, s obzirom da je proces taloženja čestica i akumuliranja elemenata drugačiji u slučaju PM10 i listova. Prilikom automatskog uzorkovanja PM10 dolazi do aktivnog uvlačenja vazduha pumpom i tok vazduha prolazi kroz filter, dok se na površini listova taloženje odvija prirodnim putem. Uzorkovanje PM10 se odvija kontinuirano, dok se lišće može uzorkovati najkasnije u septembru, na kraju vegetacione sezone. Ipak, nivoi vrednosti koncentracija elemenata u PM10, 2012. godine, od aprila do septembra su bili Cr>Pb>Ni>As>Cd (Tabela 21.), dok su vrednosti u uzorcima listova tokom iste godine bile Ni>Cr>Pb>>As>Cd. Uočen je sličan trend u koncentracijama elemenata u tragovima u česticama i u listovima, osim povećane vrednosti Ni u uzorcima listova, što može da ukaže na resuspenziju zemljišta, zbog relativno visokog sadržaja Ni geološkog porekla u Beogradu (Ekološki bilten, 2011).

Rezultati analize glavnih komponenti elemenata u tragovima u uzorcima listova divljeg kestena su prikazani na Slici 42. Određene su dve glavne komponente koje određuju 83 % ukupne varijanse. Komponenta 1 je imala visoke udele Ni, Pb, As i Cd i određivala je 52 % ukupne varijanse, što se može pripisati izduvnim gasovima vozila i drugim sagorevanjima fosilnih goriva. Sa druge strane, komponenta 2 se karakteriše visokim udelima Cr i Ni i umerenim udelima As, što predstavlja sumu od 31 % ukupne varijanse. Ovi elementi se mogu dovesti u vezu sa resuspenzijom zemljišta i prašine. Ranije je primećeno da Cr i Ni vode poreklo iz skoro svih izvora koji su u vezi sa saobraćajem (kočnice, habanje guma, sagorevanje ulja za podmazivanje), pa se stoga mogu klasifikovati kao „metali poreklom iz saobraćaja sa nespecifičnim poreklom” koji se uglavnom javljaju usled resuspenzije (Hjortenkrans *et al.*, 2006).

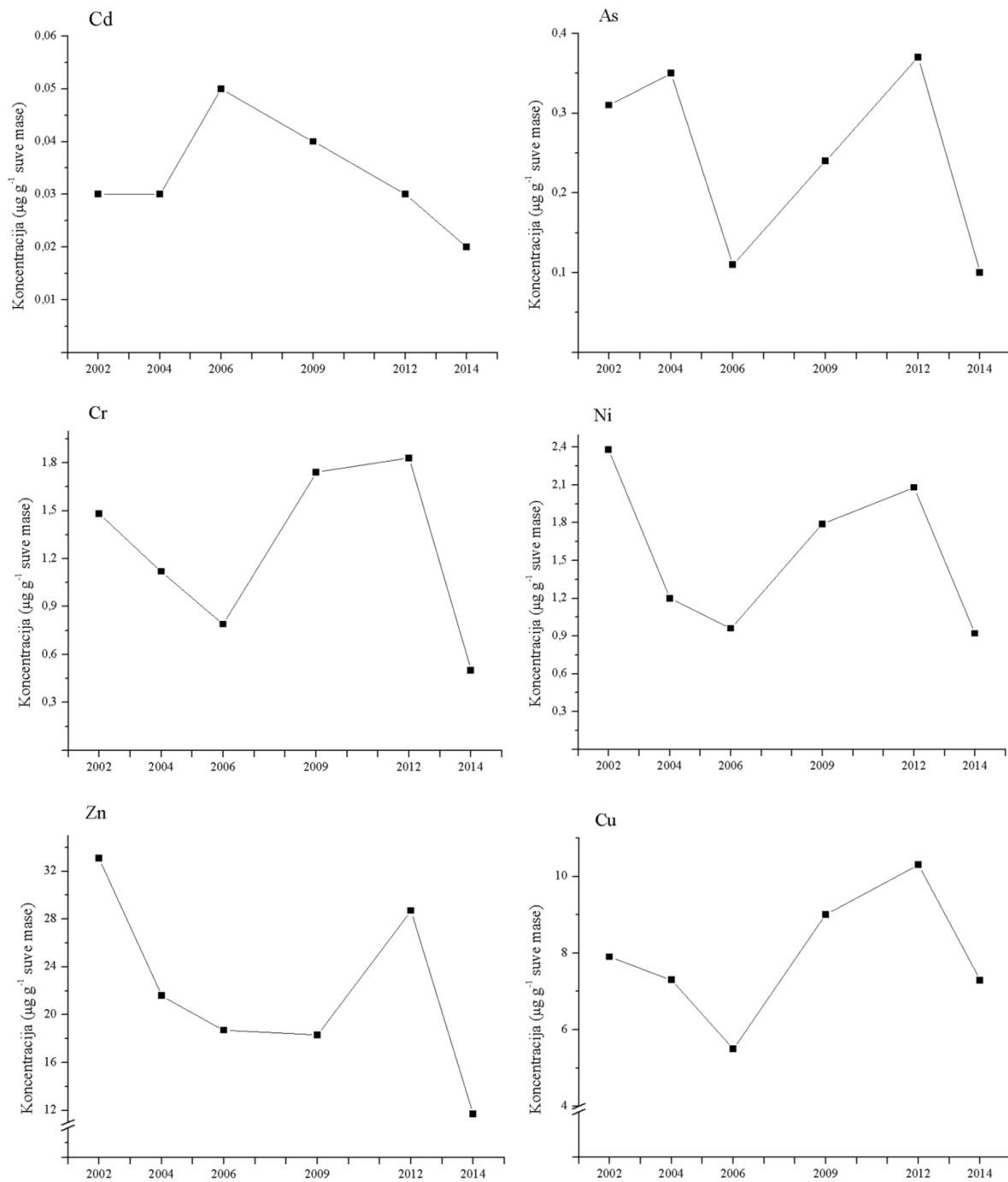


Slika 42. Analiza glavnih komponenti elemenata u tragovima u uzorcima listova *A. hippocastanum* sakupljenim kod Botaničke bašte u periodu 2002-2006. godina.

Listovi listopadnog drveća akumuliraju elemente u tragovima tokom vegetacione sezone, od aprila do septembra. Stoga je uticaj sagorevanja fosilnog goriva iz stacionarnih izvora, kao što su postrojenja za grejanje, koji su uglavnom aktivni i značajni tokom zimske sezone, isključen. S druge strane, monitoring PM10 se kontinuirano obavlja tokom cele godine, a u ovom delu istraživanja su prikazane srednje godišnje vrednosti koncentracija elemenata u tragovima u vazduhu. Iako su trendovi koncentracija elemenata u vazduhu i u listovima kestena pokazali određene sličnosti, identifikovani glavni izvori elemenata su različiti za PM10 i za uzorke listova, što ukazuje na moguće sezonske razlike u njihovim koncentracijama. Čini se da u velikim urbanim zonama, kao što je Beograd, emisije izduvnih gasova i sagorevanja fosilnih goriva imaju veći značaj od industrijskih izvora na nivoe koncentracije elemenata u tragovima u česticama iz vazduha. Takođe, saobraćaj kao izvor zagađenja je prisutan tokom cele godine, za razliku od stacionarnog sagorevanja fosilnih goriva, koje postaje intenzivnije tokom grejne sezone. Ipak, analiza raspodele izvora može biti preciznija ako se uvrsti veći broj elemenata u istraživanje, što može biti značajan korak u integrisanoj karakterizaciji zagađenja česticama u vazduhu u ovoj oblasti.

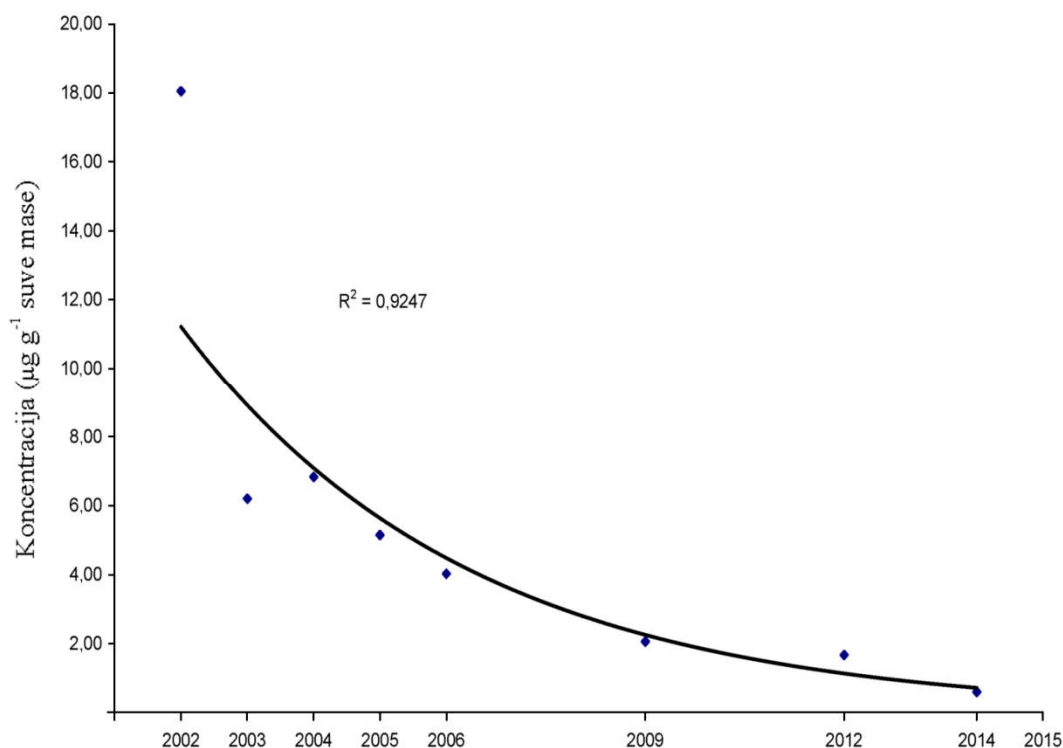
4.2.3. Koncentracije elemenata u tragovima u uzorcima listova u periodu od 2002. do 2014. godine

Posmatranjem koncentracija elemenata As, Cd, Cr, Cu, Ni i Zn u uzorcima listova *A. hippocastanum*, sakupljenim u periodu od 2002. do 2014. godine u Karađorđevom parku (Slika 43.), uočava se sličan trend kod većine elemenata. Sa izuzetkom Cd, kod ostalih elemenata je uočen pad koncentracija od 2002. do 2006. godine, potom rast koncentracija do 2012. i na kraju ponovni pad do vrednosti izmerenih 2014. godine. To ukazuje da posmatrani elementi verovatno potiču iz istog izvora tokom celog perioda od 2002. do 2014. godine. Izvor najverovatnije predstavlja saobraćaj, pre svega izduvni gasovi automobila, koji predstavljaju proizvode sagorevanja goriva i motornih ulja, kao i drugi izvori koji potiču iz saobraćaja, kao što su habanje guma i kočionih obloga, itd.



Slika 43. Koncentracije elemenata u uzorcima listova *A. hippocastanum* sakupljenim u Karadorđevom parku.

Za razliku od pomenutih elemenata, koncentracija Pb ima opadajući trend tokom celog ispitivanog perioda (Slika 44.) i uočeno je da je u pitanju eksponencijalni pad koncentracije ($R^2 = 0,92$). Opadanje koncentracije Pb predstavlja direktnu posledicu prvo smanjenja, a potom, od januara 2011. godine, i zabrane upotrebe olovnog benzina u Republici Srbiji. Od početka 2000-tih godina, iako je broj starih automobila bio i dalje veliki, povećana je prodaja novih automobila, koji su ispunjavali tekuće EURO standarde, ali i prodaja polovnih automobila. Polovni automobili su uglavnom ispunjavali niže EURO standarde u odnosu na nove automobile, ali su i dalje ispuštali manje količine elemenata u tragovima u odnosu na starije automobile u Republici Srbiji.

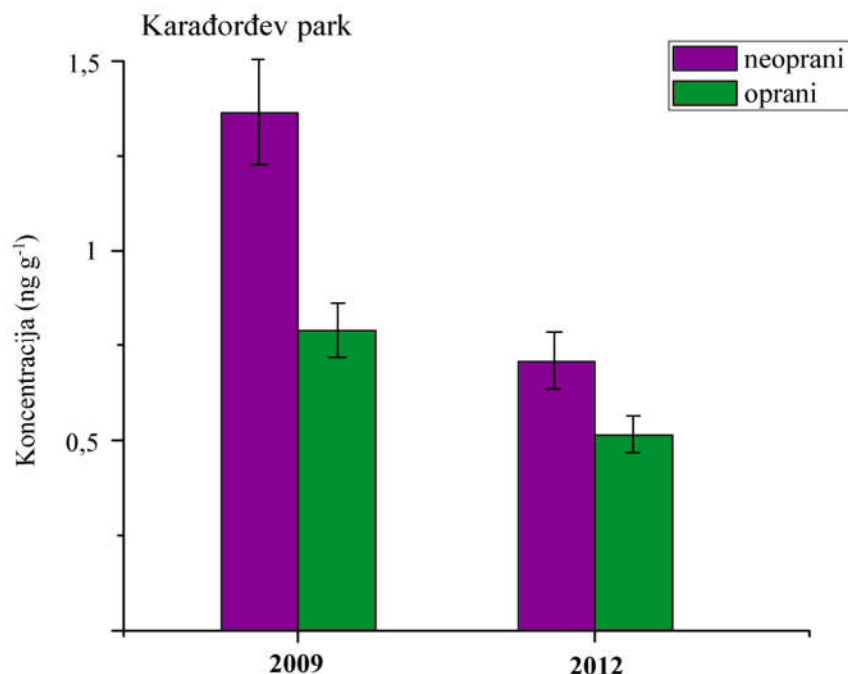


Slika 44. Promena koncentracija Pb sa vremenom, u uzorcima listova *A. hippocastanum*, sakupljenim u Karađorđevom parku.

4.2.4. Koncentracija platine u uzorcima listova

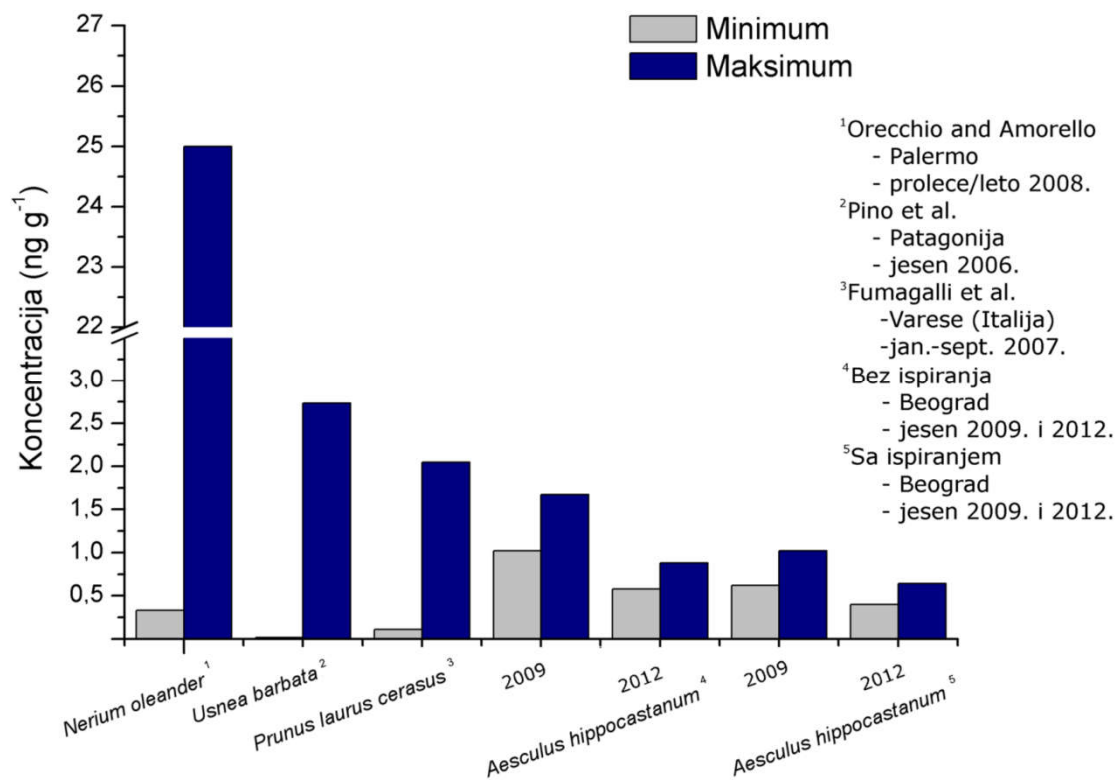
Jedan od zahteva EURO standarda je i korišćenje automobilskih katalizatora. Automobilske katalizatori se koriste za smanjenje emisije zagađujućih materija iz vozila, kao što su ugljen(II)-oksid, oksidi azota i nesagoreli ugljovodonici. Tokom rada katalizatora, usled abrazije njegove površine, platina, koja predstavlja aktivnu komponentu katalizatora, se oslobađa u atmosferu i taloži se pored saobraćajnica, na obližnjoj vegetaciji, zemljištu, kao i u vodotokovima. Rezultati dosadašnjih istraživanja ukazuju na trend porasta koncentracije platine u životnoj sredini poslednjih godina i veliki uticaj saobraćaja (Zereini *et al.*, 2001).

Koncentracija platine je merena u uzorcima listova *A. hippocastanum*, sakupljenih 2009. i 2012. godine u Karađorđevom parku (Deljanin *et al.*, 2013). Odvojeno su posmatrani uzorci listova koji su pre hemijske analize kratko ispirani bidestilovanom vodom i uzorci koji nisu ispirani. Koncentracija platine (Slika 45.) u svim uzorcima (koji su pripremani sa ispiranjem bidestilovanom vodom i bez ispiranja) ima niže vrednosti u 2012. godini u poređenju sa 2009. godinom, što je verovatno posledica sve češće upotrebe alternativnih goriva u vozilima (npr., tečni naftni gas). Uočeno je i smanjenje koncentracije platine u ispranim uzorcima, što ukazuje da primenjeno ispiranje, kojim se „simulira” efekat kiše i uklanjanje labilna frakcija nataloženih čestica na površini listova, utiče na koncentraciju platine u listovima divljeg kestena. Isprani listovi zadržavaju akumulirane i snažno pričvršćene čestice, koje se ne mogu ukloniti ispiranjem jer su najverovatnije imobilisane u voštanom sloju.



Slika 45. Koncentracija platine (ng g⁻¹ suve mase) u uzorcima listova *A. hippocastanum*.

Koncentracija platine u ispitivanim uzorcima listova je niža u odnosu na vrednosti dobijene za druge biljne materijale (Fumagalli *et al.*, 2010; Orecchio i Amorello, 2010; Pino *et al.*, 2010), uzorkovanih u uslovima urbanih i relativno nezagađenih sredina (Slika 45.). Koncentracija Pt izmerena u uzorcima iz Beograda odgovara koncentraciji koja je izmerena u manjim urbanim sredinama (Varese, Italija), dok je i do 10 puta manja u odnosu na izmerenu koncentraciju u većim urbanim sredinama (Palermo, Italija). To ukazuje na još uvek slabiju upotrebu automobilskih katalizatora u Republici Srbiji u odnosu na druge Evropske gradove. Izmerene koncentracije platine u Beogradu su iznad minimalnih koncentracija dobijenih u ostalim istraživanjima.

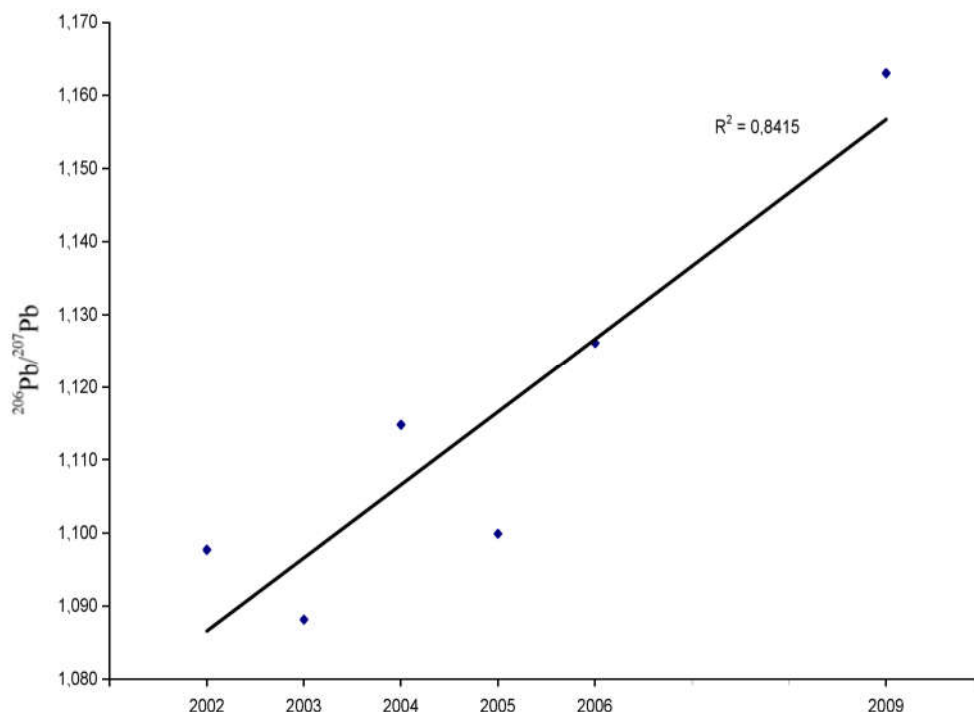


Slika 46. Opseg izmerenih koncentracija Pt u uzorcima *A. hippocastanum* u poređenju sa opsezima koncentracije Pt u drugim biljnim materijalima i sa drugih lokaliteta.

4.3. Koncentracija i izotopi olova u listovima drveća i uzorcima mahovina

4.3.1. Odnos koncentracije i izotopa olova tokom ispitivanog perioda

Olovni benzin je i dalje bio u upotrebi u Republici Srbiji tokom prve decenije 21. veka, s obzirom da je njegova upotreba zabranjena 2011. godine. Ipak, već od 2002. godine je uočeno smanjenje koncentracije Pb (Slika 44.) u uzorcima listova *A. hippocastanum*, koje se može objasniti kao posledica smanjenja upotrebe olovnog benzina u novim tipovima vozila, u skladu sa EURO standardima. U istom periodu (2002.-2009. godina) uočeno je linearno povećanje vrednosti odnosa izotopa $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ kod uzoraka listova iste vrste ($R^2 = 0,84$) (Slika 47.), sakupljenih u Karađorđevom parku, u septembru mesecu tokom višegodišnjeg perioda.

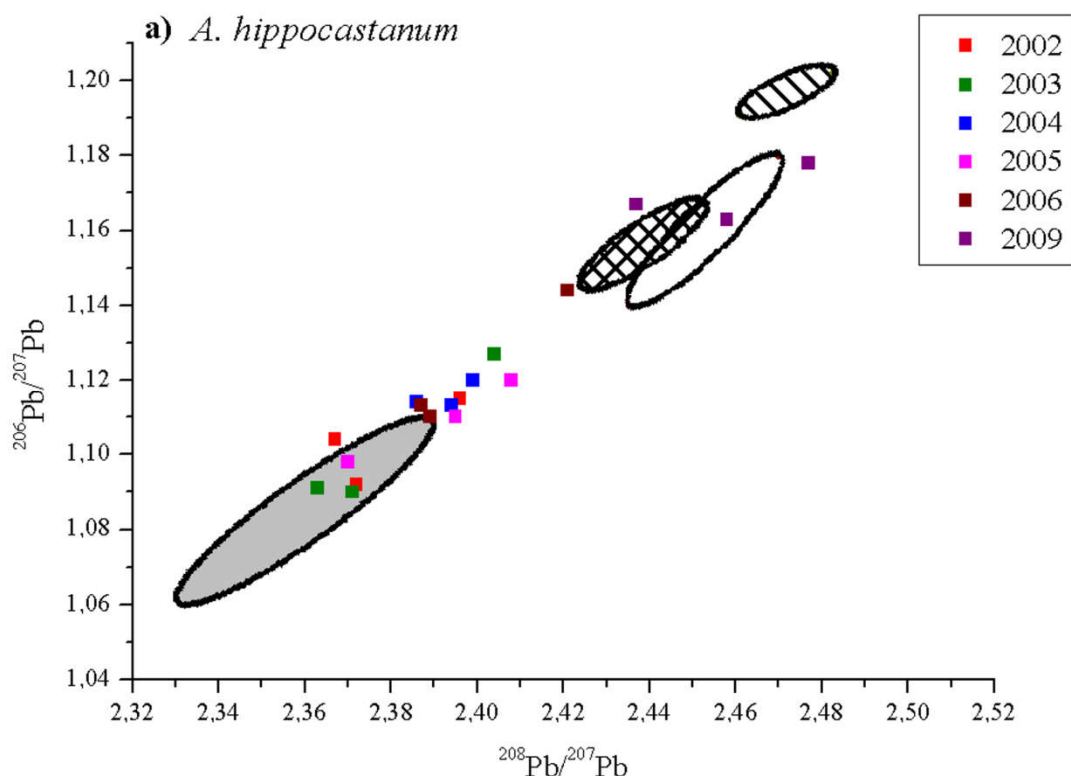


Slika 47. Promena odnosa izotopa olova ($^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$) tokom ispitivanog perioda u uzorcima listova *A. hippocastanum*, sakupljenim u Karađorđevom parku.

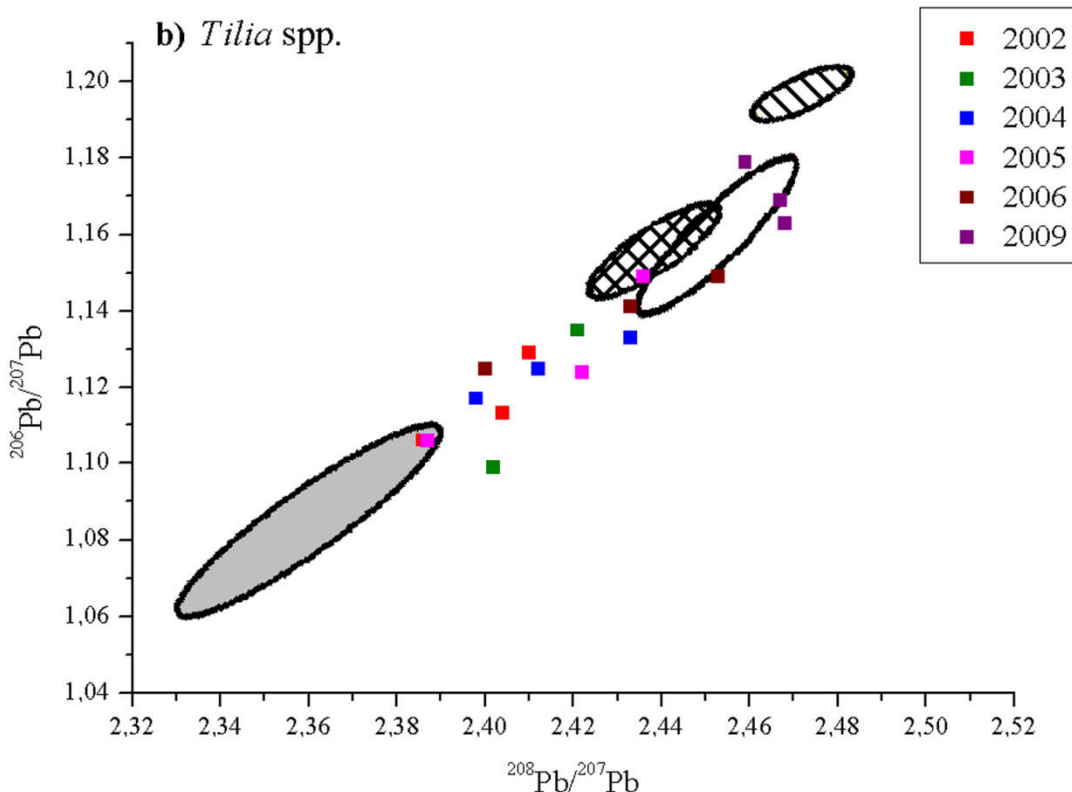
Prvobitno smanjenje vrednosti odnosa izotopa $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ je prouzrokovano uvođenjem olovnog benzina u upotrebu u svetu (Komárek *et al.*, 2008). Kasniji porast vrednosti odnosa $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ tokom 80-ih godina 20. veka je posledica postepenog prestanka upotrebe olovnog benzina širom Evrope. Vrednosti odnosa $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ u uzorcima mahovina u Nemačkoj su značajno porasle od 1,131 1987. godine do 1,154 1996. godine (Kunert *et al.*, 1999), kao i u uzorcima mahovina sakupljenim na različitim lokalitetima u Norveškoj, gde su povećane od 1,12 1977. godine do 1,14 2000. godine (Steinnes *et al.*, 2005). Shodno tome, promene u koncentraciji olova su praćene promenama u odnosu izotopa $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$. Poslednjih godina odnos izotopa $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ u različitim uzorcima iz životne sredine je uglavnom u opsegu 1,16-1,20, a u poljoprivrednim zemljištima u Evropi je zabeležen odnos oko 1,7 (Reimann *et al.*, 2012).

Pored postepenog smanjenja upotrebe olovnog benzina, u Republici Srbiji je tokom 2000.-tih godina došlo i do promene aditiva koji se dodaju olovnom benzinu. Benzin korišćen u našoj zemlji je od 2002. do 2005. godine sadržao aditive uvezene iz Velike Britanije, koji su vodili poreklo iz australijskih prekambrijskih ruda. Nakon toga, od 2006. godine, je došlo do prestanka korišćenja dotadašnjeg olovnog benzina i početka korišćenja novog, sa aditivima poreklom iz kineskih ruda. Australijske rude imaju niske (radiogene) odnose izotopa čije su vrednosti $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb} \sim 1,05$ i $^{208}\text{Pb}/^{207}\text{Pb} \sim 2,33$. Odnosi izotopa uobičajeni za kineske rude su bili u opsegu $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ 1,13-1,16 i $^{208}\text{Pb}/^{207}\text{Pb} \sim 2,46$, redom (Bollhöfer & Rosman, 2001). Stoga se može očekivati da je promena u odnosima izotopa olova pored smanjenja upotrebe olovnog benzina i posledica promene olovnih aditiva koji su dodavani olovnom benzinu (Tomašević *et al.*, 2013). To potvrđuju i grafici odnosa izotopa olova $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ i $^{208}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ u uzorcima *A. hippocastanum* i *Tilia* spp. (Slika 48.) tokom višegodišnjeg perioda, od 2002. do 2009. godine (Deljanin *et al.*, 2014). U listovima *A. hippocastanum* (Slika 48a), dobijeni odnosi $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ i $^{208}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ za 2002. i 2004. godinu su grupisani blizu odnosa australijskih aerosola, dok su 2004. godine, kada je ovaj tip benzina bio poslednji put u upotrebi, odnosi Pb izotopa bili na kraju klastera – najdalje od rasporeda odnosa australijskog aerosola, ali bliže nego uzorci iz 2005. godine. Uzorci iz 2005. godine su bili između vrednosti za australijske i kineske aerosole, dok su vrednosti odnosa izotopa uzoraka iz 2006. godine bile bliže rasporedu kineskih aerosola. U slučaju uzoraka *Tilia* spp.

(Slika 48b), dobijeni odnosi izotopa $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ i $^{208}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ su bili rasutiji, iako su uzorci iz 2005. i 2006. godine više pomereni prema odnosima kineskih aerosola, što predstavlja trend koji se nastavlja i 2009. godine. Tako je 2009. godine, koncentracija olova bila nešto niža nego 2006. godine (Aničić *et al.*, 2011; Tomašević *et al.*, 2011), dok su vrednosti odnosa izotopa olova (Slika 48.) dodatno porasle do vrednosti kineskih ruda olova korišćenih u tadašnjem benzinu.



Slika 48. Trend promene vrednosti odnosa izotopa $^{208}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ vs. $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ od 2002. do 2009. godine u uzorcima listova: a) *A. hippocastanum* i b) *Tilia* spp. Odnosi izotopa u PM10 česticama uzorkovanim u blizini termoelektrane „Nikola Tesla” u Obrenovcu su prikazani karo šrafiranom elipsom. Elipse označavaju odnose izotopa u aerosolima iz Australije (siva) i u aerosolima iz Kine (bela) (Bollhöfer & Rosman, 2000, 2001). Odnosi izotopa u zemljištu su prikazani šrafiranom elipsom (Reimann *et al.*, 2012).



Slika 48. Trend promene vrednosti odnosa izotopa $^{208}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ vs. $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ od 2002. do 2009. godine u uzorcima listova - Nastavak.

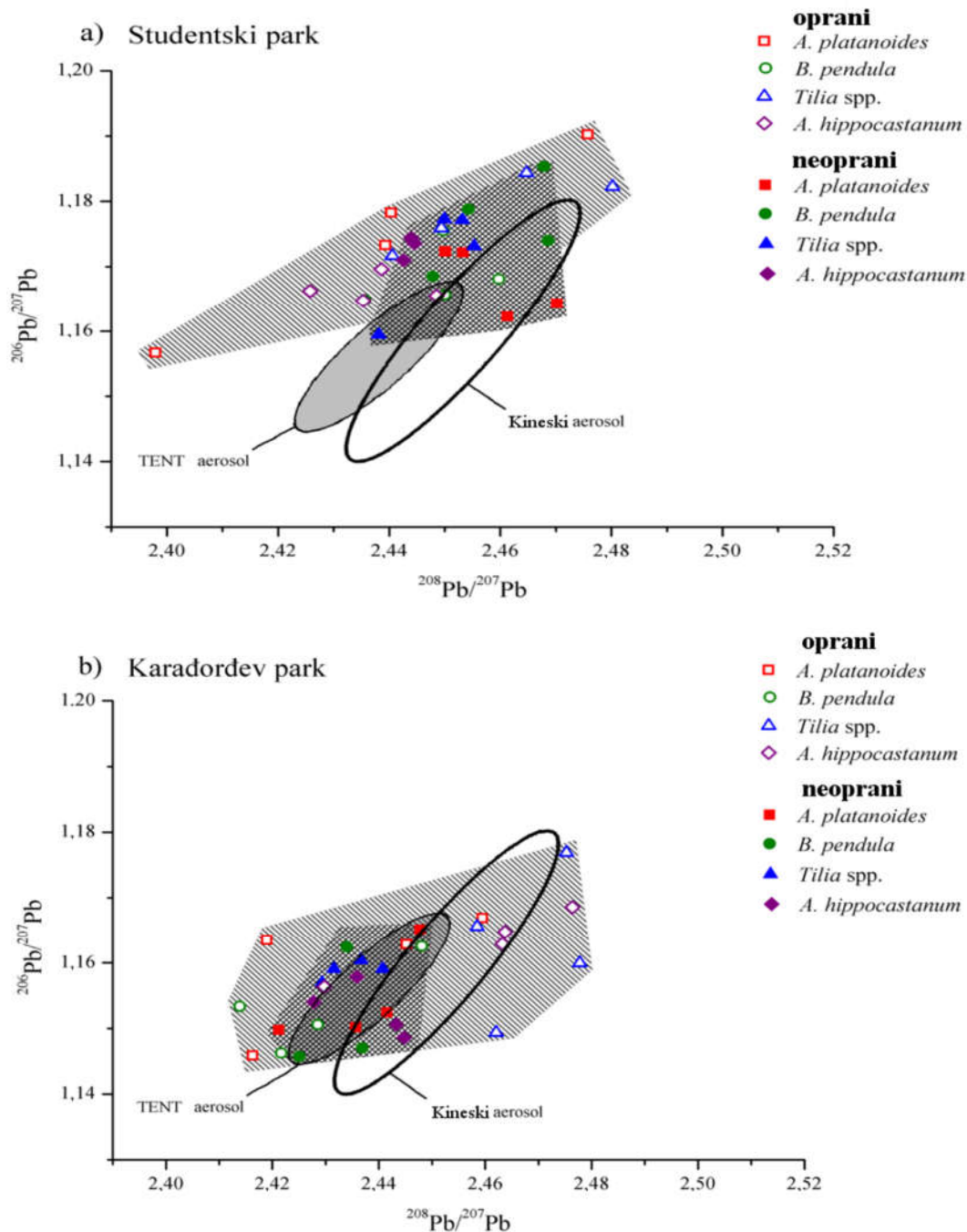
Promene uočene u odnosima izotopa u uzorcima listova tokom posmatranog perioda su pratile smanjenje upotrebe benzina sa olovim aditivima. Kao što je pokazano u Reimann *et al.* (2012), na mapi koncentracije olova u evropskim poljoprivrednim zemljištima, sadržaj olova u Beogradu je srednjih do niskih vrednosti. U ovom delu Evrope, odnos izotopa $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ u gornjem sloju zemljine kore je u opsegu 1,191 do 1,202 (Slika 48.). Na osnovu koncentracije olova i odnosa izotopa $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$, teško je kvantitativno odrediti doprinos izvora prirodnog i antropogenog olova, kao što su saobraćaj i industrija. Treba napomenuti da koncentracija olova u okolini gradova može pokazivati nepravilnosti. Iako atmosfersko zagađenje olovom trenutno ne predstavlja pretnju po poljoprivredno zemljište i zdravlje ljudi, treba obratiti pažnju na lokalne izvore kontaminacije, ali i na toksični potencijal olova iz vazduha. Za interpretaciju podataka o izotopima olova na lokalnom nivou, neophodno je jasno razdvojiti doprinose zagađenja olovom od regionalnih prirodnih geohemijskih doprinosa (Reimann *et al.*, 2012). Na osnovu trenda smanjenja koncentracije olova tokom

godina, kao i smanjenje upotrebe olovnog benzina i konačne zabrane njegove upotrebe u Republici Srbiji 2011. godine, može se očekivati da će se vrednosti odnosa izotopa olova u listovima u narednim godinama približiti vrednostima koje su određene u poljoprivrednim zemljištima, u istraživanju Reimann *et al.* (2012).

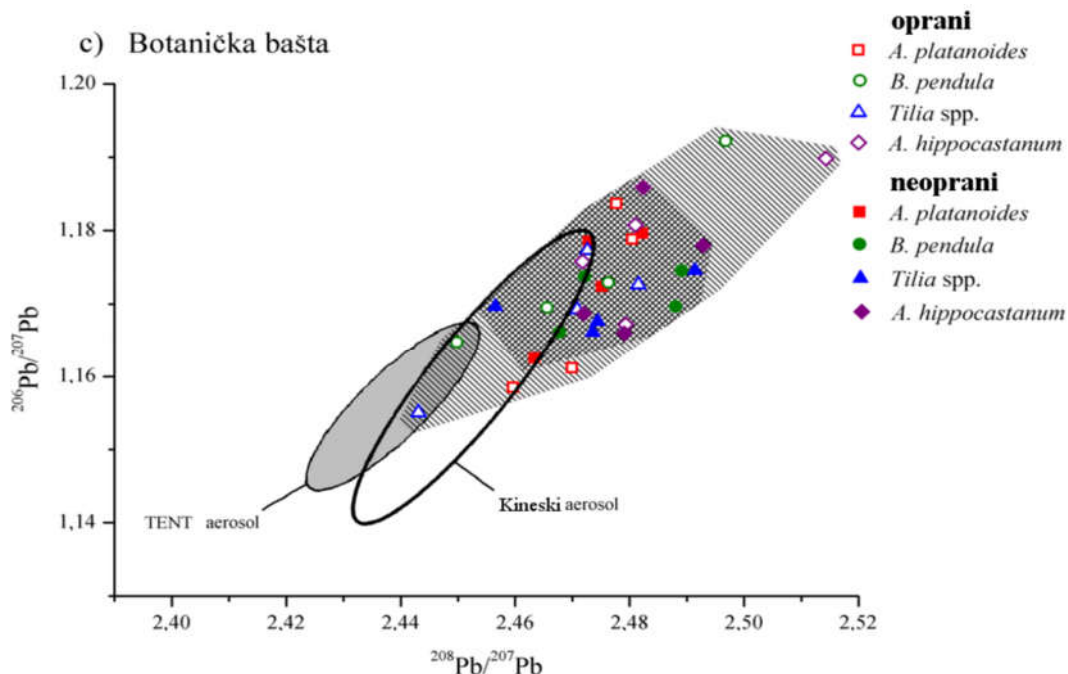
Kod uzoraka listova iz 2009. godine (Slika 48.) se uočava prisustvo drugog/ih izvora u tom periodu. Iako se odnosi izotopa u uzorcima listova uglavnom poklapaju sa odnosima izotopa kineskih aerosola, neki uzorci imaju drugačije izotopske odnose. Moguće je da se, sa smanjenjem koncentracije olova u vazduhu koje potiče iz olovnog benzina tokom vremena, doprinos drugih izvora zagađenja olovom povećao. Može se zaključiti da je olovo u listovima sakupljenim 2009. godine vodilo poreklo iz različitih izvora iz saobraćaja, kao što su olovni benzin, iako sa manjim doprinosom nego u prethodnom periodu (2002.-2006. godina), i/ili nečistoće u benzinu koji je korišćen (Pulles *et al.*, 2012). Još jedan potencijalni izvor olova je mogao biti ugalj koji se koristi u procesima sagorevanja u termoelektrani „Nikola Tesla” (TENT) u Obrenovcu (Slika 20.). S obzirom da je olovni benzin bio glavni izvor zagađenja olovom 2002. godine, uticaj TENT-a nije bio značajan (Slika 48.). Ipak, sa promenom benzina obogaćenog različitim alkil-olovnim aditivima i smanjenom potrošnjom olovnog benzina tokom godina, što se ogleda i u promeni odnosa izotopa, doprinos TENT-a bi mogao da postane značajniji.

4.3.2. Odnosi izotopa olova u zavisnosti od pripreme uzoraka

Odnosi izotopa olova u neopranim i opranim uzorcima listova četiri biljne vrste: *A. hippocastanum*, *T. cordata*, *B. pendula* i *A. platanooides*. sakupljenih 2009. godine su prikazani na Slici 49. (Deljanin *et al.*, 2014). Uočljive su razlike u odnosima olova na istom lokalitetu. S obzirom da je unos elemenata u tragovima u biljke pod uticajem brojnih parametara, kao što je klima, topografija terena i lokalne karakteristike lokaliteta (Schleppi *et al.*, 2000), moguće je da specifični uslovi na određenom lokalitetu, kao što je blizina saobraćajnica, utiču na odnose izotopa.



Slika 49. Dijagrami odnosa izotopa $^{208}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ vs. $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ u opranim (uokvireni simboli) i neopranim (puni simboli) uzorcima listova: a) Studentski park, b) Karađorđev park, c) Botanička bašta. Nepopunjena elipsa predstavlja odnose izotopa u aerosolima iz Kine (Bollhöfer & Rosman, 2001). Odnosi izotopa u PM10 česticama uzorkovanim u blizini termoelektrane „Nikola Tesla” u Obrenovcu su prikazani sivom elipsom.



Slika 49. Dijagrami odnosa izotopa $^{208}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ vs. $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ u opranim (uokvireni simboli) i neopranim (puni simboli) uzorcima listova - Nastavak.

Odnosi izotopa olova izmereni u neopranim i opranim listovima su se dosta razlikovali, i neoprani uzorci su više grupisani od opranih uzoraka listova (Slika 49.). Može se pretpostaviti da je deponovana frakcija na površini listova uglavnom bila poreklom iz izvora emisije olova koji je bio aktivan u periodu između poslednje kiše i uzorkovanja listova, što je uslovalo slične vrednosti odnosa izotopa. S druge strane, tokom dužeg perioda je verovatno bilo više izvora emisije olova, što se oslikava rasutijim odnosima izotopa izmerenih u opranim uzorcima listova. Stoga, određivanje odnosa izotopa olova u opranim listovima omogućava da se proceni dugoročna akumulacija olova u listovima, koja nastaje kao rezultat njegove akumulacije tokom cele vegetacione sezone. U slučaju određivanja potencijalnih izvora u definisanom vremenskom periodu, listovi se mogu analizirati bez prethodne pripreme.

U skladu sa navedenim, vrednosti odnosa izotopa u opranim listovima uzorkovanim u Studentskom parku (Slika 49a) su rasutije od vrednosti za neoprane listove, što ukazuje na prisustvo drugog/ih izvora emisije olova, osim saobraćaja. Moguće je da individualna postrojenja za zagrevanje, kojih ima nekoliko u blizini Studentskog parka, imaju značajan

uticaj na zagađenje olovom na ovom lokalitetu. Iako su uzorci listova sakupljeni u julu mesecu, postoji više od 112 jedinica u Beogradu od kojih neke rade tokom cele godine (<http://www.beograd.rs/cms/view.php?id=202150>, pristupljeno 22.10.2015.). Većina ovih jedinica koriste sirovu naftu i prirodni gas. Sa druge strane, u istraživanju kvaliteta vazduha u ovoj oblasti, utvrđeno je da je povećana koncentracija olova u PM_{2,5} u korelaciji sa periodima vetra iz severoistočnog pravca, ukazujući na potencijalni uticaj rafinerije iz Pančeva (Rajšić *et al.*, 2008).

Odnosi izotopa olova u svim uzorcima listova sakupljenim u Karađorđevom parku (Slika 49b) su imali niže vrednosti od uzoraka sa drugih lokaliteta. Termoelektrana TENT iz Obrenovca, koja se nalazi oko 30 km jugozapadno od Beograda, bi mogla biti još jedan izvor zagađenja olovom. Izotopski odnosi u česticama iz vazduha u Obrenovcu su takođe prikazani na Slici 49., ukazujući da je izvor olova u listovima iz Karađorđevog parka uglj koji se koristi u TENT-u, dok na ostalim lokalitetima uticaj ovog izvora nije uočen. U istraživanju (Rajšić *et al.*, 2004), koncentracije čestica u vazduhu, merene u centru Beograda, su bile više kada je vetar pretežno duvao iz pravca jugozapada. Takođe, visoke koncentracije olova u PM₁₀ su zabeležene kada je pravac vetra bio zapad-jugozapad, ukazujući na potencijalni doprinos termoelektrane u Obrenovcu (Rajšić *et al.*, 2008). Isti uglj se koristi i u drugim jedinicama za zagrevanje u Beogradu, što sugerise da i bez direktnog uticaja TENT-a u Obrenovcu tokom jula 2009., sagorevanje uglja može biti jedan od glavnih izvora olova i uzrokovati promene u odnosima izotopa olova na određenom lokalitetu.

Na lokalitetu Botanička bašta (Slika 49c), odnosi izotopa u većini neopranih i opranih uzoraka listova su bili uglavnom sličnih vrednosti i grupisani, ukazujući na jedan dominantan izvor olova tokom dužeg vremenskog perioda. Botanička bašta se nalazi u centru grada, okružena visokim zgradama, sa veoma intenzivnim saobraćajem u okolnim ulicama i malom mogućnosti za ventilaciju. Zbog toga emisija olova iz saobraćaja, većinom gradskih autobusa i putničkih automobila, može biti glavni izvor olova na ovom lokalitetu. Catinon *et al.* (2013) su sugerisali da su pre zabrane upotrebe olovnog benzina, izduvni gasovi automobila u velikoj meri doprinosili zagađenju olovom. Usled toga, čestice su se

zadržale u neposrednoj blizini saobraćajnica, praveći dugoročnu zalihu antropogene prašine. Resuspenzija zemljišta zagađivanih tokom dugoročnog perioda, kao i prašine pored puta, predstavlja stalni izvor atmosferskog olova iz prethodnih emisija (Kurkjian *et al.*, 2002; Del Rio-Salas *et al.*, 2012). Korišćenje olovnih osnova za točkove i boja za puteve predstavlja još neke potencijalne izvore olova u urbanim sredinama (Root, 2000; Kayhanian, 2012). Odnosi izotopa olova su imali delimično preklapanje sa odnosima izotopa u kineskim aerosolima (Bollhöfer & Rosman, 2001), koji odgovaraju izotopskim odnosima olovnih ruda iz Kine koje su bile korišćene kao aditiv u benzinu, koji je bio korišćen tokom ispitivanog perioda. Iako se vrednosti odnosa izotopa u uzorcima listova sa svih lokaliteta uglavnom dobro poklapaju sa vrednostima odnosima izotopa u kineskim aerosolima, preklapanja su najuočljivija kod uzoraka iz Botaničke bašte, što ukazuje na najveći doprinos izduvnih gasova iz saobraćaja na sadržaj olova.

U cilju određivanja izvora zagađenja elementima u tragovima, rađena je analiza glavnih komponenti za uzorke sve četiri biljne vrste, sakupljene 2009. godine (Tabela 22.) Određene su tri glavne komponente, koje opisuju 65 i 72 % ukupne varijanse podataka za neoprane (Tabela 22a) i oprane (Tabela 22b) uzorke listova, redom. Zajedničko za neoprane i oprane uzorke je prevaga komponente 1, koja opisuje 25 i 28 % ukupne varijanse, redom. Prva komponenta je kod neopranih uzoraka imala velike udele Al, V, Cr, Mn, Fe i Co, dok je kod opranih imala velike udele Al, Cr, Mn, Fe i Cd, koji predstavljaju prašinu sa puta, verovatno poreklom iz mešanih prirodnih i antropogenih izvora. Al, Mn i Fe su pre svega elementi poreklom iz Zemljine kore, ali ako se pojavljuju u kombinaciji sa drugim elementima, mogu da ukažu na prisustvo antropogenih izvora (Rajšić *et al.*, 2008).

Tabela 22. Analiza glavnih komponenti sa ortogonalnom rotacijom za elemente u tragovima u: a) neopranim i b) opranim uzorcima listova svih ispitivanih biljnih vrsta sakupljenih 2009. godine. Udeli elemenata >0,5 su podebljani kao značajne vrednosti

a)	Komponenta		
	1	2	3
Al	0,798	-0,471	-0,103
V	0,690	-0,026	-0,666
Cr	0,800	0,324	-0,179
Mn	0,625	-0,107	0,411
Fe	0,836	-0,291	0,085
Co	0,551	0,197	-0,174
Ni	0,162	0,632	-0,671
Cu	-0,095	0,637	0,086
Zn	0,003	0,806	-0,146
As	-0,239	-0,250	0,729
Cd	0,498	0,753	0,012
Ba	-0,185	0,595	-0,113
Pb	0,186	0,031	0,907
Variansa (%)	25	22	18

b)	Komponenta		
	1	2	3
Al	0,887	-0,174	0,325
V	0,371	0,226	0,743
Cr	0,858	0,034	0,199
Mn	0,589	-0,086	-0,296
Fe	0,889	-0,115	0,361
Co	0,410	0,806	-0,368
Ni	-0,010	0,923	-0,154
Cu	0,128	-0,614	-0,276
Zn	0,128	0,900	0,147
As	-0,052	-0,269	-0,815
Cd	0,816	0,294	0,058
Ba	-0,182	0,890	0,122
Pb	0,455	0,014	-0,389
Variansa (%)	28	27	17

Komponenta 2 se ogledala u sadržaju Ni, Cu, Zn, Cd i Ba u neopranim uzorcima, doprinoseći sa 22 % ukupnoj varijansi, dok se kod opranih uzoraka ogledala u sadržaju Co, Ni, Cu, Zn i Ba, sa 27 % od ukupne varijanse. Ovi elementi se mogu pripisati emisiji iz saobraćaja. Kočnice i kočioni sistemi dovode do emisije Ba, Cu, Cd i Ni, dok se habanje guma smatra bitnim izvorom Cu, Co, Ni Zn duž saobraćajnica (Ball *et al.*, 1991; Sternbeck *et al.*, 2002; Hjortenkrans *et al.*, 2006). Ulje za podmazivanje motora sadrži cink, te sagorevanje ulja može biti izvor Zn (Pulles *et al.*, 2012). Kadmijum se oslobađa iz različitih automobilskih komponenti koje sadrže ovaj element kao stabilizator (Fernandez-Espinosa & Ternero-Rodriguez, 2004). Barijum se koristi kao aditiv u uljima za podmazivanje u industriji automobila, a spojnice na automobilskim delovima predstavljaju još jedan izvor cinka (Ball *et al.*, 1991).

Komponenta 3 kod neopranih uzoraka sadrži velike udele Pb, ali je takođe u vezi sa povišenim udelima V, Ni i As, što može predstavljati izduvne gasove automobila i druge vidove sagorevanja fosilnih goriva. Visoki sadržaji V i Ni u kombinaciji sa As se uglavnom tumače kao „hemijski potpis” sirove nafte i sagorevanja uglja (Viana *et al.*, 2008). U opranim uzorcima, komponenta 3 se dovodi u vezu sa povećanim udelom V i As. Međutim, sadržaji olova u neopranim uzorcima listova ukazuju da olovo uglavnom potiče iz jednog izvora, saobraćaja, dok u slučaju opranih uzoraka, komponente 1 i 3 imaju umerene udele olova. To ukazuje da olovo u opranim uzorcima potiče iz više izvora, što se slaže sa rezultatima dobijenim iz analize odnosa izotopa olova.

Kao što je već spomenuto (Slika 49.), vrednosti odnosa izotopa olova u opranim uzorcima listova su imale rasutiji raspored na grafiku i povećan opseg odnosa izotopa (Tabela 23.). Povećan opseg odnosa izotopa olova ukazuje na povećanu osetljivost biljne vrste za identifikaciju izvora ovog elementa. Najširi opseg odnosa izotopa $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$, u neopranim i opranim uzorcima je uočen za listove *B. pendula* (neoprani 1,146–1,185; oprani 1,146–1,192). Rezultati odnosa izotopa $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ u neopranim uzorcima listovima dobijeni u ovom istraživanju se podudaraju sa izveštajem Sæbo *et al.* (2012) o zadržavanju čestica iz vazduha veličine 0,2 do 10 μm na listovima drveća različitih vrsta i odgovaraju sledećem nizu: *B. pendula* > *A. hippocastanum* > *A. platanooides* > *T.cordata*. Ovo bi moglo biti posledica

debelog voštanog sloja (Dzierżanowski & Gawroński, 2011; Sæbo *et al.*, 2012), koje omogućava zadržavanje čestica na površini listova *B. pendula*. Ovo zapažanje ukazuje da bi od svih ispitivanih vrsta, *B. pendula* mogla biti najefikasniji indikator u identifikaciji više izvora olova. Iz rezultata se može zaključiti da se opseg odnosa izotopa može koristiti kao pokazatelj zadržavanja čestica iz vazduha na lisnoj površini. U tom slučaju, odnosi izotopa bi mogli biti korišćeni kao pogodan način za poređenje različitih biljnih vrsta i njihove efikasnosti u zadržavanju čestica iz vazduha. To bi moglo biti korisno s obzirom na često visoke koncentracije čestica u vazduhu i njihov uticaj na ekosisteme i zdravlje ljudi. Uopšteno, podaci o istraživanjima izotopa u listovima biljnih vrsta su retki. Potencijal listova *B. pendula* za praćenje izotopa olova je pokazan u blizini rudnika (Dolgopolova *et al.*, 2006). Ukazano je da rudarske aktivnosti nisu bile jedini uzrok zagađenja u okolini rudnika, već da je deo olova potencijalno dospeo iz drugih antropogenih aktivnosti putem transporta na velike razdaljine.

Tabela 23. Opsezi odnosa izotopa $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ u uzorcima listova biljnih vrsta sakupljenih 2009. godine

biljne vrste	neoprani	oprani
<i>B. pendula</i>	1,146-1,185	1,146-1,192
<i>A. hippocastanum</i>	1,149-1,186	1,156-1,190
<i>A. platanoides</i>	1,152-1,180	1,146-1,190
<i>T. cordata</i>	1,157-1,177	1,149-1,184

4.3.3. Koncentracija i izotopi olova u uzorcima mahovina – odnosi izotopa i primena SOM-a

Koncentracija olova u vrećicama mahovine *S. girgensohnii*, izloženih u tunelu tokom 5 i 10 nedelja je predstavljena u Tabeli 24 (Deljanin *et al.*, 2015c). Statistički značajna razlika između uzoraka, usled različitog vremena izloženosti i lokacije, je potvrđena korišćenjem *t*-testa i ANOVA testa ($p < 0,05$). Duži period izlaganja je doveo do porasta koncentracije olova u svim uzorcima mahovine. Najniže koncentracije u uzorcima izloženim tokom 5 nedelja su bile izmerene u uzorcima postavljenim izvan tunela, a najviše u uzorcima iz unutrašnjosti tunela. Isti trend je uočen i kod uzoraka izloženih tokom 10 nedelja. Povećanje koncentracije olova tokom vremena je ukazalo da je tokom prvih 5 nedelja izlaganja unos olova bio veći nego tokom narednih 5 nedelja (Tabela 24.). Stoga, više koncentracije olova u uzorcima mahovina postavljenim u tunelu u poređenju sa onim koji su postavljeni na ulazu u tunel i izvan tunela, su posledica izražene turbulencije vazdušne mase unutar tunela u uslovima slabe ventilacije.

Tabela 24. Koncentracija olova u uzorcima mahovina iz tunela (srednja vrednost $\pm$ standardna devijacija u $\mu\text{g g}^{-1}$, suva masa). Kontrolnu vrednost predstavlja koncentracija Pb izmerena u neizloženim uzorcima mahovine

Pozicija uzoraka mahovine	Vreme izlaganja (nedelja)	
	5	10
izvan tunela (ST)	10,65 $\pm$ 3,09	11,89 $\pm$ 0,67
ulaz u tunel (UT)	11,14 $\pm$ 1,82	16,31 $\pm$ 4,50
unutrašnjost (T)	14,47 $\pm$ 1,86	19,51 $\pm$ 1,75
kontrola (K)	2,60 $\pm$ 0,32	

Iako izgleda da se nije dostiglo zasićenje matrice mahovina nakon 10 nedelja izlaganja i da bi čak i tokom dužeg izlaganja došlo do unosa elemenata, unos je smanjen tokom drugih 5 nedelja izlaganja uzoraka. Vreme izlaganja je jedno od glavnih ispitivanih parametara u vezi sa tehnikom korišćenja mahovina u vrećicama. Neki autori smatraju da je optimalno vreme izlaganja vrećica sa mahovinama između 30 i 40 dana (Ares *et al.*, 2012), iako ima indikacija da u slučaju nekih elemenata, uključujući olovo, stepen unosa može biti linearan tokom perioda od 10 nedelja (Goodman *et al.*, 1974), ili čak i do 5 meseci (Aničić *et al.*, 2009c). S

druge strane, postoje indicije da vreme izlaganja duže od 10 nedelja može da izazove zasićenje jono-izmenjivačkih mesta katjona u mahovinama i potom promene u odnosima između akumuliranih metala (Adamo *et al.*, 2003), ali i da čak ni 12 nedelja izlaganja ne dovode do zasićenja matriksa već i da može da dođe do povećanja akumulacije (Giordano *et al.*, 2009). U svakom slučaju, predugo vreme izlaganja može da izazove izluživanje apsorbovanih metala (Szczepaniak & Biziuk, 2003).

Opsezi koncentracija olova u vrećicama mahovina nakon 10 nedelja izlaganja, u javnim garažama i kanjonskim ulicama, su prikazani u Tabeli 25. Najviša koncentracija je izmerena na 4 m visine, sa tendencijom opadanja ka 16 m visine, osim u slučaju uzoraka mahovina izloženih u KN i OV, gde su najviše vrednosti uočene na 8 m visine. U slučaju ulice OV, najniže vrednosti su izmerene na 4 m. *Mann-Whitney U* test je pokazao značajne razlike ($p < 0,05$) u koncentraciji olova između uzoraka izloženih na 4 m i 16 m, ali ne i između uzoraka izloženih na 8 m i ostalih uzoraka. Takođe, nije bilo značajnih razlika između kanjonskih ulica ($p > 0,15$). *ANOVA* sa *Levene*-ovim testom ($p > 0,17$; rezultati su sa *Bonferroni* korekcijom) su ukazali na značajne razlike između uzoraka postavljenih u blizini rampe i u unutrašnjosti javnih garaža ($p < 0,05$), ali ne i između različitih garaža ($p > 0,17$).

Tabela 25. Opsezi koncentracije olova u uzorcima mahovina izloženim u javnim garažama i u kanjonskim ulicama ($\mu\text{g g}^{-1}$)

Javne garaže			
Lokacija	rampa	unutrašnjost	
Pionirski park (PP)	3,46-3,61	2,49-2,89	
Masarikova (MA)	2,98-3,25	2,41-2,87	
Zeleni venac (ZV)	2,77-3,00	2,79-3,54	
Obilićev venac (OV)	2,78-3,07	2,35-2,76	
Kanjonske ulice			
Lokacija	4 m	8 m	16 m
Dragoslava Jovanovića (DJ)	6,28-10,86	3,43-7,71	3,35-7,37
Masarikova (M)	6,69-11,08	4,91-7,39	3,74-6,18
Kraljice Natalije (KN)	6,03-11,04	9,76-12,72	5,22-5,48
Obilićev venac (OV)	5,19-7,60	9,35-14,38	6,24-11,75
Knez Mihailova (KM)	4,43-7,33	3,94-7,22	2,37-5,30

Opsezi odnosa izotopa olova u svim uzorcima mahovina su prikazani u Tabeli 26. Odnosi izotopa u uzorcima izloženim 5 nedelja su imali malo više vrednosti u odnosu na odnose izotopa u uzorcima izloženim 10 nedelja. Najniže vrednosti odnosa izotopa $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ su izmerene u uzorcima izloženim 10 nedelja u unutrašnjosti tunela. Duži period izlaganja je omogućio promene u odnosu izotopa $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$, što je verovatno posledica dužeg vremena akumulacije i daje sliku o dugotrajnijem zagađenju olovom u tunelu.

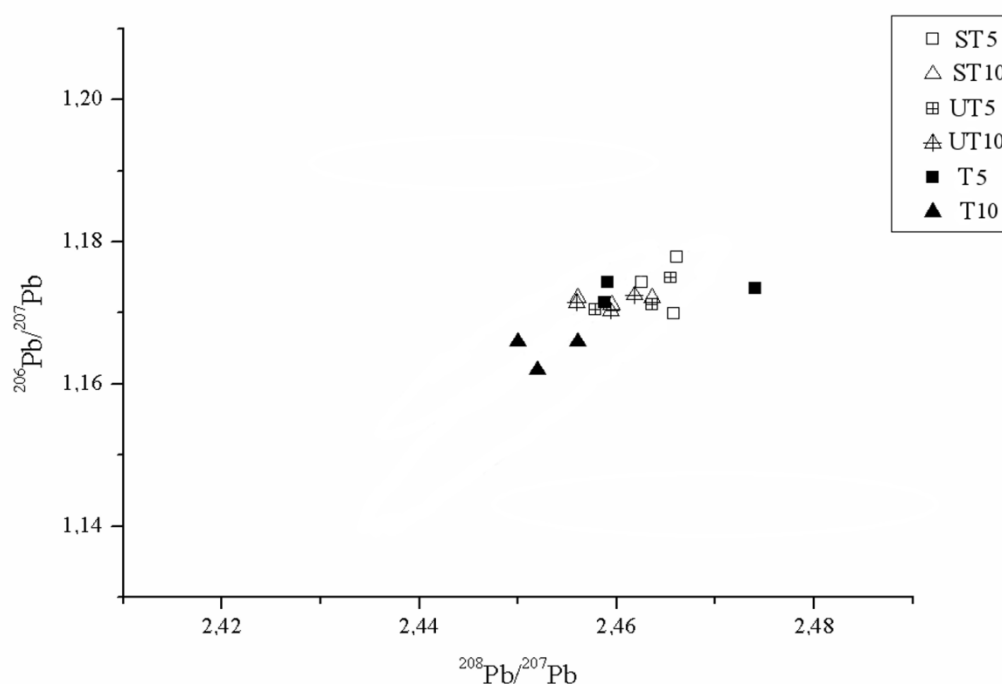
Tabela 26. Opsezi odnosa izotopa ($^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ i $^{208}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$) u uzorcima mahovina u vrećicama

Lokacija izlaganja	Vreme izlaganja	Pozicija	$^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$	$^{208}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$
tunel	5 nedelja	van tunela	1,170-1,178	2,463-2,466
		ulaz	1,171-1,175	2,458-2,465
		unutrašnjost	1,171-1,174	2,459-2,474
tunel	10 nedelja	van tunela	1,171-1,172	2,456-2,464
		ulaz	1,170-1,173	2,456-2,462
		unutrašnjost	1,162-1,166	2,450-2,456
javne garaže	10 nedelja	rampa	1,164-1,175	2,444-2,466
		unutrašnjost	1,157-1,172	2,438-2,463
kanjonske ulice	10 nedelja	4 m	1,167-1,184	2,450-2,477
		8 m	1,164-1,184	2,433-2,471
		16 m	1,168-1,177	2,451-2,474

Odnosi izotopa u javnim garažama i u kanjonskim ulicama su imali slične opsege, ukazujući na potencijalni uticaj istih izvora olova na tim lokacijama. Takođe, to bi moglo biti posledica činjenice da su javne garaže smeštene u ispitivanim kanjonskim ulicama.

Šematski prikaz odnosa tri izotopa na osnovu grafika sa odnosima izotopa ($^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ vs. $^{208}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$) se najčešće koristi za određivanje različitih izvora olova na osnovu sastava izotopa. Odnosi izotopa olova ($^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ vs. $^{208}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$) u uzorcima mahovina postavljenim u tunelu tokom 5 nedelja i 10 nedelja su prikazani na Slici 50. Uzorci postavljeni na ulazu i van tunela su imali slične vrednosti odnosa izotopa, što ukazuje na isti izvor olova, dok su odnosi izotopa u uzorcima postavljenim u unutrašnjosti tunela imali nešto niže vrednosti (Slika 50.). Može se pretpostaviti da izotopski sastav olova u uzorcima mahovina u unutrašnjosti tunela predstavlja mahom uticaj saobraćaja, zbog smanjene

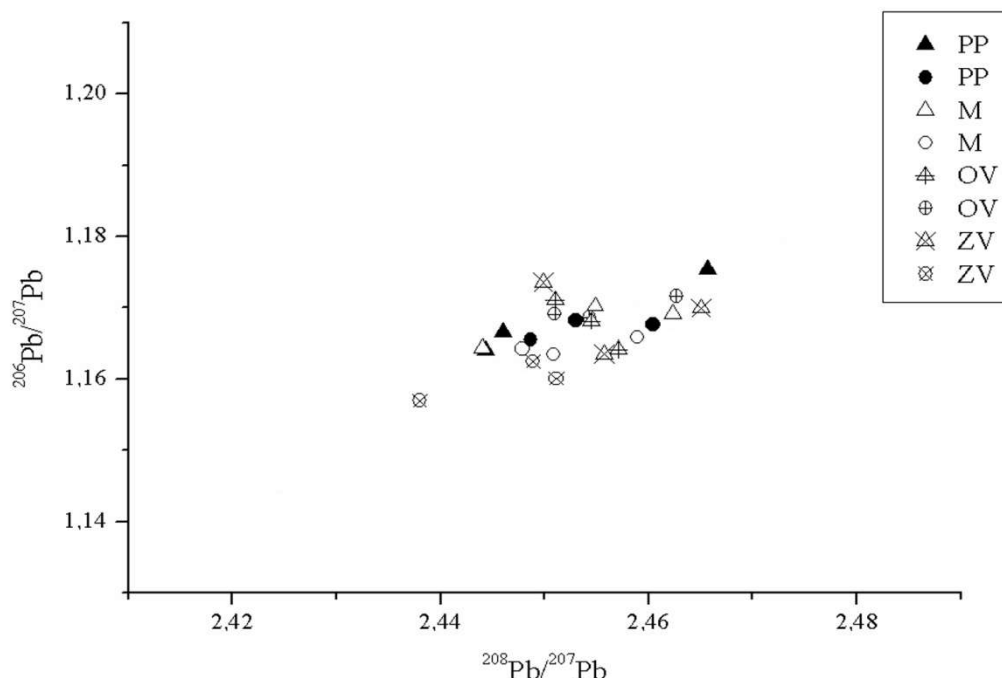
ventilacije i nedostatka drugih izvora olova. Takođe, pranje tunela se redovno izvodi (cca. 6 meseci) i na taj način se smanjuje i mogućnost resuspenzije prašine koja bi mogla biti još jedan izvor olova u tunelu. Stoga, odnosi izotopa olova u uzorcima mahovina iz tunela mogu samo da naznače izotopski sastav olova poreklom iz saobraćaja (Slika 50.). Čini se da su, kao rezultat dužeg vremena izlaganja, uzorci izloženi tokom 10 nedelja u unutrašnjosti tunela bolji pokazatelj olova poreklom iz saobraćaja. Odnosno, sa dužim periodom izloženosti izotopski odnosi Pb su imali niže vrednosti, što je u saglasnosti sa porastom koncentracija Pb u mahovini.



Slika 50. Odnosi izotopa olova ($^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ vs. $^{208}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$) u uzorcima mahovina postavljenih u Terazijskom tunelu: kvadrat – 5 nedelja izloženosti, trougao – 10 nedelja izloženosti.

Sastav izotopa olova ($^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ vs. $^{208}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$) u uzorcima mahovina izloženim u javnim garažama je prikazan na Slici 51. Iako je koncentracija olova u uzorcima mahovina postavljenim u javnim garažama imala relativno male vrednosti ($\approx 3 \text{ mg g}^{-1}$), odnosi izotopa (Slika 51.) za sve lokacije su imali slične vrednosti u uzorcima postavljenim u blizini rampi i u unutrašnjosti garaža, što je verovatno posledica istih izvora olova. Osim toga, nisu uočene

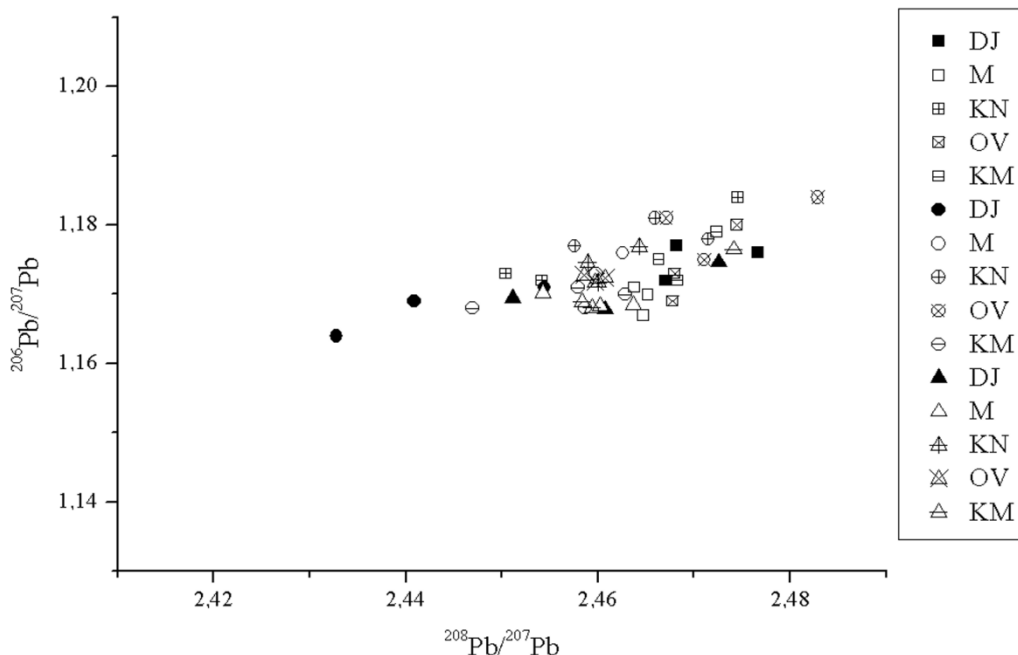
značajne razlike u odnosima izotopa izmerenim u uzorcima mahovina izloženim u različitim garažama.



Slika 51. Odnosi izotopa olova ($^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ vs. $^{208}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$) u uzorcima mahovina postavljenim u javnim garažama: trougao – rampa, krug – unutrašnjost garaže.

Izotopski sastav olova u uzorcima mahovina postavljenim u kanjonskim ulicama na tri različite visine (4 m, 8 m i 16 m) je prikazan na Slici 52. Odnosi izotopa olova u uzorcima izloženim u kanjonskim ulicama na 4 m, 8 m i 16 m visine su imali sličan prostorni raspored, što je posebno uočljivo u odnosu izotopa $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ (Slika 52.). Odnosi izotopa u uzorcima mahovina postavljenim na 4 m u različitim kanjonskim ulicama su imali slične vrednosti. To može biti posledica viših koncentracija čestica sa olovom u nižim delovima kanjonskih ulica. S druge strane, rasuti raspored izotopskog sastava ukazuje na mešanje drugih izvora olova na 8 m. Međutim, na 16 m visine u različitim kanjonskim ulicama odnosi izotopa imaju najbližnje vrednosti, ali sa manjim vrednostima odnosa izotopa $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$. Ove razlike su možda posledica prenosa zagađenja na velika rastojanja, koji bi mogli da utiče na izotopski sastav na višim visinama. Neki autori (Adamo *et al.*, 2011) su došli do sličnih zaključaka, ukazujući da su niže visine izlaganja u kanjonskim ulicama pod

velikim uticajem emisija iz saobraćaja, dok na većim visinama (>12 m - nivo krovova u kanjonskim ulicama) prenos čestica sa velikih razdaljina doprinosi drugačijoj akumulaciji elemenata. Ipak, prisutno je delimično preklapanje izotopskog sastava olova u uzorcima sa svih visina, što ukazuje na slične izvore olova i onemogućuje razlikovanje pojedinačnih izvora, ako oni postoje.

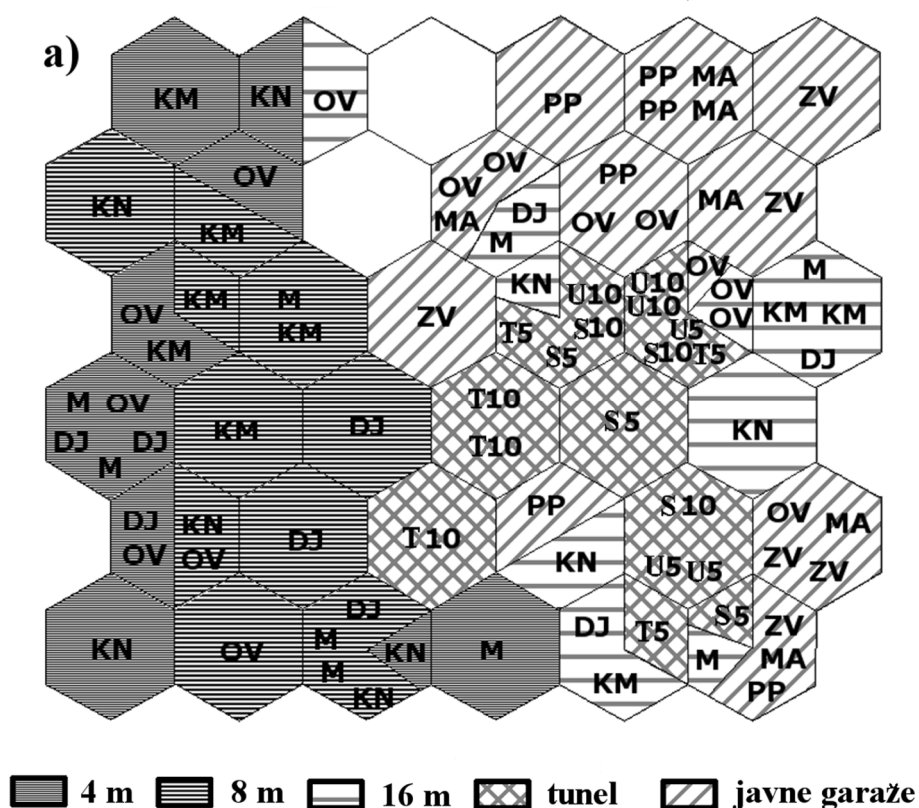


Slika 52. Odnosi izotopa olova ($^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ vs. $^{208}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$) u uzorcima mahovina postavljenim u kanjonskim ulicama na 4 m (kvadrat), 8 m (krug) i 16 m (trougao).

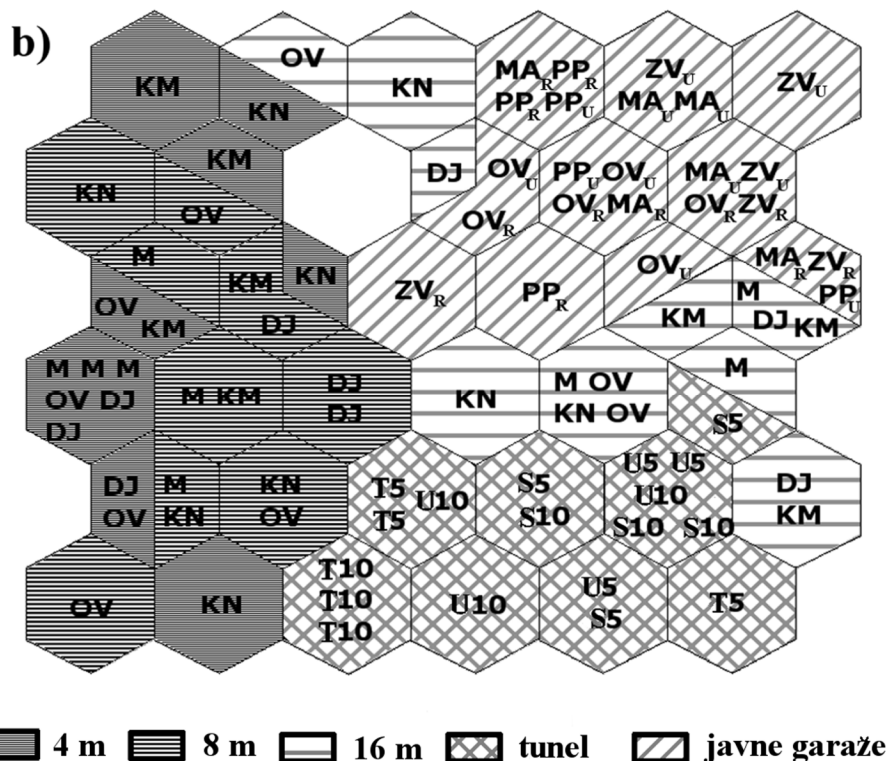
Dobijeni rezultati praćenja odnosa izotopa olova ukazuju da se čak i male razlike u sastavu izotopa mogu uočiti korišćenjem tehnike vrećica sa mahovinama. Stoga, odnosi izotopa olova, uz pomoć tehnike vrećica sa mahovinama, predstavljaju osetljivu tehniku za određivanje zagađenja olovom u urbanim sredinama. Ipak, sastav izotopa olova sam po sebi nije dovoljan za određivanje porekla olova u slučaju delimičnog preklapanja odnosa izotopa iz različitih izvora emisije, s obzirom da neki od njih mogu imati slične izotopske „potpise”. Naime, neki autori (Lahd Geagea *et al.*, 2008) su ukazali da usled prestanka korišćenja olova kao aditiva u benzinu i smanjenja emisije iz industrijskih procesa, prirodni sastav izotopa

olova u vazduhu postaje homogeniji. Stoga, potrebna je metoda za bolje uočavanje razlika u određivanju izotopskog sastava olova.

SOM klasteraska analiza je korišćena kao metoda za preciznije određivanje izotopskog sastava olova jer omogućuje korišćenje doprinosa pojedinačnih izotopa olova umesto odnosa izotopa olova. SOM je primenjen na 87 uzoraka mahovina u vrećicama izloženim na svim lokacijama. U prvoj SOM analizi, korišćeni su samo udeli izotopa ^{204}Pb , ^{206}Pb , ^{207}Pb i ^{208}Pb u uzorcima kao ulazni podaci, dok je u drugoj SOM analizi dodata i koncentraciji olova kao još jedan ulazni podatak. Broj neurona u izlaznom sloju (mapi), je u oba slučaja bio 36 (6x6). Dobijene mape i klasteri, koji ukazuju na isto ili slično poreklo olova, su prikazani na Slici 53.



Slika 53. Rezultati SOM-a za uzorke mahovina u kesicama: a) udeli izotopa olova, b) udeli izotopa i koncentracija olova (javne garaže: R – rampa, U – unutrašnjost).



Slika 53. Rezultati SOM-a za uzorke mahovina u kesicama - Nastavak.

Grupisanje sličnih uzoraka iz tunela je evidentno na sredini mape (Slika 53a), i za njih su uočeni najuži opsezi odnosa izotopa olova. Nekoliko klastera se ističe na osnovu rasporeda uzoraka mahovina (unutrašnost i ulaz tunela, van tunela) i na osnovu vremena izlaganja (5 i 10 nedelja). Svi uzorci koji su bili izloženi u tunelu tokom 10 nedelja (T10) se nalaze na donjoj levoj strani klastera uzoraka iz tunela; nasuprot tome, svi uzorci sa ulaza i van tunela (U10 i S10), koji su takođe bili izloženi tokom 10 nedelja, su raspoređeni na suprotnoj strani SOM mape. Jedini izuzetak je jedan uzorak, S10. Najrasutiji su uzorci izloženi tokom 5 nedelja, i nisu uočene razlike u njihovom rasporedu na mapi u vezi sa njihovim mestom izlaganja u eksperimentu (S, U, T). S druge strane, korišćenjem grafika sa odnosima tri izotopa (Slika 50.), samo se T10 uzorci razlikuju od ostalih uzoraka, i nisu uočene razlike između uzoraka izloženih tokom različitog vremena i na različitim lokacijama u tunelu. To ukazuje da upotreba SOM-a daje detaljniju analizu sličnosti i razlika između različitih uzoraka.

Uzorci koji su bili izloženi na ulazu i van tunela, U10 i S10, su uglavnom postavljeni blizu jedni drugima na mapi, što ukazuje na sličan sastav izotopa olova, tj. na iste izvore olova. S obzirom da su uzorci izloženi tokom 10 nedelja u tunelu formirali poseban klaster, može se pretpostaviti da je glavni izvor olova bio isti, verovatno izduvni gasovi vozila. Dobijeni rezultati SOM-a za period izlaganja od 5 i 10 nedelja u tunelu se slažu sa zaključcima dobijenim na osnovu koncentracije olova u uzorcima mahovina. Nisu uočene velike razlike između uzoraka koji su bili izloženi tokom 10 nedelja na svim mestima izlaganja, što ukazuje da je ovaj period izlaganja pogodniji za određivanje izotopa olova. Potvrđeno je da nije došlo do zasićenja mahovina tokom perioda od 5 nedelja, što sugeriše da 10 nedelja predstavlja pogodniji vremenski period za određivanje koncentracije olova u istraživanjima sa vrećicama mahovina, sa ciljem povećanja osetljivosti metode.

Većina uzoraka iz javnih garaža je grupisana u gornjem desnom delu mape, dok je manji broj uzoraka raspoređen u donjem desnom uglu (Slika 53a). Razlike u uzorcima držanim u blizini rampi i u unutrašnjosti javnih garaža nisu uočene. Grupisanje uzoraka iz garaža u SOM analizi oko klastera obrazovanog od uzoraka iz tunela ukazuje da saobraćaj, tj. izduvni gasovi, može biti jedan ali ne i jedini izvor olova u garažama, jer nije došlo do preklapanja sa uzorcima iz tunela.

U slučaju kanjonskih ulica, došlo je do preklapanja uzoraka sa 4 m i 8 m visine u jedinicama mape, i oni su grupisani na levoj strani mape (Slika 53a). Ovo ukazuje na uticaj istog/istih izvora olova na nižim visinama u kanjonskim ulicama. Ovi rezultati se slažu sa rezultatima dobijenim merenjem koncentracije olova u kanjonskim ulicama, koja je bila najviša na 4 m i 8 m visine, u zavisnosti od ulice. Zapravo, izgleda da uzlazni i silazni tokovi u termalnim vrtlozima u kanjonskim ulicama omogućavaju mešanje vazduha (Vuković *et al.*, 2013) i usled toga, mešanje čestica obogaćenih olovom poreklom iz različitih izvora. Uzorci mahovina izloženih na 4 m i 8 m visine u KM ulici su raspoređeni u središnjem i gornjem delu mape, delimično odvojeni od ostalih uzoraka, pošto se radi o pešačkoj zoni.

Dobijeni rezultati pokazuju da je uz pomoć SOM analize i udela sva četiri stabilna izotopa olova moguće uočiti i razlike između različitih lokaliteta izlaganja uzoraka, za razliku od uobičajenog prikaza odnosa tri izotopa ($^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ vs. $^{208}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$), prikazanim na Slici 52.

Štaviše, na osnovu Slike 52. se može zaključiti da su izvori olova za sve visine uglavnom izmešani, zbog preklapanja njihovih odnosa izotopa, međutim, SOM analiza ukazuje na uočljive razlike između njih.

Klasteri sastavljeni od uzoraka sa 16 m iz kanjonskih ulica su odvojeni. Razlog može biti prenos zagađenja na velike razdaljine i mešanje vazduha na većim visinama izloženosti. Iako se javne garaže nalaze u istim kanjonskim ulicama u kojim se sprovodi istraživanje, nisu uočene grupe uzoraka sa istih lokaliteta (uzorci sa 4 m i 8 m visine u kanjonskim ulicama i u javnim garažama u istim ulicama). Ipak, uočene su sličnosti između uzoraka izloženih na 16 m visine i uzoraka izloženih u garažama u tim ulicama.

U drugoj SOM analizi (Slika 53b), osim udela izotopa olova, koncentracija olova u uzorcima mahovina je korišćena kao još jedna ulazna vrednost. Udeo izotopa je nezavisan od koncentracije, stoga koncentracija kao ulazna vrednost ne može da utiče na formiranje klastera na osnovu „porekla” olova u uzorcima, ali s obzirom da je koncentracija indikator aktivnosti izvora emisije, može biti korisna za dalje razlikovanje uzoraka, posebno u eksperimentima manjeg obima, što je slučaj sa mikrosredinama.

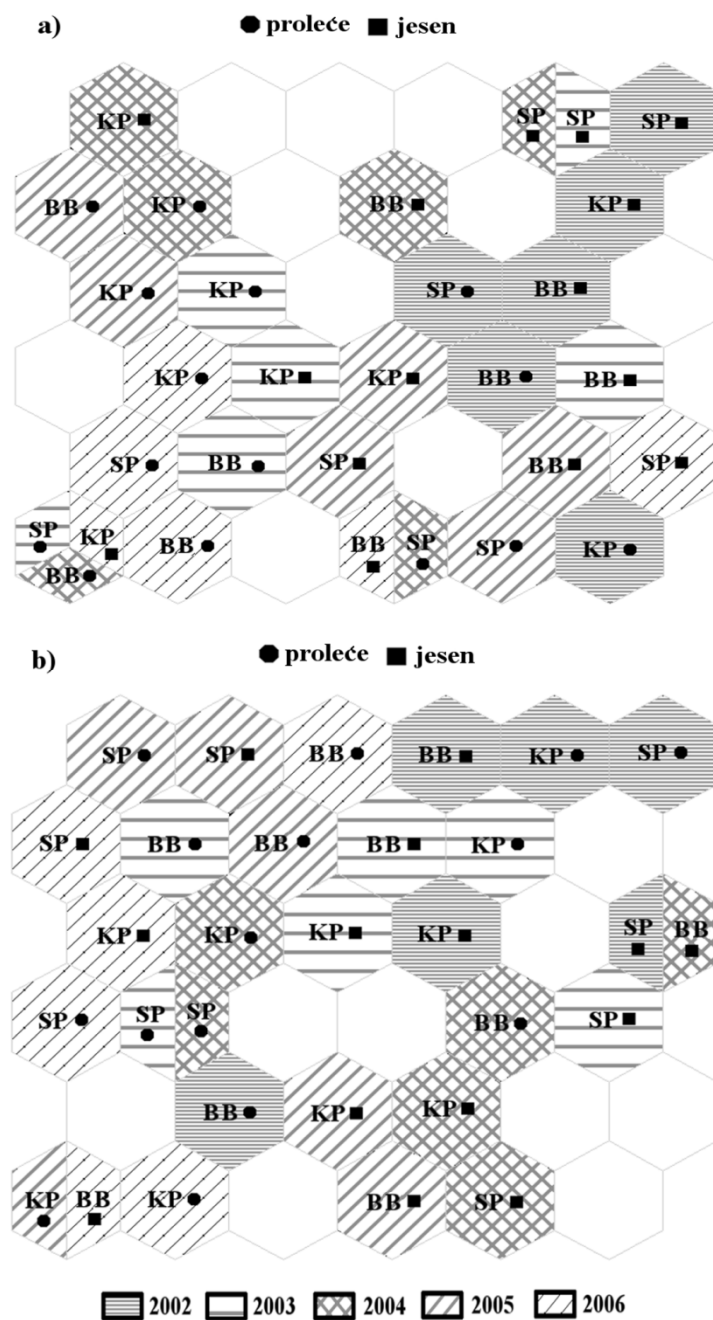
SOM mapa, na Slici 53b, pokazuje da su uzorci iz tunela formirali potpuno odvojen klaster, od uzoraka iz javnih garaža, i da imaju sličnosti samo sa uzorcima mahovina iz kanjonskih ulica. Izgleda da izduvni gasovi nisu bili dominantni izvor olova u javnim garažama, iako su postojale indikacije njihovog uticaja u SOM analizi u kojoj su korišćeni samo udeli izotopa kao ulazne vrednosti. Sa dodavanjem koncentracije olova u analizu, T10 uzorci su se potpuno grupisali u klaster i odvojili od T5 uzoraka. Takođe, ostali uzorci iz tunela koji su bili izloženi tokom 10 nedelja, su se mahom grupisali, dok su uzorci izloženi tokom 5 nedelja bili uglavnom rasuti. To je još jedna potvrda da prilikom određivanja izvora olova u urbanoj sredini korišćenjem aktivnog monitoringa, vreme izlaganja bi trebalo da bude 10 nedelja.

Dodavanje koncentracije olova, kao još jedne ulazne vrednosti u SOM analizi, je potvrdilo zaključke dobijene u SOM analizi samo sa izotopima olova. Ipak, pored uočenih razlika između različitih tipova lokaliteta izlaganja mahovina (tunel, javne garaže i kanjonske

ulice), različite horizontalne distribucije (izvan tunela, ulaz i unutrašnjost tunela) i vertikalne distribucije (4 m, 8 m i 16 m visine na kojima su izlagani uzorci mahovina) između pojedinačnih klastera, uz pomoć SOM analize je moguće ustanoviti i razlike i između konkretnih lokaliteta. Naime, uzorci mahovina iz kanjonske ulice DJ su formirali pojedinačne klastere za 4 m i 8 m visine, dok je većina uzoraka iz M i OV formirala klastere sa pomešanim uzorcima sa 4 m i 8 m na levoj strani mape. Takođe, uočljive su razlike između uzoraka koji su bili postavljeni pored rampi i u unutrašnjosti javnih garaža, jer su uzorci mahovina iz unutrašnjosti garaža grupisani u gornjem desnom uglu mape, dok uzorci izloženi u blizini rampi formiraju „prsten” oko njih i bliže su postavljeni uzorcima sa 16 m iz ulica u kojima se nalaze dotične javne garaže.

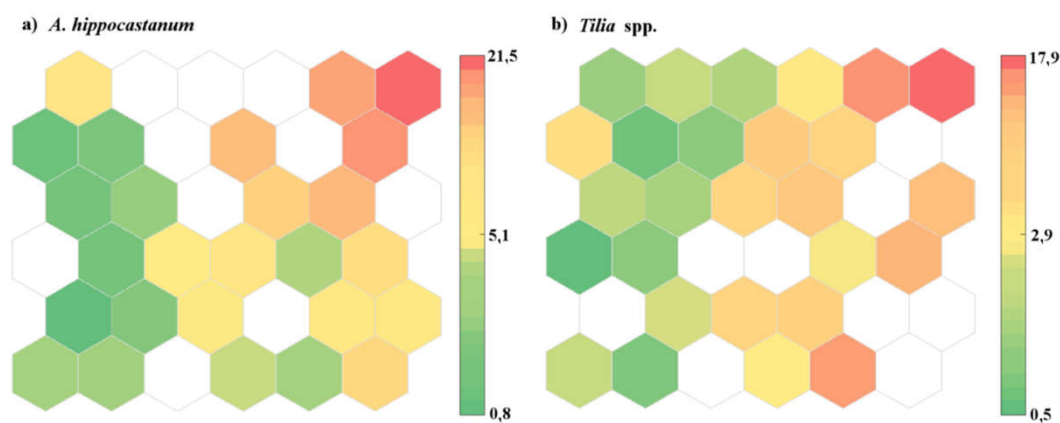
4.3.4. SOM analiza izotopa u uzorcima listova

SOM analiza je urađena da bi se ustanovila pogodnost listova *A. hippocastanum* i *Tilia* spp. za potrebe biomonitoringa sastava izotopa olova, kao i njihove promene tokom perioda 2002.-2006. godina (Deljanin *et al.*, 2015a). Učestalost izotopa ^{204}Pb , ^{206}Pb , ^{207}Pb i ^{208}Pb i koncentracija olova su korišćene kao ulazne vrednosti, s obzirom da je pokazano da koncentracija olova kao dodatni ulaz poboljšava formiranje klastera i omogućuje bolje određivanje razlika između uzoraka u aktivnom biomonitoringu sa kesicama mahovina u urbanoj sredini (Slika 53b). Dobijene mape za uzorke *A. hippocastanum* i *Tilia* spp. su prikazane na Slici 54. Za posmatrani period u Beogradu je bila karakteristična veća emisija olova nego u ostatku Evrope, jer je olovni benzin i dalje bio korišćen, dok je u većini evropskih zemalja izbačen iz upotrebe od 2000. godine (Hjortenkrans *et al.*, 2006). Takođe, lokaliteti na kojima je vršeno uzorkovanje se nalaze u urbanom delu Beogradu, gde su izduvni gasovi i ostale emisije iz saobraćaja dominantni izvor elemenata u tragovima, pa je stoga olovo bilo jedna od glavnih zagađujućih materija.



Slika 54. Rezultati SOM-a za doprinose izotopa i koncentracije olova u uzorcima listova a) *A. hippocastanum* b) *Tilia* spp.

Godišnji trend i razlike su uočljive kod uzoraka *A. hippocastanum* (Slika 54a). Nekoliko klastera je formirano na osnovu godina; najistaknutiji je klaster sa uzorcima iz 2002. godine, ali takođe i sa uzorcima iz 2006. i u manjoj meri 2003. godine. S druge strane, uzorci iz 2004. godine su uglavnom rasuti. Razlog je verovatno smanjenje upotrebe olovnog benzina tokom posmatranog perioda, kao i promene u olovnim aditivima koji su se tada koristili u benzinu. Zapravo, tokom ispitivanog perioda je došlo do zamene aditiva u benzinu i novi alkil-olovni aditiv je uveden na srpsko tržište, jer je benzin korišćen do tad postepeno izbacivan iz upotrebe i potpuno zamenjen 2006. godine (Slika 48). Period promene se uočava kroz rasut raspored uzoraka iz 2004. i 2005. godine, zbog mešanja različitih tipova olovnog benzina, dok su stabilnije vrednosti uočene tokom 2002. i 2006. godine. Ovo zapažanje se slaže i sa koncentracijama olova tokom posmatranog perioda; najviše koncentracije olova su izmerene u uzorcima iz 2002. godine, koje su grupisane u gornjem desnom delu mape, dok su najniže vrednosti izmerene u uzorcima iz 2006., i oni su grupisani u donjem levom delu mape (Slika 55a). U slučaju uzoraka *Tilia* spp. (Slika 54b), razlike između uzoraka iz različitih godina nisu bile tako uočljive, iako su prisutne manje grupe uzoraka za svaku godinu. Raspored uzoraka na mapi komponenti za Pb je bio sličan uzorcima *A. hippocastanum* (Slika 55b): najviše koncentracije su uočene kod uzoraka iz 2002. godine; uzorci iz 2003. i 2004. godine imaju umerene koncentracije, i najniže koncentracije su izmerene u uzorcima iz 2005. i 2006. godine.

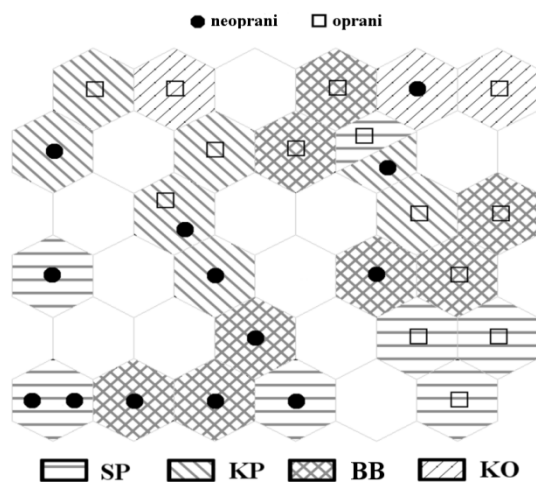
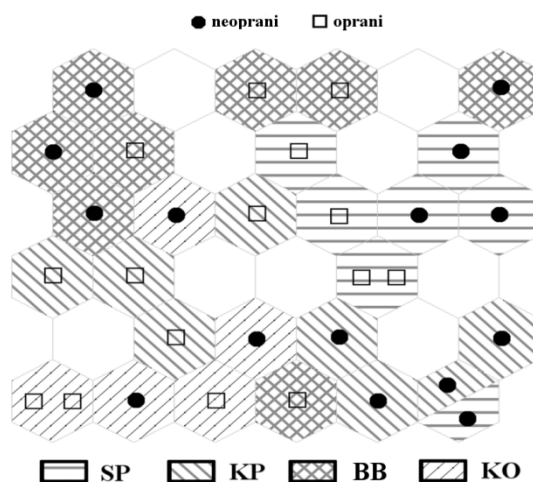
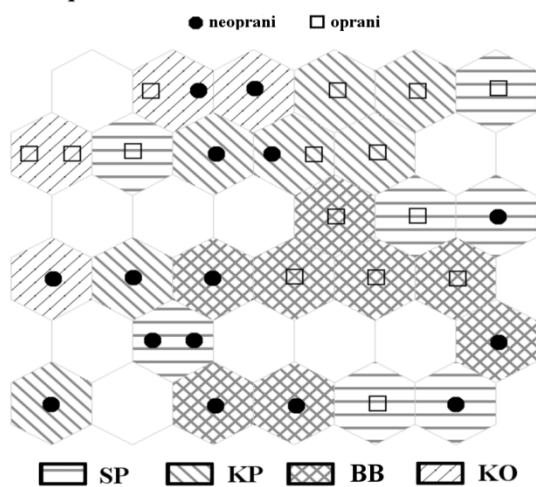
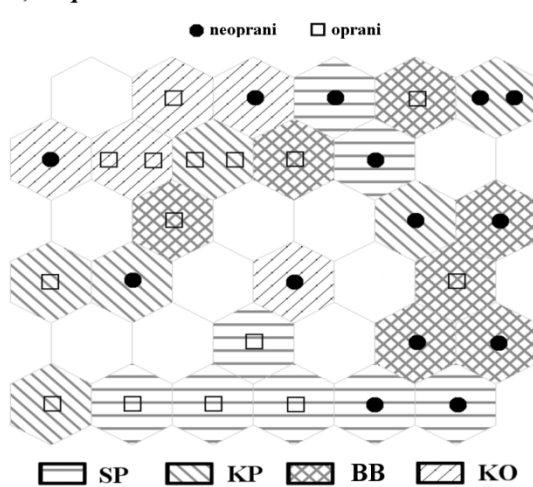


Slika 55. Mape komponenti SOM-a za doprinose izotopa i koncentraciju olova u uzorcima listova a) *A. hippocastanum* b) *Tilia* spp.

Sezonske razlike su uočljive kod obe vrste, posebno u slučaju *A. hippocastanum*, ali sa dosta preklapanja, jer je glavni izvor olova, saobraćaj, aktivan tokom cele vegetacione sezone. Ipak, prolećni uzorci su bili više grupisani kod obe vrste. To ukazuje da je na početku vegetacione sezone, kada se pojavi novo lišće, sadržaj olova posledica prisustva jednog izvora, dominantnog u tom trenutku, dok se tokom ostatka vegetacione sezone javljaju i drugi izvori olova, sa različitim intenzitetom.

Sličnosti u sastavu izotopa i koncentraciji olova na lokalitetima su uglavnom uočene na lokalitetu KP, u slučaju *A. hippocastanum* i *Tilia* spp. To ukazuje da je olovo najzastupljeniji i najdominantniji element na tom lokalitetu, verovatno kao posledica blizine autoputa. Nasuprot tome, uzorci *A. hippocastanum* sa SP su bili razdvojeni, što ukazuje da dominantan element na tom lokalitetu nije olovo. Kao što je prethodno uočeno na mapi komponenti, najviše vrednosti Cu odgovaraju rasporedu uzoraka sa SP, što je posebno evidentno kod uzoraka *A. hippocastanum*.

SOM analiza izotopskog sastava olova je rađena i za uzorke listova četiri biljne vrste (*A. hippocastanum*, *T. cordata*, *B. pendula* i *A. platanoides*) sakupljene jula 2009. godine (Slika 56.). Uzorci listova se razlikuju po načinu pripreme: deo uzoraka je pre dalje analize ispiran bidestilovanom vodom, dok je ostatak ostao netretiran. Kao ulazne vrednosti SOM-a su ponovo korišćeni doprinosi četiri stabilna izotopa olova i koncentracija Pb.

a) *A. hippocastanum*b) *T. cordata*c) *B. pendula*d) *A. platanoides*

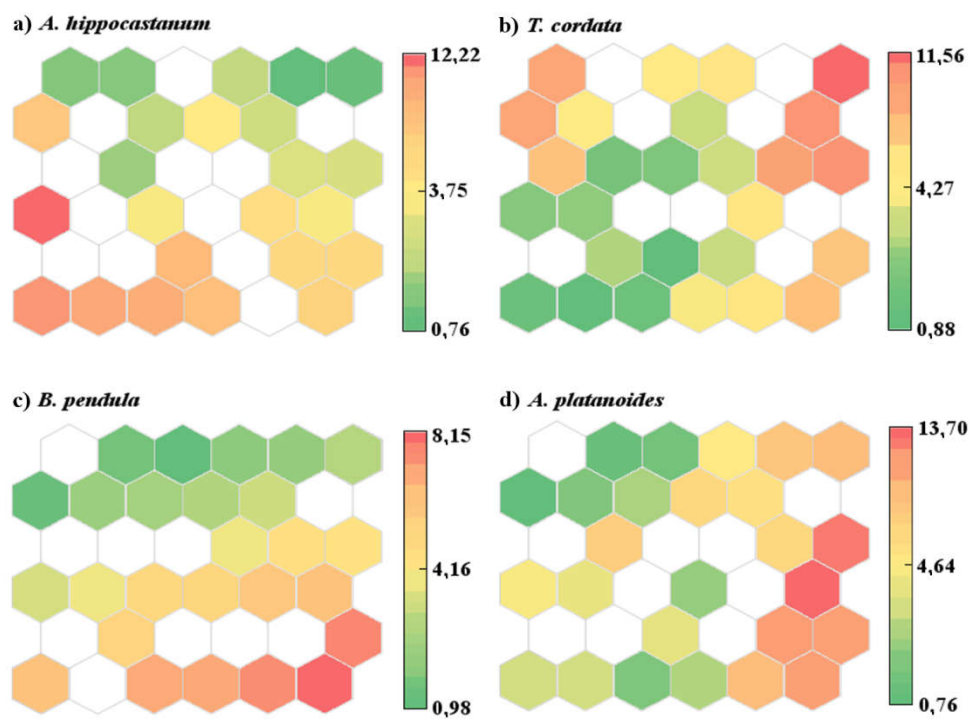
Slika 56. Rezultati SOM-a za uzorke listova (2009. godina): SP – Studentski park, KP – Karadorđev park, BB – Botanička bašta, KO – Košutnjak.

Razlike između opranih i neopranih uzoraka listova su vidljive kod svih biljnih vrsta. Neoprani listovi su više grupisani od opranih listova, što ukazuje na njihovu veću međusobnu sličnost. Verovatno se pranjem uklanja sloj nataloženih čestica sa površine listova koji potiče od izvora olova aktivnog u periodu od poslednjih padavina, dok je olovo koje ostaje na/u listovima i nakon pranja poreklom iz izvora koji je bio aktivan i pre perioda padavina ili tokom dužeg vremenskog perioda, verovatno još od početka vegetacione sezone. Može se pretpostaviti da je u pitanju saobraćaj, tj. olovni benzin. Ostali potencijalni izvori uključuju pojedinačne stacionarne jedinice za grejanje, koje u zavisnosti od potrebe i

njihove primene, mogu biti aktivne tokom cele godine. Ipak, zbog značajnih preklapanja opranih i neopranih grupa uzoraka glavni izvor olova je verovatno saobraćaj, jer predstavlja izvor aktivan tokom cele godine. Osetljivost biljnih vrsta i njihova mogućnost da ukažu na razlike u izotopskom sastavu olova između opranih i neopranih listova je različita i rangirana je prema opadajućem nizu: *A. hippocastanum* > *B. pendula* > *T. cordata* ≥ *A. platanoides*.

Uzorci listova *T. cordata* su uglavnom formirali klastere u zavisnosti od lokaliteta sa kojeg su uzorkovani (Slika 56b). S druge strane, tako definisani klasteri se ne uočavaju kod ostalih biljnih vrsta, već se uglavnom grupišu u manje klastere. Takođe, grupe uzoraka sa određenih lokaliteta se razlikuju od vrste do vrste, ali klasteri nisu formirani kod svih biljnih vrsta. (npr., *B. pendula* – KP i BB, *A. hippocastanum* – manji klasteri KP, BB i SP, *A. platanoides* – SP, KO i BB).

Uzorci sakupljeni na lokalitetima BB i SP uglavnom imaju više koncentracije Pb, dok uzorci sa lokaliteta KO i KP imaju niže koncentracije, osim u slučaju *A. platanoides*, u čijem slučaju neki uzorci sakupljeni na lokalitetu SP takođe imaju niže koncentracije (Slika 57). U slučaju *B. pendula* (Slika 57c), raspored uzoraka na SOM mapi je uglavnom definisan koncentracijom Pb, jer se uočava gradijent koncentracije od vrha (niže koncentracije) do dna (više koncentracije) mape. Iako Košutnjak predstavlja veliku zelenu površinu van centralnog gradskog jezgra, ne predstavlja kontrolnu lokaciju, jer izmerene koncentracije olova u uzorcima listova sa tog lokaliteta nisu zanemarljive, iako su dosta niže nego na ostalim lokalitetima (Tomašević *et al.*, 2011).



Slika 57. Mape komponenti SOM-a za uzorke listova (2009. godina).

5. Zaključci

Cilj istraživanja urađenih u okviru ove doktorske disertacije je praćenje elemenata u tragovima u vazduhu primenom različitih biljnih vrsta kao biomonitora zagađenja vazduha ovim elementima. Biljke i različiti delovi biljaka se sve više koriste kao pasivni ili aktivni bioindikator elementa u tragovima u istraživanjima atmosferske depozicije zagađujućih materija. Prednosti biomonitoringa, u odnosu na referentni monitoring, su dobijanje informacija o uticaju atmosferskih polutanata na žive sisteme i niži troškovi sprovođenja istraživanja. Za potrebe biomonitoringa su korišćene četiri vrste listopadnog drveća, često prisutne na području Beograda i ostalim područjima sa umerenom klimom, – *Aesculus hippocastanum*, *Tilia* spp. (*T. tomentosa* i *T. cordata*), *Betula pendula* i *Acer platanooides*. Posebna pažnja je posvećena sadržaju olova, kao jednog od najzastupljenijih elemenata u tragovima u Beogradu tokom ispitivanog perioda, te su na osnovu koncentracija i izotopa olova određivani izvori i razlike u emisiji ovog elementa u Beogradu. Određivana je i koncentracija platine u uzorcima listova, kao elementa koji se poslednjih godina emituje u vazduh iz automobilskih katalizatora. Pored toga, vršeno je merenje i upoređivanje koncentracija elemenata u tragovima u uzorcima listova i u uzorcima čestica (PM10) iz vazduha, da bi se utvrdila pogodnost korišćenja listova drveća kao komplementarne metode standardnom monitoringu elemenata u tragovima iz vazduha.

U okviru istraživanja rađena je morfološka i hemijska karakterizacija čestica na površini listova, korišćenjem SEM-EDS instrumenta. Čestice uočene na površini listova su se razlikovale po obliku i veličini, i bile su neravnomerno raspoređene. Broj čestica je bio veći na licu lista, posebno u neravnim zonama ili u blizini glavnih nerava. Rezultati EDS analize su pokazali da su najzastupljeniji elementi na površini listova bili, redom: O > C > Si > Al > Fe. Silicijum, Al i Fe su uglavnom ulazili u sastav čestica uočenih na listovima. Drugi elementi, kao što su Ca, Mg, K, P i S su bili prisutni u manjim količinama, i uglavnom su gradili okside.

Primenjeni su različiti načini pripreme uzoraka listova pre hemijske analize: a) da bi se izvršila hemijska karakterizacija istaloženih frakcija na površini listova i u voštanom sloju, kao i sadržaj elemenata u tkivu listova, b) sa ciljem standardizacije metode pripreme

uzoraka, što bi omogućilo lakše upoređivanje rezultata iz različitih istraživanja. Uklonjena količina elemenata u tragovima sa površine listova predstavlja frakciju rastvorljivu u vodi i/ili hloroformu. Ova frakcija potiče iz vazduha, jer je bila pričvršćena za površinu listova. Uočena je najveća akumulacija elemenata u tragovima u tkivu listova *Tilia* spp., dok su listovi *A. hippocastanum* sadržali najmanju količinu elemenata. Količina uklonjenih i/ili akumuliranih elemenata zavisi od hemijskih osobina samog elementa, kao i od morfoloških svojstava vrsta (npr., trihomi, voštani sloj). Najveći stepen uklanjanja elemenata u tragovima je bio uočen za Al, V, Cr, Cu, Zn, As, Cd i Sb. Uočene su i različite distribucije elemenata u tragovima u površinskoj frakciji i u voštanom sloju: Al je uglavnom bio prisutan u voštanom sloju, dok je Cu bio prisutan na površini listova. Procedura kratkog ispiranja uzoraka listova dejonizovanom vodom je značajno uticala na smanjenje koncentracije Pb. Najmanje ispiranje Pb je uočeno kod listova *B. pendula*, ukazujući na najveće zadržavanje finih i krupnih čestica usled prisustva debelog voštanog sloja na površini listova.

Multivarijantno klasifikovanje i rangiranje uzoraka, korišćenjem SON-a i PROMETHEE-a se, između ostalog, pokazalo kao koristan i pogodan alat za procenjivanje ukupnog sadržaja elemenata u tragovima u listovima. SON analiza je pružila jasnije podatke o sezonskoj akumulaciji i godišnjem trendu u koncentracijama elemenata u tragovima. Pored toga, u kombinaciji sa drugim statističkim tehnikama, daje jasnije rezultate o zagađenju uzoraka elementima u tragovima. Može se primeniti i kao komplementarna tehnika SOM analizi elemenata u tragovima. Iako zagađenje elementima u tragovima nije bilo homogeno tokom posmatranog perioda, što je otežavalo formiranje klastera, primenom kombinovane SON-SOM analize ustanovljene su vremenske i prostorne razlike između uzoraka. Pokazano je da je SOM odgovarajuća i osetljiva tehnika za određivanje razlika u koncentracijama elemenata u tragovima u listovima različitih biljnih vrsta, jer može da uoči male razlike između uzoraka sa sličnim poreklom ili sa bliskih lokaliteta, kao što je čest slučaj u urbanoj sredini. Stoga, SOM se može primeniti kao jednostavna tehnika za mapiranje lokaliteta uzorkovanja i biljnih vrsta prilikom određivanja nivoa zagađenosti elementima u tragovima.

Raspored uzoraka na GAIA mapi je bio sličan kao i kod SOM-a, jer su grupe uzoraka formirane na sličan način kao i klasteri u SOM-u. Pored grupisanja uzoraka, može se ustanoviti i nivo koncentracije uzoraka sa GAIA mape, analizirajući projekcije uzoraka na ose elemenata u tragovima. Takođe, posmatrajući orijentaciju osa elemenata, mogu se uočiti grupe blisko raspoređenih osa koje odgovaraju komponentama u analizi glavnih komponenti. Ipak, u slučaju podataka kao što su koncentracije elemenata u tragovima, uočljiv je efekat „zatvorenih podataka”, te je potrebno primeniti *clr* transformaciju njihovih vrednosti da bi se ustanovili stvarni odnosi između elemenata u tragovima u uzorcima listova. Može se zaključiti da GAIA mapa ima bolji vizuelni prikaz od SOM-a, gde su potrebne i mape komponenti koncentracija pojedinačnih elemenata ili je potrebno koristiti još neka alata za klasifikaciju (kao što su SON ili PROMETHEE), da bi se procenio nivo sadržaja elemenata.

U istraživanju koncentracija PM10 u vazduhu i koncentracija elemenata u tragovima u njima, kao i koncentracija elemenata u tragovima u listovima drveća (*A. hippocastanum*) uzorkovanih u centru Beograda, pokazano je da razlike u vrednostima koncentracija čestica i elemenata u njima tokom ispitivanog perioda, nisu bile značajne. Vrednosti koncentracija elemenata u tragovima u PM10 su bile ispod propisanih graničnih vrednosti u pravilnicima Republike Srbije i Evropske unije. Na osnovu sličnih trendova koncentracija elemenata u tragovima u vazduhu i uzorcima listova, ustanovljeno je da listovi *A. hippocastanum* dobro oslikavaju promene u atmosferskim koncentracijama elemenata u tragovima. Koncentracija olova je imala opadajući trend tokom ispitivanog perioda, zbog smanjene upotrebe olovnog benzina. Može se pretpostaviti da je tokom posmatranog perioda, sagorevanje fosilnih goriva bio jedan od glavnih izvora ispitivanih elemenata u Beogradu.

ICP-MS tehnika uz korišćenje *matrix-match* kalibracionih standarda se pokazala kao pogodna metoda određivanja platine u uzorcima listopadnog drveća. Različiti načini pripreme uzoraka listova utiču na sadržaj platine u listovima. Primenom standardizovane metode za pripremu uzoraka omogućilo bi se direktno poređenje rezultata dobijenih iz različitih istraživanja što trenutno nije moguće. Takođe, na osnovu dobijenih rezultata se

može zaključiti da se listovi listopadnog drveća mogu koristiti kao potencijalni biomonitori platine u urbanim sredinama.

Tokom posmatranog perioda (2002.–2006. godine), koncentracija olova u listovima ispitivanih vrsta ima trend smanjenja zbog smanjenog sadržaja olova u vazduhu, kao posledica povećanog broja vozila koja koriste bezolovni benzin. Ipak, odnos izotopa $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ se povećava tokom godina, tj. negativno je korelisan sa koncentracijom olova u listovima tokom vremena ispitivanja. Takođe, odnosi izotopa $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ i $^{208}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ oslikavaju promenu korišćenog benzina u Beogradu. Benzin korišćen od 2002. do 2004. godine je sadržao Pb-aditive koji su vodili poreklo iz australijskih ruda olova, dok je od 2005. godine korišćen benzin koji je sadržao olovo poreklom iz kineskih ruda. Shodno tome, povećanje odnosa izotopa $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ u listovima ispitivanih vrsta je samo delimično posledica smanjene upotrebe olovnog benzina, i posledično zagađenja vazduha, dok je drugi razlog promena izotopskog sastava korišćenih olovnih aditiva u benzinu. Dobijeni odnosi izotopa olova ukazuju na značajni doprinos olovnog benzina sadržaju olova u lišću.

Tokom istraživanja koncentracije olova i njegovih odnosa izotopa u listovima četiri listopadne biljne vrste (*A. hippocastanum*, *T. cordata*, *A. platanoides* i *B. pendula*), sakupljenim u urbanoj zoni Beograda, najviše vrednosti odnosa izotopa $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$, kao i najširi opseg ovog odnosa je zabeležen za neoprane i oprane uzorke listova *B. pendula*, a potom listova *A. hippocastanum*. *B. pendula* se može preporučiti kao pogodan indikator za prepoznavanje izvora olova, usled postojanja najšireg opsega vrednosti odnosa izotopa $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$. Odnosi izotopa olova i analiza glavnih komponenti su ukazali na veliki doprinos labilno vezane frakcije nataloženih čestica sadržaju olova u neopranim listovima, i prisustvo više izvora olova u prošlosti, što se ogleda u sadržaju olova u opranim uzorcima listova. Na osnovu svih rezultata u vezi sa izotopskim sastavom olova, može se zaključiti da se biomonitoring izotopa olova korišćenjem listova drveća može primeniti kao koristan metod za određivanje izvora zagađenja olovom u studijama kvaliteta vazduha.

Za dodatnu karakterizaciju olova i njegovih izotopa korišćene su vrećice sa mahovinom *Sphagnum girgensohnii*, postavljene na specifičnim lokacijama u urbanom delu Beograda. Analiza izotopa olova je rađena na dva načina, analizom odnosa izotopa, i primenom SOM-a,

kao tehnike za klustersku analizu. U poređenju sa uobičajenim načinom procene koncentracije i sastava izotopa, SOM analiza je pokazala veću preciznost u razlikovanju i analizi rezultata biomonitoringa. U SOM analizi, odvojeni klasteri su formirani na osnovu prostornih i vremenskih sličnosti u obogaćenju olovom u vrećicama mahovina. Rezultati eksperimenta u tunelu su pokazali da vreme izlaganja od 10 nedelja predstavlja pogodniji period za određivanje koncentracije i izotopskog sastava olova prilikom korišćenja tehnike kesica sa mahovinama. U slučaju delimičnog preklapanja sastava izotopa olova iz mogućih izvora i/ili kada različiti izvori emisije imaju isti izotopski „potpis”, odnosi i opsezi izotopa olova ne mogu uvek da omoguće kompletno razumevanje raspodele olova. Stoga, SOM sa udelima izotopa i koncentracijom olova kao ulaznim vrednostima se može primeniti kao efikasan instrument za prostornu i vremensku identifikaciju i diferencijaciju zagađenja olovom u biomonitoring istraživanjima.

Uticaj različite pripreme uzoraka pre analize na izotopski sastav olova je analiziran i primenom SOM-a na uzorke listova vrsta *A. hippocastanum*, *T. cordata*, *B. pendula* i *A. platanoides* sakupljene jula 2009. godine. SOM analiza izotopskog sastava Pb u uzorcima listova sakupljenim 2009. godine je pokazala slične rezultate kao i klasični način prikazivanja izotopa olova, korišćenjem odnosa izotopa. Neoprani uzorci svih ispitivanih biljnih vrsta su grupisani uglavnom zajedno, s obzirom da slabo vezana deponovana frakcija na listovima predstavlja zagađenje tokom skorašnjeg perioda. S druge strane, oprani uzorci predstavljaju reprezentativniju sliku sadržaja elemenata u tragovima u listovima, ali sa većom varijabilnošću. Stoga se pranje uzoraka vodom može preporučiti ako je cilj istraživanja određivanje sadržaja olova tokom dužeg perioda vremena, dok neoprani uzorci daju uvid u sadržaj olova u određenom momentu. Može se zaključiti da su listovi listopadnog drveća osetljivi na promene u sadržaju olova izazvane pranjem uzoraka i mogu se koristiti za biomonitoring sadržaja i izotopa olova tokom kraćeg i/ili dužeg perioda.

Na osnovu dobijenih rezultata u okviru ove doktorske disertacije mogu se izvući sledeći najbitniji zaključci:

- Priprema uzoraka, tj. ispiranje uzoraka vodom i/ili hloroformom utiče na smanjenje koncentracije elemenata u tragovima u uzorcima listova. Najveći stepen ispiranja je

bio za Al, V, Cr, Cu, Zn, As, Cd, Sb i Pb, a najveći stepen zadržavanja elemenata je uočen za vrste *Tilia* spp. (Al, V, Cr, Cu, Zn, As, Cd i Sb) i *B. pendula* (Pb). Aluminijum je u najvećoj meri bio prisutan u voštanom sloju, dok je Cu bio prisutan na površini listova.

- SOM, SON i PROMETHEE-GAIA analize se mogu primeniti za procenjivanje ukupnog sadržaja elemenata u tragovima u uzorcima listova, određivanje sezonskih akumulacija i godišnjih trendova koncentracija elemenata, razlika u akumulaciji elemenata između različitih biljnih vrsta, mapiranje lokaliteta sa različitim nivoom zagađenja i rangiranje uzoraka listova na osnovu ukupnog sadržaja elemenata u tragovima u njima.
- Tokom ispitivanog perioda, vrednosti koncentracija elemenata u tragovima u PM10 su bile ispod propisanih graničnih vrednosti prema pravilnicima Republike Srbije i Evropske unije. Koncentracija Pb je imala opadajući trend tokom perioda istraživanja (2002.-2014. godina) usled smanjenja upotrebe olovnog benzina a potom i njegovog izbacivanja iz upotrebe 2011. godine. Analize ukazuju da je sagorevanje fosilnih goriva, pre svega goriva za vozila, bio jedan od glavnih izvora ispitivanih elemenata tragovima u Beogradu.
- Povećanje vrednosti odnosa izotopa Pb u uzorcima listova tokom posmatranog perioda je uslovljeno smanjenjem upotrebe olovnog benzina kao i promenom olovnih aditiva dodavanih u benzin korišćen u tom periodu.
- Različita priprema uzoraka listova pre analize utiče na izotopski sastav Pb u uzorcima, pri čemu su neoprani uzorci pogodniji za ispitivanje kratkotrajne izloženosti zagađenju olovom, dok uzorci oprani vodom daju bolji uvid u dugotrajniju izloženost zagađenju olovom.
- SOM analiza predstavlja pogodan instrument za prostornu i vremensku identifikaciju i diferencijaciju zagađenja olovom u biomonitoring istraživanjima i pokazala se kao efikasnija tehnika od klasičnog pristupa analize zagađenja i izvora emisije olova, korišćenjem odnosa izotopa Pb.

- Na osnovu rezultata analize elemenata u tragovima i izotopa olova u listovima, ustanovljeno je da vrsta *A. hippocastanum* predstavlja pogodniji biomonitor od ostalih ispitivanih vrsta jer su dobijeni dosledniji rezultati u analizama deponovanih frakcija, hemometrijskim analizama i prilikom poređenja rezultata sa referentnim monitoringom.

6. Literatura

Aboal, J. R., Fernández, J. A., Carballeira, A., 2004. Oak leaves and pine needles as biomonitors of airborne trace elements pollution. *Environmental and Experimental Botany* 51, 215–225.

Adamo, P., Giordano, S., Sforza, A., Bargagli, R., 2011. Implementation of airborne trace element monitoring with devitalised transplants of *Hypnum cupressiforme* Hedw.: assessment of temporal trends and element contribution by vehicular traffic in Naples city. *Environmental Pollution* 159, 1620–1628.

Adamo, P., Giordano, S., Vingiani, S., Castaldo Cobianchi, R., Violante, P., 2003. Trace element accumulation by moss and lichen exposed in bags in the city of Naples (Italy). *Environmental Pollution* 122, 91–103.

Agencija za zaštitu životne sredine, 2011. Ekološki bilten, Beograd, Srbija.

Agilent Technologies, 2006. Agilent 7500 Series ICP-MS Tuning and Application Handbook.

Aitchison, J., 1986. *The Statistical Analysis of Compositional Data*. Chapman & Hall, London.

Aitchison, J., Barceló-Vidal, C., Martín-Fernández, J., Pawlowsky-Glahn, V., 2000. Logratio analysis and compositional distance. *Mathematical Geology* 32, 271–275.

Alagić, S. Č., Šerbula, S. S., Tošić, S. B., Pavlović, A. N., Petrović, J. V., 2013. Bioaccumulation of Arsenic and Cadmium in Birch and Lime from the Bor Region. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 65, 671–682.

Alcamo, J., 1992. Transboundary air pollution in Central Europe and Eastern Europe. In: Alcamo, J. (ed.) *Coping with crisis in Eastern Europe's environment*. IIASA Book, Parthenon Publishing Group, Carnforth.

Al-Khashman, O. A., Al-Muhtaseb, A. H., Ibrahim, K. A., 2011. Date palm (*Phoenix dactylifera* L.) leaves as biomonitors of atmospheric metal pollution in arid and semi-arid environments. *Environmental Pollution* 159, 1635–1640.

An H. K., Park B. Y., Kim D. S., 2001. Crab shell for the removal of heavy metals from aqueous solution. *Water Research* 35, 3551–3556.

Aničić, M., Spasić, T., Tomašević, M., Rajšić, S., Tasić, M., 2011. Trace elements accumulation and temporal trends in leaves of urban deciduous trees (*Aesculus hippocastanum* and *Tilia* spp.). *Ecological Indicators* 11, 824–830.

Aničić, M., Tasić, M., Frontasyeva, M. V., Tomašević, M., Rajšić, S., Mijić, Z., Popović, A., 2009b. Active moss biomonitoring of trace elements with *Sphagnum girgensohnii* moss bags in relation to atmospheric bulk deposition in Belgrade, Serbia. *Environmental Pollution* 157, 673–679.

Aničić, M., Tasić, M., Frontasyeva, M. V., Tomašević, M., Rajšić, S., Strelkova, L. P., Popović, A., 2009a. Active biomonitoring with wet and dry moss: a case study in an urban area. *Environmental Chemistry Letters* 7, 55–60.

Aničić, M., Tomašević, M., Tasić, M., Rajšić, S., Popović, A., Frontasyeva, M. V., Lierhagen, S., Steinnes, E., 2009c. Monitoring of trace element atmospheric deposition using dry and wet moss bags: accumulation capacity versus exposure time. *Journal of Hazardous Materials* 171, 182–188.

Ares, A., Aboal, J. R., Carballeira, A., Giordano, S., Adamo, P., Fernández, J. A., 2012. Moss bag biomonitoring: a methodological review. *Science of the Total Environment* 432, 143–158.

Artelt, S., Kock, H., Konig, H. P., Levsen, K., Rosner, G., 1999. Engine dynamometer experiments: platinum emissions from differently aged three-way catalytic converters. *Atmospheric Environment* 33, 3559–3567.

Ault, W. U., Senechal, R. G., Erlebach, W. E., 1970. Isotopic composition as a natural tracer of lead in the environment. *Environmental Science and Technology* 4, 305–313.

Avila, A., Rodrigo, A., 2004. Trace metal fluxes in bulk deposition, throughfall and stemflow at two evergreen oak stands in NE Spain subject to different exposure to the industrial environment. *Atmospheric Environment* 38, 171–180.

Azimi, S., Rocher, V., Muller, M., Moilleron, R., Thevenot, S., 2005. Sources, distribution and variability of hydrocarbons and metals in atmospheric deposition in an urban area (Paris, France). *Science of the Total Environment* 337, 223–239.

Ball, D., Hamilton, R., Harrison, R., 1991. The influence of highway-related pollutants on environmental quality. In: Hamilton, R., Harrison, R. (Eds.), *Highway Pollution*. Elsevier Science, New York, pp. 1–47.

Baltrėnaitė, E., Lietuvninkas, A., Baltrėnas, P., 2012. Use of Dynamic Factors to Assess Metal Uptake and Transfer in Plants—Example of Trees. *Water, Air and Soil Pollution* 223, 4297-4306.

Barandovski, L., Frontasyeva, M. V., Stafilov, T., Šajin, R., Ostrovnaya, T. M., 2015. Multi-element atmospheric deposition in Macedonia studied by the moss biomonitoring technique. *Environmental Science and Pollution Research* 22, 16077-16097.

Barefoot, R. R., 1997. Determination of platinum at trace levels in environmental and biological material. *Environmental Science and Technology*, 31, 309–314.

Bargagli, R., 1998. Trace elements in terrestrial plants: an ecophysiological approach to biomonitoring and biorecovery. Springer, Heidelberg.

Barron-Adame, J. M., Herrera Delgado, J. A., Cortina-Januchs, M. G., Andina, D., Vega-Corona, A., 2007. Air Pollutant Level Estimation Applying a Self-organizing Neural Network, in: *Nature Inspired Problem-Solving Methods in Knowledge Engineering Lecture, Second International Work-Conference on the Interplay Between Natural and Artificial Computation, IWINAC 2007, Part II, LNCS 4528*, Jose Mira and Jose R. Alvarez (eds.), Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, pp. 599-607.

Baycu, G., Tolunay, D., Ozden, H., Sureyya, G., 2006. Ecophysiological and seasonal variations in Cd, Pb, Zn and Ni concentrations in the leaves of urban deciduous trees in Istanbul. *Environmental Pollution* 143, 545–554.

Beckett, K. P., Freer-Smith, P. H., Taylor, G., 1998. Urban woodlands: their role in reducing the effects of particulate pollution. *Environmental Pollution* 99, 347–360.

Behzadian, M., Kazemzadeh, R.B., Albadvi, A., Aghdasi, M., 2010. PROMETHEE: A comprehensive literature review on methodologies and applications, *European Journal of Operational Research* 200, 198-215.

Berg, T., Steinnes, E., 1997. Use of mosses (*Hylocomium splendens* and *Pleurozium schrebery*) as biomonitors of heavy metal deposition: from relative to absolute deposition values. *Environmental Pollution* 98, 61–71.

Berlizov, A. N., Blum, O. B., Filby, R. H., Malyuk, I. A., Tryshyn, V. V., 2007. Testing applicability of black poplar (*Populus nigra* L.) bark to heavy metal air pollution monitoring in urban and industrial regions. *Science of the Total Environment* 372, 693–706.

Bi, X., Feng, X., Yang, Y., Li, X., Shin, G. P. Y., Li, F., Qiu, G., Li, G., Liu, T., Fu, Z., 2009. Allocation and source attribution of lead and cadmium in maize (*Zea mays* L.) impacted by smelting emissions. *Environmental Pollution* 157, 834–839.

Bilos, C., Colombo, J. C., Skorupka, C. N., Rodriguez Presa, M. J., 2000. Sources, distribution and variability of airborne trace metals in La Plata City area, Argentina. *Environmental Pollution* 111, 149–158.

Birmili, W., Allen, A. G., Bary, F., Harrison, R. M., 2006. Trace metal concentrations and water solubility in size-fractionated atmospheric particles and influence of road traffic. *Environmental Science and Technology* 40, 1144–1153.

Blum, W. E. H., Horak, O., Mentler, A., Purshenreiter, M., 2009. Environmental and ecological chemistry, , In: *Encyclopedia of Life Support Systems*, vol II, Trace elements, Sabljic, A. (ed), EOLSS, p. 452.

Bollhöfer, A., Rosman, K. J. R., 2000. Isotopic source signatures for atmospheric lead: the Southern Hemisphere. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 64, 3251–3262.

Bollhöfer, A., Rosman, K. J. R., 2001. Isotopic source signatures for atmospheric lead: the Northern Hemisphere. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 65, 1727–1740.

Bowen, H. J. M., 1979. *Environmental Chemistry of the Elements*, Academic Press, New York, p. 333.

Brans, J. P., 1982. L'ingenierie de la decision. Elaboration dinstruments daide a la decision. Methode PROMETHEE. In: Nadeau, R., Landry, M. (Eds.), *Laide a la Decision: Nature, Instrument s et Perspectives Davenir*. Presses de Universite Laval, Québec, Canada, pp. 183–214.

Brunekreef, B., Holgate, S. T., 2002. Air pollution and health. *Lancet* 360, 1233–1242.

Cairns, J., 1979. Biological monitoring – concept and scope. In: Cairns, J., Patil, G.P., Waters, W.E. (Eds), *Environmental Biomonitoring, Assessment, Prediction and Management*. International Cooperative Publishing House, Maryland, pp. 3–20.

Canha, N., Freitas, M.C., Anawar, H.M., Dionísio, I., Dung, H.M., Pinto-Gomes, C., Bettencourt, A., 2010. Characterization and phytoremediation of abandoned contaminated mining area in Portugal by INAA, *Journal of Radioanalztical and Nuclear Chemistry* 286, 577-582.

Carnevale, C., Finzi, G., Guariso, G., Pisoni, E., Volta, M., 2012. Surrogate models to compute optimal air quality planning policies at a regional scale. *Environmental Modelling and Software* 34, 44–50.

Catinon, M., Ayrault, S., Boudouma, O., Bordier, L., Agnello, G., Reynaud, S., Tissut, M., 2013. Are coarse particles unexpected common reservoirs for some atmospheric anthropogenic trace elements? A case study. *Atmospheric Environment* 74, 217–226.

Catinon, M., Ayrault, S., Clocchiatti, R., Boudouma, O., Asta, J., Tissut, M., Ravanel, P., 2009. The anthropogenic atmospheric elements fraction: A new interpretation of elemental deposits on tree barks. *Atmospheric Environment* 43, 1124–1130.

Chenery, S. R., Izquierdo, M., Marzouk, E., Klinck, B., Palumbo-Roe, B., Tye, A. M., 2012. Soil-plant interactions and the uptake of Pb at abandoned mining sites in the Rookhope catchment of the N. Pennines, UK – A Pb isotope study. *Science of the Total Environment* 433, 547–560.

Cheng, H., Hu, Y., 2010. Lead (Pb) isotopic fingerprinting and its applications in lead pollution studies, a review. *Environmental Pollution* 158, 1134–1146.

Chillrud, S. N., Hemming, S., Shuster, E. L., Simpson, H. J., Bopp, R. F., Ross, J. M., Pederson, D. C., Chaky, D. A., Tolley, L. R., Estabrooks, F., 2003. Stable lead isotopes, contaminant metals and radionuclides in upper Hudson River sediment cores: implications for improved time stratigraphy and transport processes. *Chemical Geology* 199, 53–70.

Chow, T. J. , Snyder, C. B., Earl, J. L., 1975. Isotope ratios as pollutant source and behaviour indicators. In: *Proceedings of a symposium on Isotope ratios as pollutant source and behaviour indicators*. Proceedings series, international atomic energy agency, Vienna, 18–22 November 1974, pp 95–108.

Chwil, S., Kozłowska-Strawska, J., Tkaczyk, P., Chwil, P., Matraszek, R., 2015. Assessment of air pollutants in an urban agglomeration in Poland made by the biomonitoring of trees. *Journal of Elementology* 20 (4), 813–826.

Cinti, D., Angelone, M., Masi, U., Cremisini, C., 2002. Platinum levels in natural and urban soils from Rome and Latium (Italy): significance for pollution by automobile catalytic converter. *Science of the Total Environment* 293, 47–57.

Cong, Z., Kang, S., Zhang, Y., Li, X., 2010. Atmospheric wet deposition of trace elements to central Tibetan Plateau. *Applied Geochemistry* 25, 1415–1421.

Conkova, M., Kubiznakova, J., 2008. Lead isotope ratios in tree bark pockets: an indicator of past air pollution in the Czech Republic. *Science of the Total Environment* 404, 440–445.

Conti, M. E., Alimonti, A., Bocca, B., 2008. Environmental exposure to platinum group elements released by automotive catalytic converters: the risk for children, *International Journal of Environment and Health* Vol. 2, Nos. 3/4, 439-462.

Culicov, O. A., Mocanu, R., Frontasyeva, M. V., Yurukova, L., Steinnes, E., 2005. Active moss biomonitoring applied to an industrial site in Romania: relative accumulation of 36 elements in moss-bags. *Environmental Monitoring and Assessment* 108, 229–240.

Culicov, O. A., Yurukova, L., 2006. Comparison of element accumulation of different moss- and lichen-bags, exposed in the city of Sofia (Bulgaria). *Journal of Atmospheric Chemistry* 55, 1-12.

De Nicola, F., Maisto, G., Prati, M. V., Alfani, A., 2008. Leaf accumulation of trace elements and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in *Quercus ilex* L. *Environmental Pollution* 153, 376–383.

Del Rio-Salas, R., Ruiz, J., O-Villanueva, M. de la, Valencia-Moreno, M., Moreno-Rodriguez, V., Gómez-Alvarez, A., Grijalva, T., Mendivil, H., Paz-Moreno, F., Meza-Figueroa, D., 2012. Tracing geogenic and anthropogenic sources in urban dust: Insights from lead isotopes. *Atmospheric Environment* 60, 202-210.

Deljanin I., Antanasijević D., Aničić Urošević M., Tomašević M., Perić-Grujić A., Ristić M. Determination of platinum concentration in deciduous tree leaves, Book of Abstracts of the 6th Symposium Chemistry and Environmental Protection EnviroChem 2013, Vršac, Serbia, May 21th-24th 2013, pp. 234-235.

Deljanin, I., Antanasijević, D., Aničić Urošević, M., Tomašević, M., Perić-Grujić, A., Ristić, M., 2015a. The novel approach to the biomonitor survey using one- and two-dimensional Kohonen networks. *Environmental Monitoring and Assessment* 187, 618, 1-11.

Deljanin I., Antanasijević D., Aničić Urošević M., Tomašević M., Sekulić Z., Perić-Grujić A., Ristić M., 2015b. Selected trace element concentrations in ambient air and in horse chestnut leaves in Belgrade. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly* 21, 1-2, 169-178.

Deljanin I., Antanasijević D., Bjelajac A., Aničić Urošević M., Nikolić M., Perić-Grujić A., Ristić M., 2016. Chemometrics in biomonitoring: distribution and correlation of trace elements in tree leaves. *Science of the Total Environment* 545, 361-371.

Deljanin, I., Antanasijević, D., Vuković, G., Aničić Urošević, M., Tomašević, M., Perić-Grujić, A., Ristić, M., 2015c. Lead spatio-temporal pattern identification in urban microenvironments using moss bags and the Kohonen self-organizing maps. *Atmospheric Environment* 117, 180–186.

Deljanin, I. V., Tomašević, M. N., Aničić Urošević, M. P., Antanasijević, D. Z., Perić-Grujić, A. A., Ristić, M. Đ., 2014. Lead isotopic composition in tree leaves as tracers of lead in an urban environment. *Ecological Indicators* 45, 640–647.

Denier van der Gon, H., Appelman, W., 2009. Lead emissions from road transport in Europe. *Science of the Total Environment* 407, 5367–5372.

Djingova, R., Heidenreich, H., Kovacheva, P., Markert, B., 2003. On the determination of platinum group elements in environmental materials by inductively coupled plasma mass spectrometry and microwave digestion. *Analytica Chimica Acta* 489, 245–251.

Djingova, R., Kovacheva, P., Wagner, G., Markert, B., 2003. Distribution of platinum group elements and other traffic related elements among different plants along some highways in Germany. *Science of the Total Environment* 308, 235 –246.

Djingova, R., Kuleff, I., 1994. On the sampling of vascular plants for monitoring of heavy metal pollution. In: Markert, B. (Ed.), *Environmental Sampling for Trace Analysis*. VCH, Weinheim, pp. 395–414.

Dmuchowski, W., Bytnerowicz, A., 2009. Long-term (1992–2004) record of lead, cadmium, and zinc air contamination in Warsaw, Poland: Determination by chemical analysis of moss bags and leaves of Crimean linden. *Environmental Pollution* 157, 3413–3421.

Dmuchowski, W., Gozdowski, D., Baczewska, A. H., 2011. Comparison of four bioindication methods for assessing the degree of environmental lead and cadmium pollution. *Journal of Hazardous Materials* 197, 109–118.

Dolgopolova, A., Weiss, D. J., Seltmann, R., Kober, B., Mason, T. F. D., Coles, B., Stanley, C. J., 2006. Use of isotope ratios to assess sources of Pb and Zn dispersed in the environment during mining and ore processing within the Orlovka–Spokoinoe mining site (Russia). *Applied Geochemistry* 21, 563–579.

Dollard, G. J., 1986. Glasshouse experiments on the uptake of foliar applied lead. *Environmental Pollution. Series A, Ecological and Biological* 40, 109–119.

Dongarrà, G., Manno, E., Varrica, D., 2009. Possible markers of traffic-related emissions. *Environmental Monitoring and Assessment* 154, 117-125.

Dongarra, G., Varrica, D., Sabatino, G., 2003. Occurrence of platinum, palladium and gold in pine needles of *Pinus pinea* L. from the city of Palermo (Italy). *Applied Geochemistry* 18, 109–116.

Doucet, F., Carignan, J., 2001. Atmospheric Pb isotopic composition and trace metal concentration as revealed by epiphytic lichens: an investigation related to two altitudinal sections in eastern France. *Atmospheric Environment* 35, 3681–3690.

Duffus, J. H., 2002. “Heavy metals” – a meaningless term? (IUPAC technical report). *Pure and Applied Chemistry* 74, 793–807.

Duvigneaud, R., Denaeyer-de Smet, S., 1970. Biological cycling of minerals in temperate deciduous forests. In: Reichle D. E. (ed.) *Analysis of temperate forest ecosystems*. *Ecological Studies* 1, Springer, Berlin Heidelberg New York, pp. 199-225.

Duzgoren-Aydin, N. S., Weiss, A. L., 2008. Use and abuse of Pb-isotope fingerprinting technique and GIS mapping data to assess lead in environmental studies. *Environmental Geochemistry and Health* 30, 577–588.

Dzierżanowski, K., Gawroński, S.W., 2011. Use of trees for reducing particulate matter pollution in air. *Challenges of Modern Technology* 2, 69-73.

Dzierżanowski, K., Popek, R., Gawrońska, H., Sæbø, A., Gawroński, S.W., 2011. Deposition of particulate matter of different size fractions on leaf surfaces and in waxes of urban forest species. *International Journal of Phytoremediation* 13, 1037–1046.

Đorđević Miloš, *Geohemijska analiza tragova metalaribljegline sa lokaliteta Kirkevig (Stevns Klint, Danska)*, doktorska disertacija, Univerzitet u Nišu, 2012.

EEA, 2011. European Environment Agency, *Air quality in Europe – 2011 report*. Publications Office of the European Union, Luxembourg.

EEA, 2014. European Environment Agency, *Transport emissions of air pollutants*, Copenhagen.

Ely, J. C., Neal, C. R., Kulpa, C. F., Schneegurt, M. A., Seidler, J. A., Jain, J. C., 2001. Implications of Platinum-Group Element Accumulation along U.S. Roads from Catalytic-Converter Attrition. *Environmental Science and Technology* 35, 3816-3822.

EN 12341, 1998. Air quality - Determination of the PM10 fraction of suspended particulate matter – Reference method and field test procedure to demonstrate reference equivalence of measurement methods.

EPA, 1999. Compendium Method IO-3.5 – Determination of metals in ambient particulate matter using inductively coupled plasma/mass spectrometry (ICP/MS).

Erel, Y., Dubowski, Y., Halicz, L., Erez, J., Kaufman, A., 2001. Lead concentrations and isotopic ratios in the sediments of the sea of Galilee. *Environmental Science and Technology* 35, 292–299.

Erel, Y., Veron, A., Halicz, L., 1997. Tracing the transport of anthropogenic lead in the atmosphere and in soils using isotopic ratios. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 61, 4495–4505.

Ernst, W. H. O., 2003 The use of higher plants as bioindicators. In: Markert, B.A., Breure, A.M., Zechmeister, H.G. (Eds.), *Bioindicators and Biomonitors*. Elsevier, Oxford, pp. 423–463.

European Commission, 1996. Directive 96/62/EC of the European Parliament and of the Council of 27 September 1996 on ambient air quality assessment and management (OJ L 296, 21.11.96).

European Commission, 1997. Directive 97/101/EC Council decision of 27 January 1997 on establishing a reciprocal exchange of information and data from networks and individual stations measuring ambient air pollution within the Member States (OJ L 35, 5.2.1997).

European Commission, 2000. Directive 2000/69/EC of the European Parliament and of the Council of 16 November 2000 relating to limit values for benzene and carbon monoxide in ambient air (OJ L 313, 13.12.2000).

European Commission, 2002. Directive 2002/3/EC of the European Parliament and of the Council of 12 February 2002 relating to ozone in ambient air (OJ L 67, 9.3.2002).

European Commission, 2004. Directive 2004/107/EC of the European Parliament and of the Council of 15 December 2004, relating to arsenic, cadmium, mercury, nickel and polycyclic aromatic hydrocarbons in ambient air (OJ L 23, 26.1.2005).

European Commission, 2008. Directive 2008/50/EC of the European Parliament and of the Council of 21 May 2008 on ambient air quality and cleaner air for Europe. (Off J L152, 21.5.12008).

European Commission, 2009. Directive 2009/30/EC of the European Parliament and of the Council of 23 April 2009 amending Directive 98/70/EC as regards the specification of petrol, diesel and gas-oil and introducing a mechanism to monitor and reduce greenhouse gas emissions and amending Council Directive 1999/32/EC as regards the specification of fuel used by inland waterway vessels and repealing Directive 93/12/EEC (OJ L 140/88, 5.6.2009).

European Economic Community, 1990. Council Regulation (EEC) No 1210/90 of 7 May 1990 on the establishment of the European Environment Agency and the European Environment Information and Observation Network.

Evangelou, M. W. H., Deram, A., Gogos, A., Studer, B., Schulin, R., 2012. Assessment of suitability of tree species for the production of biomass on trace element contaminated soils. *Journal of Hazardous Materials* 209-210, 233-239.

Ewing, S. A., Christensen, J. N., Vancuren, R. A., Cliff, S. S., Depaolo, D. J., 2010. Pb isotopes as an indicator of the Asian contribution to particulate air pollution in Urban California. *Environmental Science and Technology* 44, 8911–8916.

Facchetti, S., 1989. Lead in petrol, the isotopic lead experiment. *Accounts of Chemical Research* 22, 370–374.

Farmer, J. G., Eades, L. J., Atkins, H., Chamnerland, D. F., 2002. Historical trends in the lead isotopic composition of archival *Sphagnum* mosses from Scotland (1838–2000). *Environmental Science and Technology* 36, 152–157.

Farmer, J. G., Eades, L. J., Graham, M. C., Bacon, J. R., 2000. The changing nature of the 206Pb/207Pb isotopic ratio of lead in rainwater, atmospheric particulates, pine needles and leaded petrol in Scotland, 1982-1998. *Journal of Environmental Monitoring* 2, 49–57.

Faure, G., 1997. Principles and applications of geochemistry: a comprehensive textbook for geology students. Prentice-Hall Inc., Upper Saddle River.

Fernandez-Espinosa, A. J., Ternero-Rodriguez, M., 2004. Study of traffic pollution by metals in Seville (Spain) by physical and chemical speciation methods. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 379, 684-699.

Filzmoser, P., Hron, K., Reimann, C., 2009a. Univariate statistical analysis of environmental (compositional) data: Problems and possibilities. *Science of the Total Environment* 407, 6100-6108.

Filzmoser, P., Hron, K., Reimann, C., 2010. The bivariate statistical analysis of environmental (compositional) data. *Science of the Total Environment* 408, 4230-4238.

Filzmoser, P., Hron, K., Reimann, C., 2012. Interpretation of multivariate outliers for compositional data. *Computers and Geoscience* 39, 77-85.

Filzmoser, P., Hron, K., Reimann, C., Garrett, R., 2009b. Robust factor analysis for compositional data. *Computers and Geosciences* 35, 1854-1861.

Flegal, A. R., Gallon, C., Hibdon, S., Kuspa, Z. E., Laporte, L. F., 2010. Declining – but persistent – atmospheric contamination in Central California from the resuspension of historic leaded gasoline emissions as recorded in the Lace Lichen (*Ramalina menziesii* Taylor) from 1892 to 2006. *Environmental Science and Technology* 44, 5613–5618.

Flórez Revuelta, F., García Chamizo, J.M., García Rodríguez, J., Hernández Sáez, A., 2004. Geodesic Topographic Product: An Improvement to Measure Topology Preservation of Self-Organizing Neural Networks, *Advances in Artificial Intelligence – IBERAMIA 2004 Lecture Notes in Computer Science*, Volume 3315, pp 841-850.

Foy, C. D., Chaney, R. L., White, M. C., 1978. The physiology of metal toxicity in plants, *Annual Review of Physiology* 29, 511-566.

Fränzle, O., 2003. Bioindicators and environmental stress assessment. In: Markert, B. A., Breure, A. M., Zechmeister, H. G. (eds.). *Bioindicators & Biomonitors*. Elsevier, Oxford, pp. 41-84.

Freer-Smith, P. H., Beckett, K. P., Taylor, G., 2005. Deposition velocities to *Sorbus aria*, *Acer campestre*, *Populus deltoides* × *trichocarpa* ‘Beaupré’, *Pinus nigra* and *Cupressocyparis leylandii* for coarse, fine and ultra-fine particles in the urban environment. *Environmental Pollution* 133, 157–167.

Fuller, G. W., Green, D., 2006. Evidence for increasing concentrations of primary PM10 in London. *Atmospheric Environment* 40, 6134–6145.

Fumagalli, A., Faggion, B., Ronchini, M., Terzaghi, G., Lanfranchi, M., Chirico, N., Cherchi, L., 2010. Platinum, palladium, and rhodium deposition to the *Prunus laurus cerasus* leaf surface as an indicator of the vehicular traffic pollution in the city of Varese area. *Environmental Science and Pollution Research* 17, 665-673.

Gaga, E. O., Döğeroğlu, T., Özden, Ö., Ari, A., Yay, O. D., Altuğ, H., Akyol, N., Örnektekin, S., Van Doorn, W., 2012. Evaluation of air quality by passive and active sampling in an urban

city in Turkey: current status and spatial analysis of air pollution exposure. *Environmental Science and Pollution Research* 19, 3579–3596.

Gandois, L., Probst, A., 2012. Localisation and mobility of trace metal in silver fir needles. *Chemosphere* 87, 204-210.

Gietl, J. K., Lawrence, R., Thorpe, A. J., Harrison, R. M., 2010. Identification of brake wear particles and derivation of the quantitative tracer for brake dust at a major road. *Atmospheric Environment* 44, 141-146.

Giordano, S., Adamo, P., Monaci, F., Pittao, E., Tretiach, M., Bargagli, R., 2009. Bags with oven-dried moss for the active monitoring of airborne trace elements in urban areas. *Environmental Pollution* 157, 2798–2805.

Golomb, D., Ryan, D., Eby, N., Underhill, J., Zemba, S., 1997. Atmospheric deposition of toxics onto Massachusetts Bay – I. Metals. *Atmospheric Environment* 31, 1349–1359.

Gomez, B., Palacios, M. A., Gomez, M., Sanchez, J. L., Morrison, G., Rauch, S., McLeod, C., Ma, R., Caroli, S., Alimonti, A., Petrucci, F., Bocca, B., Schramel, P., Zischka, M., Petterson, C., Wass, U., 2002. Levels and risk assessment for humans and ecosystems of platinum-group elements in the airborne particles and road dust of some European cities. *Science of the Total Environment* 299, 1–19.

González, A. G., Pokrovsky, O. S., 2014. Metal adsorption on mosses: Toward a universal adsorption model. *Journal of Colloid and Interface Science* 415, 169-178.

Goodman, T. G., Roberts, T. M., 1971. Plants and soils as indicators of metals in the air. *Nature* 231, 287–292.

Goodman, T. G., Smith, S., Parry, R. D., Inskip, J. M., 1974. The use of moss bag as deposition gauges for airborne metals. *National Society for Clean Air Annual Conference*, 41, 1–11.

Gradski zavod za javno zdravlje, 2010. Izveštaj o sistematskim merenjima imisije zagađujućih materija u vazduh na teritoriji Beograda u 2009. godini.

Grantz, D. A., Garner, J. H. B., Johnson, D. W., 2003. Ecological effects of particulate matter. *Environmental International* 29, 213-239.

Gratani, L., Crescente, M. F., Varone, L., 2008. Long-term monitoring of metal pollution by urban trees. *Atmospheric Environment* 42, 8273-8277.

Gulson, B., Korsch, M., Dickson, B., Cohen, D., Mizon, K., Davis, J. M. 2007. Comparison of lead isotopes with source apportionment models, including SOM, for air particulates. *Science of the Total Environment* 381, 169-179.

Gunn, S. W. A., 1990. Multilingual dictionary of disaster medicine and international relief. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.

Guzmán-Morales, J., Morton-Bermea, O., Hernández-Álvarez, E., Rodríguez-Salazar M. T., García-Arreola, M. E., Tapia-Cruz, V., 2011. Assessment of Atmospheric Metal Pollution in the Urban Area of Mexico City, Using *Ficus benjamina* as Biomonitor. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 86, 495–500

Gwiazda, R., Woolard, D., Smith, D., 1998. Improved lead isotope ratio measurements in environmental and biological samples with a double focusing magnetic sector inductively coupled plasma mass spectrometer (ICP-MS). *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 13, 1233–1238.

Hann, S., Helmers, E., Köllensperger, G., Hoppstock, K., Parry, S., Rauch, S., Rossbach, M., (eds.), 2005., *Nuclear Analytical Methods for Platinum Group Elements*; IAEA-TEC -DOC - 1443, Wien.

Harmens, H., Norris, A. D., Koerber, R. G., Buse, A., Steinnes, E., Ruhling, A., 2008. Temporal trends (1990–2000) in the concentration of cadmium, lead and mercury in mosses across Europe. *Environmental Pollution* 151, 368–376.

Harrison, R. M., Chirgawi, M. B., 1989. The assessment of air and soil as contributors of some trace metals to vegetable plants. I. Use of a filtered air growth cabinet. *Science of the Total Environment* 83, 13–34.

Harrison, R. M., Jones, A. M., Gietl, J., Yin, J., Green, D. C., 2012. Estimation of the contributions of brake dust, tire wear, and resuspension to nonexhaust traffic particles derived from atmospheric measurements. *Environmental Science and Technology* 46, 6523-6529.

Harrison, R. M., Yin, J., 2000. Particulate matter in the atmosphere: which particle properties are important for its effects on health? *Science of the Total Environment* 249, 85–101.

Helmers, E., Mergel, N., 1998. Platinum and rhodium in a polluted environment: studying the emissions of automobile catalysts with emphasis on the application of CSV rhodium analysis. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* 362, 522– 528.

Herngren, L., Goonetilleke, A., Ayoko, G. A., 2006. Analysis of heavy metals in road-deposited sediments. *Analytica Chimica Acta* 571, 270-278.

Herva, M., Roca, E. 2013. Ranking municipal solid waste treatment alternatives based on ecological footprint and multi-criteria analysis. *Ecological Indicators* 25, 77-84.

Heumann, K. G., Gallus, S. M., Radlinger, G., Vogl, J., 1998. Precision and accuracy in isotope ratio measurements by plasma source mass spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 13, 1001–1008.

Hjortenkrans, D., Bergbäck, B., Häggerud, A., 2006. New metal emission patterns in road traffic environments. *Environmental Monitoring and Assessment* 117, 85-98.

Hooda, P. S., Miller, A., Edwards, A. C., 2007. The distribution of automobile catalysts-cast platinum, palladium and rhodium in soils adjacent to roads and their uptake by grass. *Science of the Total Environment* 384, 384–392

Hoodaji, M., Ataabadi, M., Payam Najafi, P., 2012. Biomonitoring of airborne heavy metal contamination. In: Mukesh K (ed.) *Air pollution – monitoring, modelling, health and control*. InTech.

Hopper, J. F., Ross, H. B., Sturges, W. T., Barrie, L. A., 1991. Regional source discrimination of atmospheric aerosols in Europe using the isotopic composition of lead. *Tellus B* 43, 45–60.

Hovmand, M. F., Nielsen, S. P., Johnsen, I., 2009. Root uptake of lead by Norway spruce grown on ²¹⁰Pb spiked soils. *Environmental Pollution* 157, 404-409.

Hrdlicka, P., Kula, E., 2004. Changes in the chemical content of birch (*Betula pendula* Roth) leaves in the air polluted Krusne hory mountains. *Trees* 18, 237-244.

Hu, X., Zhang, Y., Ding, Z., Tijian, W., Hongzhen, L., Yuanyuan, S., Wu, J., 2012. Bioaccessibility and health risk of arsenic and heavy metals (Cd, Co, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn and Mn) in TSP and PM_{2.5} in Nanjing, China. *Atmospheric Environment* 57, 146–152.

Hu, X., Zhang, Y., Luo, J., Xie, M., Wang, T., Lian, H., 2011. Accumulation and quantitative estimates of airborne lead for a wild plant (*Aster subulatus*). *Chemosphere* 82, 1351–1357.

Hwang, H. J., Yook, S. J., Ahn, K. H., 2011. Experimental investigation of submicron and ultrafine soot particle removal by tree leaves. *Atmospheric Environment* 45, 6987-6994.

IBM Corp, 2003. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 12. IBM Corp, Armonk, NY, USA.

Järup, L., 2003. Hazards of heavy metal contamination. *British Medical Bulletin* 68 (1), 167–182.

Jiries, A., 2003. Vehicular contamination of dust in Amman, Jordan. *Environmentalist* 23, 205–210.

Kabata-Pendias, A., 2011. Trace elements in soils and plants, fourth edition. Taylor and Francis, Boca Raton.

Kabata-Pendias, A., Mukherjee, A. B., 2007. Trace elements from soil to human. Springer, New York.

Kalteh, A. M., Hjorth, P., Berndtsson, R., 2008. Review of the self-organizing map (SOM) approach in water resources: Analysis, modelling and application. *Environmental Modelling and Software* 23, 835-845.

Kampa, M., Castanas, E., 2008. Human health effects of air pollution. *Environment Pollution* 151, 362-367.

Kardel, F., Wuyts, K., Babanezhad, M., Vitharana, U.W.A., Wuytack, T., Potters, G., Samson, R., 2010. Assessing urban habitat quality based on specific leaf area and stomatal characteristics of *Plantago lanceolata* L. *Environmental Pollution* 158, 788–794.

Kayhanian, M., 2012. Trend and concentrations of legacy lead (Pb) in highway runoff. *Environmental Pollution* 160, 169-177.

Khan, S., Khan, M. A., Rehman, S., 2011. Lead and Cadmium Contamination of Different Roadside Soils and Plants in Peshawar City, Pakistan. *Pedosphere* 21 (3), 351-357.

Kiang, M. Y., 2001. Extending the Kohonen self-organizing map networks for clustering analysis. *Computational Statistics and Data Analysis* 38, 161–180.

Klaminder, J., Bindler, R., Emteryd, O., Renberg, I., 2005. Uptake and recycling of lead by boreal forest plants: quantitative estimates from a site in northern Sweden. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 69, 2485–2496.

Klaminder, J., Bindler, R., Renberg, I., 2008. The biogeochemistry of atmospherically derived Pb in the boreal forest of Sweden. *Applied Geochemistry* 23, 2922–2931.

Kloke, A., Sauerbeck, D., Vetter, H., 1984. The contamination of plants and soils with heavy metals and the transport of metals in terrestrial food chains. In: Nriagu, J.O. (Ed.), *Changing Metal Cycles and Human Health*. Springer, Berlin, pp. 113–141.

Kohonen, T., 1982a. Analysis of a simple self-organizing process. *Biological Cybernetics* 44, 135-140.

Kohonen, T., 1982b. Self-organized formation of topologically correct feature maps. *Biological Cybernetics* 43, 59-69.

Kohonen, T., 2001. *Self-Organizing Maps*. In: Springer Series in Information Sciences, 3rd edition. Springer, Berlin.

Komárek, M., Ettler, V., Chrastný, V., Mihaljevič, M., 2008. Lead isotopes in environmental sciences: a review. *Environmental International* 34, 562–577.

Krivan, V., Schäfer, F., 1989. Surface deposits on spruce needles as a possible indicator for the degree of heavy metal pollution of the atmosphere. *Fresenius Zeitschrift fuer Analytische Chemie* 333, 726.

Krivan, V., Schaldach, G., Hausbeck, R., 1987. Interpretation of element analyses of spruce-needle tissue falsified by atmospheric surface deposition. *Naturwissenschaften* 74, 242–245.

Kunert, M., Friese, K., Weckert, V., Markert, B., 1999. Lead Isotope systematics in *Polytrichum formosum*: an example from a biomonitoring field study with mosses. *Environmental Science and Technology* 33, 3502– 3505.

Kurkjian, R., Dunlap, C., Fleagal, A. R., 2002. Lead isotope tracking of atmospheric response to post-industrial conditions in Yerevan, Armenia. *Atmospheric Environment* 36, 1421-1429.

Kuzu, S. L., Saral, A., Demir, S., Summak, G., Demir, G., 2013. A detailed investigation of ambient aerosol composition and size distribution in an urban atmosphere. *Environmental Science and Pollution Research* 20, 2556–2568.

Kwon, S. B., Jeong, W., Park, D., Kim, K. T., Cho, K.H., 2015. A multivariate study for characterizing particulate matter (PM₁₀, PM_{2.5}, and PM₁) in Seoul metropolitan subway stations, Korea. *Journal of Hazardous Materials* 297, 295-303.

Lahd Geagea, M., Stille, P., Gauthier-Lafaye, F., Perrone, T., Aubert, D., 2008. Baseline determination of the atmospheric Pb, Sr and Nd isotopic compositions in the Rhine valley,

Vosges mountains (France) and the Central Swiss Alps. *Applied Geochemistry* 23, 1703–1714.

Lane, S. D., Martin, E. S., 1977. A histochemical investigation of lead uptake in *Raphanus sativus*. *New Phytologist* 79, 281–286

Lawrence, S., Sokhi, R., Ravindra, K., Mao, H., Prain, H. D., Bull, I. D., 2013. Source apportionment of traffic emissions of particulate matter using tunnel measurements. *Atmospheric Environment* 77, 548–557.

Lee, H. Y., Chon, H. T., Sager, M., Marton, L., 2012. Platinum pollution in road dusts, roadside soils, and tree barks in Seoul, Korea, *Environmental Geochemistry and Health* 34, 5–12.

LeGalley, E., Widom, E., Krekeler, M. P. S., Kuentz, D. C., 2013. Chemical and lead isotope constraints on sources of metal pollution in street sediment and lichens in southwest Ohio. *Applied Geochemistry* 32, 195–203.

Lehndorff, E., Schwark, L., 2010. Biomonitoring of air quality in the Cologne Conurbation using pine needles as a passive sampler – Part III: Major and trace elements. *Atmospheric Environment* 44, 2822–2829.

Lesniewska, B. A., Messerschmidt, J., Jakubowski, N., Hulanicki, A., 2004. Bioaccumulation of platinum group elements and characterization of their species in *Lolium multiflorum* by size-exclusion chromatography coupled with ICP-MS. *Science of the Total Environment* 322, 95–108.

Li, F-L., Liu, C-Q., Yang, Y-G., Bi, X-Y., Liu, Z-Y., Zhao, Z-Q., 2012. Natural and anthropogenic lead in soils and vegetables around Guiyang city, southwest China: a Pb isotopic approach. *Science of the Total Environment* 431, 339–347.

Linnett, P. J., Hughes, E. G., 1999. 20 years of medical surveillance on exposure to allergenic and non-allergenic platinum compounds: the importance of chemical speciation. *Occupational and Environmental Medicine* 56, 191–196.

Luyssaert, S., 2002. Sampling procedure for the foliar analysis of deciduous trees. *Journal of Environmental Monitoring* 4, 858–864.

MacDonald, D. D., Ingersoll, C. G., Berger, T. A., 2000. Development and evaluation of consensus-based sediment quality guidelines for freshwater ecosystems. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 39, 20–31.

Maher, B. A., Ahmed, I. A. M., Davison, B., Karloukovski, V., Clarke, R., 2013. Impact of roadside tree lines on indoor concentrations of traffic-derived particulate matter. *Environmental Science and Technology* 47, 13737-13744.

Marcantonio, F., Zimmerman, A., Xu, Y., Canuel, E., 2002. A Pb isotope record of mid-Atlantic US atmospheric Pb emissions in Chesapeake Bay sediments. *Marine Chemistry* 77, 123–132.

Marguí, E., Iglesias, M., Queralt, I., Hidalgo, M., 2006. Lead isotope ratio measurements by ICP-QMS to identify metal accumulation in vegetation specimens growing in mining environments. *Science of the Total Environment* 367, 988–998.

Marguí, E., Queralt, I., Carvalho, M. L., Hidalgo, M., 2007. Assessment of metal availability to vegetation (*Betula pendula*) in Pb-Zn ore concentrate residues with different features. *Environmental Pollution* 145, 179-184.

Mari, M., Nadal, M., Schuhmacher, M., Domingo, J. L., 2010. Applications of Self-Organizing Maps for PCDD/F Pattern Recognition of Environmental and Biological Samples to Evaluate the Impact of a Hazardous Waste Incinerator. *Environmental Science and Technology* 44, 3162-3168.

Markert, B. A., Breure, A. M., Zechmeister, H. G., 2003. Definitions, strategies and principles for bioindication/biomonitoring of the environment. In: Markert, B., Breure, A. M., Zechmeister, H. G. (eds.). *Bioindicators & Biomonitors*. Elsevier, Oxford, pp. 3-39.

Markert, B., 1992. Establishing of “Reference plant” for inorganic characterization of different plant species by chemical fingerprinting. *Water Air and Soil Pollution* 64, 533-538.

Markert, B., 1993. Instrumental analysis of plants. In: Markert B (ed.) *Plants as biomonitors. Indicators for heavy metals in terrestrial environment*. VCH, Weinheim, pp. 65–103.

Markert, B., 1995. Sampling and sample pretreatment. In: Quevauviller PH (ed.) *Quality assurance in environmental monitoring*. VCH, Weinheim/New York, pp. 215–254.

Markert, B., 2007. Definitions and principles for bioindication and biomonitoring of trace metals in the environment. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 21(S1), 77–82.

Marschner, H., 1995. *Mineral Nutrition of Higher Plants*. 2nd edn. Academic Press, London.

Mathworks, Inc., 2011. Neural Network Toolbox, <http://www.mathworks.com/products/neural-network/index.html>.

McDonald, A. G., Bealey, W. J., Fowler, D., Dragosits, U., Skiba, U., Smith, R.I., Donovan, R. G., Brett, H. E., Hewitt, C. N., Nemitz, E., 2007. Quantifying the effect of urban tree planting on concentrations and depositions of PM₁₀ in two UK conurbations. *Atmospheric Environment* 41 (38), 8455-8467.

Melaku, S., Morris, V., Raghavan, D., Hosten, C., 2008. Seasonal variation of heavy metals in ambient air and precipitation at a single site in Washington, DC. *Environmental Pollution* 155, 88–98.

Mihaljevič, M., Ettler, V., Šebek, O., Sracek, O., Kříbek, B., Kyncl, T., Majer, V., Veselovský, F., 2011. Lead isotopic and metallic pollution record in tree rings from the Copperbelt mining–smelting area, Zambia. *Water Air and Soil Pollution* 216, 657-668.

Milosavljević, N. B., Ristić, M. Đ., Perić-Grujić, A. A., Filipović, J. M., Štrbac, S. B., Rakočević, Z. Lj., Kalagasidis Krušić M. T., 2011. Sorption of zinc by novel pH-sensitive hydrogels based on chitosan, itaconic acid and methacrylic acid. *Journal of Hazardous Materials* 192, 846–854.

Mitchell, R., Maher, B. A., Kinnersley, R., 2010. Rates of particulate pollution deposition onto leaf surfaces: temporal and inter-species magnetic analyses. *Environmental Pollution* 158, 1472–1478.

Moldovan, M., Veschambre, S., Amouroux, D., Beanech, B., Donard, O. F. X., 2007. Platinum, Palladium, and Rhodium in Fresh Snow from the Aspe Valley (Pyrenees Mountains, France). *Environmental Science and Technology* 41, 66-73.

Monks, P. S., Granier, C., Fuzzi, S., Stohl, A., Williams, M. L., Akimoto, H., Amann, M., Baklanov, A., Baltensperger, U., Bey, I., Blake, N., Blake, R. S., Carslaw, K., Cooper, O. R., Dentener, F., Fowler, D., Fragkou, E., Frost, G. J., Generoso, S., Ginoux, P., Grewe, V., Guenther, A., Hansson, H. C., Henne, S., Hjorth, J., Hofzumahaus, A., Huntrieser, H., Isaksen, I. S. A., Jenkin, M. E., Kaiser, J., Kanakidou, M., Klimont, Z., Kulmala, M., Laj, P., Lawrence, M. G., Lee, J. D., Liousse, C., Maione, M., McFiggans, G., Metzger, A., Mieville, A., Moussiopoulos, N., Orlando, J. J., O'Dowd, C. D., Palmer, P. I., Parrish, D. D., Petzold, A., Platt, U., Pöschl, U., Prévôt, A. S. H., Reeves, C. E., Reimann, S., Rudich, Y., Sellegri, K., Steinbrecher, R., Simpson, D., ten Brink, H., Theloke, J., van der Werf, G. R., Vautard, R., Vestreng, V., Vlachokostas, Ch., von

Glasow, R., 2009. Atmospheric composition change – global and regional air quality. *Atmospheric Environment* 43, 5268-5350.

Monna, F., Bouchaou, L., Rambeau, C., Losno, R., Bruguier, O., Dongarrà, G., Black, S., Chateau, C., 2012. Lichens used as monitors of atmospheric pollution around agadir (Southwestern Morocco) – a case study predating lead-free gasoline. *Water Air and Soil Pollution* 223, 1263–1274.

Monna, F., Lancelot, J. R., Croudace, I., Cundy, A., Lewis, J. T., 1997. Pb isotopic signature of urban air in France and United Kingdom: implications on Pb pollution sources. *Environmental Science and Technology* 31, 2277–2286.

Morani, A., Nowak, D. J., Hirabayashi, S., Calfapietra, C., 2011. How to select the best tree planting locations to enhance air pollution removal in the MillionTreesNYC initiative. *Environmental Pollution* 159, 1040–1047.

Moshhammer, H., Neuberger, N., 2003. The active surface of suspended particles as a predictor of lung function and pulmonary symptoms in Austrian school children. *Atmospheric Environment* 37, 1737– 1744.

Mößnang, M., 1990. Element contents of spruce needles (*P. abies* [L.] Karst.) along an altitudinal gradient in the Bavarian Alps. In: Zöttl, H.W., Hüttl, R.F. (Eds.), *Management of Nutrition in Forests under Stress*. Kluwer Academic, Dordrecht, pp. 107–112.

Motelay-Massei, A., Ollivon, D., Tiphagne, K., Garban, B., 2005. Atmospheric bulk deposition of trace metals to the Seine river Basin, France: concentrations, sources and evolution from 1988 to 2001 in Paris. *Water Air and Soil Pollution* 164, 119–135.

Nemmar, A., Hoet, P. M., Vanquickenborne, B., Dinsdale, D., Thomeer, M., Hoylaerts, M., Vanbilloen, H., Mortelmans, L., Nemery, B., 2002. Passage of inhaled particles into the blood circulation in humans. *Circulation* 105, 411-414.

Nica, V. D., Bura, M., Gergen, I., Harmanescu, M., Bordean, D-M., 2012. Bioaccumulative and conchological assessment of heavy metal transfer in a soil-plant-snail food chain. *Chemistry Central Journal* 6, 55.

Niemela, M., Peramaki, P., Piispanen, J., Poikolainen, J., 2004. Determination of platinum and rhodium in dust and plant samples using microwave-assisted sample digestion and ICP-MS. *Analytica Chimica Acta* 521, 137-142.

Niemela, M., Piispanen, J., Poikolainen, J., Peramaki, P., 2007. Preliminary Study of the Use of Terrestrial Moss (*Pleurozium schreberi*) for Biomonitoring Traffic-Related Pt and Rh Deposition. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 52, 347–354.

Nier, A. O., 1938. Variations in the relative abundances of the isotopes of common lead from various sources. *Journal of the American Chemical Society* 60, 1571–1576.

Nordberg, M., Templeton, M. D., Andersen, O., Duffus, H. J., 2009. Glossary of terms used in ecotoxicology. *Pure and Applied Chemistry* 81, 829–970.

Nowak, D. J., Crane, D. E., Stevens, J. C., 2006. Air pollution removal by urban trees and shrubs in the United States. *Urban Forestry and Urban Greening* 4 (3-4), 115-123.

Nriagu, J. O., 1990. The rise and fall of leaded gasoline. *Science of the Total Environment* 92, 13–28.

Nriagu, J. O., Pacyna, J. M., 1988. Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water and soils by trace metals. *Nature* 333, 134–139.

Olowoyo, J. O., van Heerden, E., Fisher, J. L., Baker, C., 2010. Trace metals in soil and leaves of *Jacaranda mimosifolia* in Tshwane area, South Africa. *Atmospheric Environment* 44, 1826–1830.

Olowoyo, J.O., van Heerden, E., Fischer, J. L., 2010. Investigating *Jacaranda mimosifolia* tree as biomonitor of atmospheric trace metals. *Environmental Monitoring and Assessment* 164, 435-443.

Onder, S., Dursun, S., 2006. Air borne heavymetal pollution of *Cedrus libani* (A. Rich) in the city centre of Konya (Turkey). *Atmospheric Environment* 40, 1122–1133.

Orecchio, S., Amorello D., 2010. Platinum and rhodium associated with the leaves of *Nerium oleander* L.; analytical method using voltammetry; assessment of air quality in the Palermo (Italy) area. *Journal of Hazardous Materials* 174, 720-727.

Othman, I., Al-Oudat, M., Al-Masri, M. S., 1997. Lead levels in roadside soils and vegetation of Damascus city. *Science of the Total Environment* 207, 43–48.

Ottel , M., van Bohemen, H. D., Fraaij, A. L., 2010. Quantifying the deposition of particulate matter on climber vegetation on living walls. *Ecological Engineering* 36, 154-162.

Pacyna, E. G., Pacyna, L. M., Fudala, J., Strzelecka-Jastrzab, E., Hlawiczka, S., Panasiuk, D., Nitter, S., Pregger, T., Pfeiffer, H., Friedrich, R., 2007. Current and future emissions of

selected heavy metals to the atmosphere from anthropogenic sources in Europe. *Atmospheric Environment* 41, 8557-8566.

Pacyna, J. M., 1986. Atmospheric trace elements from natural and anthropogenic sources. In: Nriagu J. O., Davidson, C. I. (eds.) *Toxic metals in the atmosphere*. Wiley, New York

Pacyna, J. M., Pacyna, E. G., 2001. An assessment of global and regional emissions of trace metals to the atmosphere from anthropogenic sources worldwide. *Environmental Reviews* 9, 269–298.

Pan, S., Zhang, G., Sun, Y., Chakraborty, P., 2009. Accumulating characteristics of platinum group elements (PGE) in urban environments, China. *Science of the Total Environment* 407, 4248–4252.

Pandey, J. S., Kumar, R., Devotta, S., 2005. Health risks of NO₂, SPM and SO₂ in Delhi (India). *Atmospheric Environment* 39, 6868–6874.

Patrick, G. J., Farmer, J. G., 2006. A stable lead isotopic investigation of the use of sycamore tree rings as a historical biomonitor of environmental lead contamination. *Science of the Total Environment* 362, 278–291.

Patrick, G. J., Farmer, J. G., 2007. A lead isotopic assessment of tree bark as a biomonitor of contemporary atmospheric lead. *Science of the Total Environment* 388, 343–356.

Pearce, J. L., Waller, L. A., Chang, H. H., Klein, M., Mulholland, J. A., Sarnat, J. A., Sarnat, S. E., Strickland, M. J., Tolbert, P. E., 2014. Using self-organizing maps to develop ambient air quality classifications: a time series example. *Environmental Health: A Global Access Science Source* 13, 56-68.

Pérez-Aguila, R., Gómez-Gil, P., Aguilera, A., 2005. Non-supervised Classification of 2D Color Images Using Kohonen Networks and a Novel Metric, *Progress in Pattern Recognition, Image Analysis and Applications Lecture Notes in Computer Science*, Volume 3773, pp. 271-284.

Petrova, S., Yurukova, L., Velcheva, I., 2014. Possibilities of using deciduous tree species in trace element biomonitoring in an urban area (Plovdiv, Bulgaria). *Atmospheric Pollution Research* 5, 196-202.

Piczak, K., Lesniewicz, A., Zyrnicki, A., 2003. Metal concentrations in deciduous tree leaves from urban areas in Poland. *Environmental Monitoring and Assessment* 86, 273–287.

Pino, A., Alimonti, A., Conti, M. E., Bocca, B., 2010. Iridium, platinum and rhodium baseline concentration in lichens from Tierra del Fuego (South Patagonia, Argentina). *Journal of Environmental Monitoring* 12 (10), 1857-1863.

Pope, C. A. III, Burnett, R. T., Thun, M. J., Calle, E. E., Krewski, D., Ito, K., Thurston, G. D., 2002. Lung cancer, cardiopulmonary mortality, and long-term exposure to fine particulate air pollution. *Journal of the American Medical Association* 287 (9), 1132–1141.

Pope, C. A., Dockery, D. W., 2006. Health effects of fine particulate air pollution: lines that connect. *Journal of the Air and Waste Management Association* 56 (6), 709-742.

Popek, R., Gawrońska, H., Wrochna, M., Gawroński, S.W., Sæbø, A., 2013. Particulate matter on foliage of 13 woody species: deposition on surfaces and phytostabilisation in waxes — a 3-year study. *International Journal of Phytoremediation* 15, 245–256.

Pöschl, U., 2005. Atmospheric aerosols: composition, transformation, climate and health effects. *Angewandte Chemie (International Edition)* 4, 7520–7540.

Prasad, M. N. V., Strzalka, K., 1999. Impact of heavy metals on photosynthesis, in *Heavy Metal Stress in Plants*, Prasad, M. N. V. and Hagemeyer, J. (eds.), Springer, Heidelberg, pp. 117-138.

Prvulović, S., Velimirović, D., Manasić, D., Minić, I., 2008. *Istraživanje tržišta automobila Srbije 2008*, Synovate Srbija, Beograd.

Przybysz, A., Sæbø, A., Hanslin, H. M., Gawroński, S. W., 2014. Accumulation of particulate matter and trace elements on vegetation as affected by pollution level, rainfall and the passage of time. *Science of the Total Environment* 481, 360-369.

Pulles, T., Dernier van der Gon, H., Appelman, W., Verheij, M., 2012. Emission factors for heavy metals from diesel and petrol used in European vehicles. *Atmospheric Environment* 61, 641–651.

Putaud, J. P., Van Dingenen, R., Alastuey, A., Bauer, H., Birmili, W., Cyrys, J., Flentje, H., Fuzzi, S., Gehrig, R., Hanson, H. C., Harrison, R. M., Herrmann, H., Hitenberger, R., Hügl, C., Jones, A.M., Kasper-Giebl, A., Kiss, G., Kousa, A., Kuhlbusch, T. A. J., Löschau, G., Maenhaut, W., Molnar, A., Moreno, T., Pekkanen, J., Perrino, C., Pitz, M., Puxbaum, H., Querol, X., Rodriguez,

S., Salma, I., Schwarz, J., Smolik, J., Schneider, J., Spindler, G., ten Brink, H., Tursic, J., Viana, M., Wiedensohler, A., Raes, F., 2010. A European aerosol phenomenology-3: physical and chemical characteristics of particulate matter from 60 rural, urban, and kerb- side sites across Europe. *Atmospheric Environment* 44, 1308-1320.

Querol, X., Alastuey, A., Moreno, T., Viana, M. M., Castillo, S., Rey, J., Rodriguez, S., Artiñano, B., Salvador, P., Sánchez, M., Garcia Dos Santos, S., Herce Garraleta, M. D., Fernandez-Patier, R., Moreno-Grau, S., Negral, L., Minguillón, M. C., Monfort, E., Sanz, M. J., Palomo-Marín, R., Pinilla-Gil, E., Cuevas, E., de la Rosa, J., Sánchez de la Campa, A., 2008. Spatial and temporal variations in airborne particulate matter (PM₁₀ and PM_{2.5}) across Spain 1999–2005. *Atmospheric Environment* 42, 3964-3979.

Rajšić, S. F., Tasić, M. D., Novaković, V. T., Tomašević, M. N., 2004. First assessment of the PM₁₀ and PM_{2.5} particulate level in the ambient air of Belgrade city. *Environmental Science and Pollution Research* 11, 158-164.

Rajšić, S., Mijić, Z., Tasić, M., Radenković, M., Joksić, J., 2008. Evaluation of the levels and sources of trace elements in urban particulate matter. *Environmental Chemistry Letters* 6, 95-100.

Ram, S. S., Majumdar, S., Chaudhuri, P., Chanda, S., Santra, S. C., Maiti, P. K., Sudarshan, M., 2012. SEMEDS: An important tool for air pollution bio-monitoring. *Micron* 43, 490-493.

Ravindra, K., Bencs, L., Van Grieken, R., 2004. Platinum group elements in the environment and their health risk, *Science of the Total Environment* 318, 1–43.

Reimann, C., Arnoldussen, A., Boyd, R., Finne, T. E., Koller, F., Nordgulen, Ø., Englmaier, P., 2007. Element contents in leaves of four plant species (birch, mountain ash, fern and spruce) along anthropogenic and geogenic concentration gradients. *Science of the Total Environment* 377(2–3), 416–433.

Reimann, C., Englmaier, P., Fabian, K., Gough, L., Lamothe, P., Smith, D., 2015. Biogeochemical plant-soil interaction: Variable element composition in leaves of four plant species collected along a south-north transect at the southern tip of Norway. *Science of the Total Environment* 506-507, 480-495.

Reimann, C., Filzmoser, P., Fabian, K., Hron, K. Birke, M., Demetriades, A., Dinelli, E., Ladenberger, A., The GEMAS Project Team, 2012a. The concept of compositional data

analysis in practice — Total major element concentrations in agricultural and grazing land soils of Europe. *Science of the Total Environment* 426, 196-210.

Reimann, C., Flem, B., Fabian, K., Birke, M., Ladenberger, A., Negrel, P., Demetriades, A., Hoogewerff, J., The GEMAS Project Team, 2012b. Lead and lead isotopes in agricultural soils of Europe – the continental perspective. *Applied Geochemistry* 27, 532–542.

Remon, E., Bouchardon, J. L., Le Guédard, M., Bessoule, J.-J., Conord, C., Fraur, O., 2013. Are plants useful as accumulation indicators of metal bioavailability? *Environmental Pollution* 175, 1-7.

Republički zavod za statistiku Republike Srbije, 2008. Saobraćaj, skladištenje i veze 2006. Bilten.

Republički zavod za statistiku Republike Srbije, 2010. Statistički godišnjak Republike Srbije 2009.

Republički zavod za statistiku Republike Srbije, 2014. Registrovana drumska motorna i priključna vozila i saobraćajne nezgode na putevima, 2013. Saopštenje broj 054.

Reuer, K. M., Boyle, A. E., Grant, C. B., 2003. Lead isotope analysis of marine carbonates and seawater by multiple collector ICP-MS. *Chemical Geology* 200, 137–153.

Ristić, M., Perić-Grujić, A., Antanasijević, D., Ristić, M., Aničić Urošević, M., Tomašević, M., 2013. Plants as monitors of lead air pollution. In: Lichtfouse, E., Schwarzbauer, J., Robert, D. (Eds.), *Pollutant Diseases, Remediation and Recycling*. Springer International Publishing, Switzerland, pp. 387–431.

Rodriguez, J. H., Wannaz, E. D., Salazar, M. J., Pignata, M. L., Fangmeier, A., Franzaring, J., 2012. Accumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons and heavy metals in the tree foliage of *Eucalyptus rostrata*, *Pinus radiata* and *Populus hybridus* in the vicinity of a large aluminium smelter in Argentina. *Atmospheric Environment* 55, 35–42.

Root, R., 2000. Lead loading of urban streets by motor vehicle wheel weights. *Environmental Health Perspectives* 108, 937-940.

Rossini Oliva, S., Raitio, H., 2003. Review of cleaning techniques and their effects on the chemical composition of foliar samples. *Boreal Environment Research* 8, 263-272.

Rossini, P., Guerzoni, S., Molinaroli, E., Rampazzo, G., De Lazzari, A., Zancanaro, A., 2005. Atmospheric bulk deposition to the lagoon of Venice Part I. Fluxes of metals, nutrients and organic contaminants. *Environmental International* 31, 959–974.

Rucandio, I. M., Petit-Domínguez, D. M., Fidalgo-Hijano, C., García-Gimenéz, R., 2011. Biomonitoring of chemical elements in an urban environment using arboreal and bush plant species. *Environmental Science and Pollution Research* 18, 51–63.

Rühling, Á., Tyler, G., 1968. An ecological approach to lead problem. *Bot Notiser* 121, 321–342.

Sæbø, A., Hanslin, H.M., Torp, T., Lierhagen, S., Gawronska, H., Dzierzanowski, K., Gawronski, S.W., 2015. Chemical composition of vegetation along urbanization gradients in two European cities. *Environmental Pollution* 198, 116–125.

Sæbø, A., Popek, R., Nawrot, B., Hanslin, H.M., Gawronska, H., Gawronski, S.W., 2012. Plant species differences in particulate matter accumulation on leaf surfaces. *Science of the Total Environment* 427–428, 347–354.

Saeedi, M., Li, Y. L., Salmanzadeh, M., 2012. Heavy metals and polycyclic aromatic hydrocarbons: pollution and ecological risk assessment in street dust of Tehran. *Journal of Hazardous Materials* 227–228, 9–17.

Saitanis, C. J., Frontasyeva, M. V., Steinnes, E., Palmer, M. W., Ostrovnaya, T. M., Gundorina, S. F., 2013. Spatiotemporal distribution of airborne elements monitored with the moss bags technique in the Greater Thriasion Plain, Attica, Greece. *Environmental Monitoring and Assessment* 185, 955–968.

Samecka-Cymerman, A., Stankiewicz, A., Kolon, K., Kempers, A. J., 2009a. Bioindication of trace metals in *Brachythecium rutabulum* around a copper smelter in Legnica (southwest Poland): use of a new form of data presentation in the form of a self-organizing feature map. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 56, 717–722.

Samecka-Cymerman, A., Stankiewicz, A., Kolon, K., Kempers, A. J., 2009b. Self-organizing feature map (neural networks) as a tool to select the best indicator of road traffic pollution (soil, leaves or bark of *Robinia pseudoacacia* L.). *Environmental Pollution* 157, 2061–2065.

Saunier, J.-B., Losfeld, G., Freydier, R., Grison, C., 2013. Trace elements biomonitoring in a historical mining district (les Malines, France). *Chemosphere* 93, 2016–2023.

Sawidis, T., Breuste, J., Mitrovic, M., Pavlovic, P., Tsigaridas, K., 2011. Trees as bioindicator of heavy metal pollution in three European cities. *Environmental Pollution* 159, 3560–3570.

Schafer, J., Eckhardt, J. D., Berner, Z. A., Stuben, D., 1999. Time-dependent increase of traffic-emitted platinum group elements (PGE) in different environmental compartments. *Environmental Science and Technology* 33, 3166–3170.

Schauer, J. J., Rogge, W.F., Hildemann, L. M., Mazurek, M. A., Cass, G. R., Simoneit, B. R. T., 1996. Source apportionment of airborne particulate matter using organic compounds as tracers. *Atmospheric Environment* 30, 3837–3855.

Schleppi, P., Tobler, I., Bucher, J. B., Wyttenbach, A., 2000. Multivariate interpretation of the foliar chemical composition of Norway spruce (*Picea abies*). *Plant and Soil* 219, 251–262.

Schreck, E., Foucault, Y., Sarret, G., Sobanska, S., Cécillion, L., Castrec-Rouelle, M., Uzu, G., Dumat, C., 2012. Metal and metalloid foliar uptake by various plant species exposed to atmospheric industrial fallout: Mechanisms involved for lead. *Science of the Total Environment* 427–428, 253–262.

Schwartz, J., Ballester, F., Saez, M., Perez-Hoyos, S., Bellido, J., Cambra, K., F. Arribas, Canada, A., Perez-Boillos, M. J., Sunyer, J., 2001. The concentration-response relation between air pollution and daily deaths. *Environmental Health Perspective* 109, 1001–1006.

Seinfeld, J. H., Pandis, S. N., 1998. *Atmospheric chemistry and physics from air pollution to climate change*. Wiley, New York.

Serbula, S. M., Kalinovic, T. S., Ilic, A. A., Kalinovic, J. V., Steharnik, M. M., 2013. Assessment of Airborne Heavy Metal Pollution Using *Pinus* spp. and *Tilia* spp. *Aerosol and Air Quality Research* 13, 563–573.

Sert, E., Uğur, A., Özden, B., Murat Saç, M., Camgöz, B., 2011. Biomonitoring of ²¹⁰Po and ²¹⁰Pb using lichens and mosses around coal-fired power plants in Western Turkey. *Journal of Environmental Radioactivity* 102, 535–542.

Sharma, P., Dubey, R. S., 2005. Lead toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 17, 35–52.

Sharma, R. K., Agrawal, M., Marshall, M. F., 2008. Atmospheric deposition of heavy metals (Cu, Zn, Cd and Pb) in Varanasi City, India. *Environmental Monitoring and Assessment* 142, 269–278.

Shotyk, W., Zheng, J., Krachler, M., Zdanowicz, C., Koerner, R., Fisher, D., 2005. Predominance of industrial Pb in recent snow (1994–2004) and ice (1842–1996) from Devon Island, Arctic Canada. *Geophysical Research Letters* 32, L21814.

Simon, E., Baranyai, E., Braun, M., Cserhádi, C., Fábián, I., Tóthmérész, B., 2014. Elemental concentration in deposited dust on leaves along an urbanization gradient. *Science of the Total Environment* 490, 514–520.

Simon, E., Braun, M., Vidic, A., Bogyó, D., Fábián, I., Tóthmérész, B., 2011. Air pollution assessment based on elemental concentration of leaves tissue and foliage dust along an urbanization gradient in Vienna. *Environmental Pollution* 159, 1229–1233.

Simonetti, A., Gariépy, C., Carignan, J., 2000. Pb and Sr isotopic composition of snowpack from Québec, Canada: inferences on the sources and deposition budgets of atmospheric heavy metals. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 64, 5–20.

Sinclair, A. H., Tolsma, D., 2004. Associations and lags between air pollution and acute respiratory visits in an ambulatory care setting: 25-month results from the aerosol research and inhalation epidemiological study. *Journal of the Air and Waste Management Association* 54, 1212–1218.

Song, Y., Maher, B. A., Li, F., Wang, X., Sun, X., Zhang, H., 2015. Particulate matter deposited on leaf of five evergreen species in Beijing, China: Source identification and size distribution. *Atmospheric Environment* 105, 53–60.

Stacey, J. S., Kramers, J. D., 1975. Approximation of terrestrial lead isotope evolution by a two-stage model. *Earth and Planetary Science Letters* 26, 207–221.

Steinnes, E., Sjøbakk, T. E., Donisa, C., Brännvall, M-L., 2005. Quantification of pollutant lead in forest soils. *Soil Science Society of America. Journal* 69, 1399–1404.

Sternbeck, J., Sjödin, A., Andréasson, K., 2002. Metal emissions from road traffic and the influence of resuspension – results from two tunnel studies. *Atmospheric Environment* 36, 4735–4744.

Sternberg, T., Viles, H., Cathersides, A., Edwards, M., 2010. Dust particulate absorption by ivy (*Hedera helix* L.) on historic walls in urban environments. *Science of the Total Environment* 409, 162–168.

Sucharová, J., Suchara, I., Holá, M., Reimann, C., 2014. Contemporary lead concentration and stable lead isotope ratio distribution in forest moss across the Czech Republic. *Applied Geochemistry* 40, 51–60.

Sucharová, J., Suchara, I., Reimann, C., Boyd, R., Filzmoser, P., Englmaier, P., 2011. Spatial distribution of lead and lead isotopes in soil B-horizon, forest-floor humus, grass (*Avenella flexuosa*) and spruce (*Picea abies*) needles across the Czech Republic. *Applied Geochemistry* 26, 1205–1214.

Sun, S.-Q., Wu, Y. H., Zhou, J., Yu, D., Luo, J., Bing, H.-J., 2011. Comparison of element concentrations in fir and rhododendron leaves and twigs along an altitudinal gradient. *Environmental Toxicology and Chemistry* 30 (11) 2608-2619.

Szczepaniak, K., Biziuk, M., 2003. Aspects of the biomonitoring studies using mosses and lichens as indicators of metal pollution. *Environmental Research*, 93, 221–230.

Šućur, K. M., Aničić, M. P., Tomašević, M. N., Antanasijević, D. Z., Perić-Grujić, A. A., Ristić, M. DJ., 2010. Urban deciduous tree leaves as biomonitors of trace element (As, V and Cd) atmospheric pollution in Belgrade, Serbia. *Journal of the Serbian Chemical Society* 75, 1453–1461.

Tarricone, K., Wagner, G., Klein, R., 2015. Toward standardization of sample collection and preservation for the quality of results in biomonitoring with trees – A critical review. *Ecological Indicators* 57, 341-359.

Tasić, D. M., Rajčić, F. S., Novaković, T. V., Tomašević, N. M., 2001. Contribution to the methodology of dry deposition measurements. *Fresenius Environmental Bulletin* 10, 305–309

Tasić, M., Đuric-Stanojevic, B., Rajšić, S., Mijic, Z., Novakovic, V., 2006. Physico-chemical characterization of PM10 and PM2.5 in the Belgrade Urban Area. *Acta Chimica Slovenica* 53 (3), 401–405.

Teper, E., 2009. Dust-particle migration around flotation tailings ponds: pine needles as passive samplers. *Environmental Monitoring and Assessment* 154, 383-391.

Terzaghi, E., Wild, E., Zacchello, G., Cerabolini, B. E. L., Jones, K. C., Di Guardo, A., 2013. Forest Filter Effect: Role of leaves in capturing/releasing air particulate matter and its associated PAHs. *Atmospheric Environment* 74, 378-384.

Thorpe, A., Harrison, R. M., 2008. Sources and properties of non-exhaust particulate matter from road traffic: A review. *Science of the Total Environment* 400, 270-282.

Tiwary, A., Sinnett, D., Peachey, C., Chalabi, Z., Vardoulakis, S., Fletcher, T., Leonardi, G., Grundy, C., Azapagic, A., Hutchings, T.R., 2009. An integrated tool to assess the role of new planting in PM₁₀ capture and the human health benefits: A case study in London. *Environmental Pollution* 157, 2645-2653.

Tomašević, M., Aničić, M., 2010. Trace element content in urban tree leaves and SEM-EDAX characterization of deposited particles. *Facta Universitatis: Series Physics, Chemistry and Technology* 8, 1-13.

Tomašević, M., Aničić, M., Jovanović, Lj., Perić-Grujić, A., Ristić, M., 2011. Deciduous tree leaves in trace elements biomonitoring: A contribution to methodology. *Ecological Indicators* 11, 1689-1695.

Tomašević, M., Antanasijević, D., Aničić, M., Deljanin, I., Perić-Grujić, A., Ristić, M., 2013. Lead concentrations and isotope ratios in urban tree leaves. *Ecological Indicators* 24, 504–509.

Tomašević, M., Rajšić, S., Đorđević, D., Tasić, M., Krstić, J., Novaković, V., 2004. Heavy metals accumulation in tree leaves from urban areas. *Environmental Chemistry Letters* 2, 151–154.

Tomašević, M., Vukmirović, Z., Rajšić, S., Tasić, M., Stevanović, B., 2005. Characterization of trace metal particles deposited on some deciduous tree leaves in an urban area. *Chemosphere* 61, 753–760.

Tomašević, M., Vukmirović, Z., Rajšić, S., Tasić, M., Stevanović, B., 2008. Contribution to biomonitoring of some trace metals by deciduous tree leaves in urban areas. *Environmental Monitoring and Assessment* 137, 393–401.

Turan, D., Kocahakimoglu, C., Kavcar, P., Gaygısız, H., Atatanir, L., Turgut, C., Sofuoglu, C. S., 2011. The use of olive tree (*Olea europaea* L.) leaves as a bioindicator for environmental pollution in the Province of Aydın, Turkey. *Environmental Science and Pollution Research* 18, 355–364.

U.S. Environmental Protection Agency, 2004. Air quality criteria for particulate matter. 600/P-99/002aF-bF. Final Report, October 2004. Washington (DC): EPA.

U.S. Environmental Protection Agency, 2010. Our nation's air, status and trends through 2010, U.S. Environmental Protection Agency, Office of Air Quality Planning and Standards Research, 2012 –EPA-454/R-12-001, Research Triangle Park.

UNECE, 1995. Convention on Long-range Transboundary Air Pollution. Strategies and policies for air pollution abatement. 1994 major review. New York, United Nations, 1995 (ECE/EB.AIR/44).

UNECE, 1998. Convention on Long-range Transboundary Air Pollution. Major review of strategies and policies for air pollution abatement. New York, United Nations, 1998 (EB.AIR/1998/3, Add.1).

UNECE, 2010. Manual on Methods and Criteria for Harmonized Sampling, Assessment, Monitoring and Analysis of the Effects of Air Pollution on forests (ICPForests), Part XII: Sampling and Analysis of Needles and Leaves, www.icp-forests.org/Manual.htm

Vallero, D. A., 2008. Fundamentals of air pollution. Elsevier Inc., London, p. 60.

Van Leeuwen, C. J., Vermiere, T. G., 2007. Risk assessment of chemicals: an introduction, 2nd edn. Springer, Dordrecht, pp. 106–111.

VDI, 2004. VDI 3957-10: Biological Measuring Techniques for the Determination and Evaluation of Effects of Air Pollution on Plants (Bioindication) – Source-Related Measurements of Ambient Air Quality Using Bioindicators., p. 44.

VDI, 2007. VDI 3957-11: Biological measuring techniques for the determination and evaluation of effects of air pollution on plants (bioindication). In: Ingenieure, V.D. (Ed.), Sampling of Leaves and Needles for a Biomonitoring of the Accumulation of Air Pollutants (Passive Biomonitoring). KRdL, p. 26.

Vesanto, J., Himberg, J., Alhoniemi, E., Parhankangas, J., 2000. SOM Toolbox for Matlab 5. Technical Report A57. Neural Networks Research Centre, Helsinki University of Technology, Helsinki, Finland.

Veses, O., Mosteo, R., Ormad, M. P., Ovelleiro, J. L., 2014. Freshwater sediment quality in Spain. Environmental Earth Sciences 72, 2917-2929.

Viana, M., Kuhlbusch, T. A. J., Querol, X., Alastuey, A., Harrison, R. M., Hopke, P. K., Winiwarter, W., Vallius, M., Szidat, S., Prévôt, A. S. H., Hueglin, C., Bloemen, H., Wåhlin, P., Vecchi, R., Miranda, A. I., Kasper-Giebl, A., Maenhaut, W., Hitzenberger, R., 2008. Source

apportionment of particulate matter in Europe: A review of methods and results. *Aerosol Science* 39, 827-849.

Vlada Republike Srbije, Pravilnik o graničnim vrednostima, metodama merenja imisije, kriterijumima o uspostavljanju mernih mesta i evidenciji podataka, Službeni glasnik RS, b. 54/92, 30/99 i 19/2006.

Vlada Republike Srbije, Pravilnikom o graničnim vrednostima, metodama merenja imisije, kriterijumima za uspostavljanje mernih mesta i evidenciju podataka, Službeni glasnik RS, br. 54/92, 30/99 i 19/06.

Vlada Republike Srbije, Uredba o uslovima za monitoring i zahtevima kvaliteta vazduha, Službeni glasnik RS, b. 11/10 i 75/10.

Vlada Republike Srbije, Uredba o utvrđivanju programa kontrole kvaliteta vazduha u državnoj mreži, Službeni glasnik RS, br. 23/06 i 58/11.

Voutsas, D., Samara, C. 2002. Labile and bioaccessible fractions of heavy metals in the airborne particulate matter from urban and industrial areas. *Atmospheric Environment* 36, 3583-3590.

VPSolutions, 2013. Visual PROMETHEE 1.4 Manual. VPSolutions, Canada.

Vukmirović, Z., Unkašević, M., Lazić, L., Tošić, I., Rajšić, S., Tasić, M., 2004. Analysis of the Saharan dust regional transport. *Meteorology and Atmospheric Physics* 85 (4), 265–273.

Vuković, G. P., 2015. Biomonitoring of urban air pollution (particulate matter, trace elements and polycyclic aromatic hydrocarbons) using mosses *Sphagnum girgensohnii* Russow and Hypnum cupressiforme Hedw. Doctoral Dissertation, The Faculty of Chemistry, University of Belgrade.

Vuković, G., Aničić Urošević, M., Goryainova, Z., Pergal, M., Škrivanj, S., Samson, R., Popović, A., 2015a. Active moss biomonitoring for extensive screening of urban air pollution: magnetic and chemical analyses. *Science of the Total Environment* 521–522, 200–210.

Vuković, G., Aničić Urošević, M., Razumenić, I., Goryainova, Z., Frontasyeva, M., Tomašević, M., Popović, A., 2013. Active moss biomonitoring of small-scale spatial distribution of airborne major and trace elements in the Belgrade urban area. *Environmental Science and Pollution Research* 20, 5461–5470.

Vuković, G., Aničić Urošević, M., Razumenić, I., Kuzmanoski, M., Pergal, M., Škrivanj, S., Popović, A., 2014. Air quality in urban parking garages (PM₁₀, major and trace elements, PAHs): Instrumental measurements vs. Active moss biomonitoring. *Atmospheric Environment* 85, 31-40.

Vuković, G., Aničić Urošević, M., Tomašević, M., Samson, R., Popović, A., 2015b. Biomagnetic monitoring of urban air pollution using moss bags (*Sphagnum girgensohnii*). *Ecological Indicators* 52, 40-47.

Wang, L., Gong, H., Liao, W., Wang, Z., 2015. Accumulation of particles on the surface of leaves during leaf expansion. *Science of the Total Environment* 532, 420-434.

Wang, L., Liu, L.Y., Gao, S.Y., Hasi, E., Wang, Z., 2006. Physicochemical characteristics of ambient particles settling upon leaf surfaces of urban plants in Beijing. *Journal of Environmental Science China* 18, 921-926.

Wang, S., Zhang, J., 2006. Blood lead levels in children, China. *Environmental Research* 101, 412-418.

Wei, B., Yang, L., 2010. A review of heavy metal contaminations in urban soils, urban road dusts and agricultural soils from china. *Microchemical Journal* 94, 99-107.

Weiss, P., Offenthaler, I., Öhlinger, R., Wimmer, J., 2003. Higher plants as accumulative bioindicators. In: Markert B, Breure AM, Zechmeister HG (eds.) *Bioindicators & biomonitors, principles, concepts and applications*, vol 6. Elsevier, Amsterdam, pp. 465-500.

WHO, 1991. *Environmental Health Criteria 125-Platinum*. Geneva: World Health Organization, International Programme on Chemical Safety.

WHO, 2000. *Air quality guidelines for Europe*, WHO regional publications, European series, No. 91. World Health Organization Regional Office for Europe, Copenhagen

WHO, 2000. *Biomonitoring of air quality using plants*, Air Hygiene Report No. 10, Geneva.

WHO, 2005. *WHO Air Quality Guidelines for Particulate Matter, Ozone, Nitrogen Dioxide and Sulfur Dioxide* Global Update 2005- Summary of Risk Assessment.

WHO, 2006. *Health risks of particulate matter from long-range transboundary air pollution*, Joint WHO Convention Task Force on the Health Aspects of Air Pollution, Regional Office for Europe Copenhagen, Denmark.

WHO, 2007. Health risks of heavy metals from long-range transboundary air pollution. Joint task force on the health aspects of long-range transboundary air pollution. International Government Publication, Geneva.

Wiseman, C. L. S, Zereini, F., Püttmann, W., 2013. Traffic-related trace element fate and uptake by plants cultivated in roadside soils in Toronto, Canada. *Science of the Total Environment* 442, 86-95.

Wiseman, C. L. S, Zereini, F., Püttmann, W., 2014. Metal translocation patterns in *Solanum melongena* grown in close proximity to traffic. *Environmental Science and Pollution Research* 21, 1572–1581.

Wolterbeek, B., 2002. Biomonitoring of trace element air pollution: principles, possibilities and perspectives. *Environmental Pollution* 120, 11–21.

Wong, C. S. C., Li, X. D., Zhang, G., Qi, S. H., Peng, X. Z., 2003. Atmospheric deposition of heavy metals in the Pearl River Delta, China. *Atmospheric Environment* 37, 767–776.

Wytenbach, A., Bajo, S., Tobler, L., Keller, Th., 1985. Major and trace element concentrations in needles of *Picea abies*: levels, distribution functions, correlations and environmental influences. *Plant and Soil* 85, 313–325.

Xu, H. M., Cao, J. J., Ho, K. F., Ding, H., Han, Y. M., Wang, G. H., Chow, J. C., Watson, J. G., Khol, S. D., Qiang, J., Li, W. T., 2012. Lead concentrations in fine particulate matter after the phasing out of leaded gasoline in Xi'an, China. *Atmospheric Environment* 46, 217-224.

Yang, Y., Wang, C., Guo, H., Sheng, H., Zhou, F., 2012. An integrated SOM-based multivariate approach for spatio-temporal patterns identification and source apportionment of pollution in complex river network. *Environmental Pollution* 168, 71-79.

Zechmeister, H. G., Grodzińska, K., Szarek-Łukaszewska, G., 2003. *Bryophytes*. In: Markert, B.A., Breure, A.M., Zechmeister, H.G. (Eds.), *Bioindicators and Biomonitors*. Elsevier, Oxford, pp. 329-375.

Zechmeister, H. G., Hagendorfer, H., Hohenwallner, D., Hanus-Illnar, A., Riss, A., 2006. Analyses of platinum group elements in mosses as indicators of road traffic emissions in Austria, *Atmospheric Environment* 40, 7720–7732

Zereini, F., Wiseman, C., Beyer, J. M., Artelt, S., Urban H., 2001. Anthropogenic Emission of Platinum-group Elements into the Environment. Concentration, Distribution and Geochemical Behaviour in Soils. *Journal of Soils and Sediments* 3, 188-195.

Zhou, Q., Zhang, J., Fu, J., Shi, J., Jiang, G., 2008. Biomonitoring: an appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. *Analytica Chimica Acta* 606, 135–150.

Zimmermann, R. D., Wagner, G., Finck, M., 2000. Guidelines for the use of biological monitors in air pollution control (plants). Part I. WHO Collaborating Centre for Air Quality Management and Air Pollution Control at the Federal Environmental Agency Germany, Berlin, Report 12.

Prilozi

Prilog 1. Tabela 1. Sadržaj elemenata (u %) u površinskom sloju neopranih listova ispitivanih biljnih vrsta, izmeren EDS metodom.

Elementi	<i>A. hippocastanum</i>		<i>Tilia spp.</i>		<i>B. pendula</i>		<i>A. platanoides</i>	
	lice	naličje	lice	naličje	lice	naličje	lice	naličje
C	62,08	49,57	49,92	47,67	51,69	58,69	59,94	49,50
O	34,40	47,05	43,96	49,16	43,53	37,00	36,16	46,41
Na	/	/	/	/	/	/	0,2	/
Mg	0,28	0,36	0,61	0,2	0,57	0,66	0,43	0,91
Al	/	/	0,07	0,03	0,11	0,08	0,07	/
Si	0,52	1,07	0,64	0,18	0,36	0,18	0,96	1,15
P	0,31	0,2	0,12	0,08	0,06	0,04	0,05	0,09
S	0,07	0,08	0,09	0,09	/	/	0,03	/
Cl	0,5	0,34	0,4	0,34	0,04	0,04	0,75	0,44
K	0,73	0,55	1,45	0,92	0,82	1,27	0,65	0,68
Ca	0,73	0,56	2,36	1,02	2,33	1,76	0,35	0,61
Mn	/	/	/	/	/	/	0,1	/
Fe	0,16	0,09	0,21	0,15	0,27	0,21	0,24	0,17
Au	0,22	0,13	0,17	0,16	0,22	0,07	0,06	0,04

Prilog 1. Tabela 2. Vrednosti faktora zagađenja (F_z). Podebljane vrednosti predstavljaju povišen sadržaj posmatranih elemenata u odnosu na RB.

			Cr	Fe	Ni	Cu	Zn	Pb	V	As	Cd
<i>A. hippocastanum</i>											
2002	KP	proleće	0,44	2,19	0,72	1,08	0,50	7,50	1,02	1,70	2,40
		jesen	0,99	4,67	1,59	0,79	0,66	16,0	3,52	3,10	0,60
	SP	proleće	0,38	1,65	0,37	4,06	0,46	8,40	0,58	3,10	12,2
		jesen	0,95	3,77	0,75	8,75	0,59	21,5	2,20	9,10	2,00
	BG	proleće	0,26	1,24	0,39	1,12	0,38	2,90	0,90	2,50	6,00
		jesen	0,67	2,83	0,61	0,83	0,50	11,6	1,76	5,30	0,60
2003	KP	proleće	0,29	1,03	0,28	1,48	0,37	2,20	0,72	1,40	0,40
		jesen	0,45	2,21	0,61	0,84	0,39	5,10	0,80	1,80	1,60
	SP	proleće	0,29	0,60	0,37	1,93	0,35	2,10	0,24	2,20	0,20
		jesen	0,75	3,00	0,73	7,50	0,63	17,6	1,72	7,00	1,60
	BG	proleće	0,51	0,76	0,33	1,20	0,45	1,70	0,32	1,00	0,20
		jesen	0,52	2,13	0,57	0,87	0,46	6,70	0,66	3,00	0,80
2004	KP	proleće	0,28	1,09	0,29	1,08	0,30	1,50	2,52	0,70	0,20
		jesen	0,75	2,42	0,80	0,73	0,43	5,80	2,16	3,50	0,60
	SP	proleće	0,27	0,89	0,27	1,97	0,41	2,40	0,56	2,90	0,40
		jesen	0,82	2,63	0,75	6,10	0,53	10,6	0,84	12,2	0,60
	BG	proleće	0,45	1,27	0,45	1,19	0,31	2,40	0,76	1,30	0,40
		jesen	1,20	3,93	1,07	1,58	0,72	10,9	1,32	2,60	0,60
2005	KP	proleće	0,22	0,88	0,34	1,20	0,36	1,30	1,52	1,00	1,00
		jesen	0,71	2,78	0,79	0,83	0,51	5,90	0,30	3,50	3,00
	SP	proleće	0,17	0,67	0,19	2,53	0,39	2,60	0,36	1,90	1,40
		jesen	0,38	1,33	0,40	2,03	0,37	4,90	0,98	6,90	5,40
	BG	proleće	0,2	0,75	0,37	1,66	0,32	1,10	0,68	1,50	6,00
		jesen	0,64	2,31	1,13	0,88	0,68	5,60	0,60	2,00	31,6
2006	KP	proleće	0,27	1,17	0,50	0,95	0,42	1,30	1,38	1,10	0,20
		jesen	0,53	2,25	0,64	0,55	0,37	3,30	1,26	1,10	1,00
	SP	proleće	0,24	0,77	0,37	1,21	0,41	0,80	0,28	5,40	0,20
		jesen	0,52	1,96	0,71	1,24	0,36	5,40	1,00	6,70	0,60
	BG	proleće	0,45	1,58	0,63	1,52	0,47	2,50	0,68	2,20	0,40
		jesen	0,86	3,15	1,18	0,92	0,65	4,60	1,04	2,40	0,40
<i>Tilia spp.</i>											
2002	KP	proleće	0,51	2,31	0,61	1,28	0,53	12,9	1,46	2,00	15,2
		jesen	0,38	1,84	0,91	0,71	0,44	6,70	2,96	3,00	0,40
	SP	proleće	0,73	2,93	0,99	0,93	0,86	17,5	0,80	2,80	39,2
		jesen	0,55	2,27	0,78	2,64	0,50	8,50	1,50	7,50	1,00
	BG	proleće	0,20	0,93	0,26	1,10	0,27	2,10	0,54	1,20	1,40
		jesen	0,18	0,93	0,25	0,76	0,27	3,10	0,64	2,70	0,40
2003	KP	proleće	0,27	0,65	0,32	1,70	0,52	1,50	0,40	0,60	0,80

		jesen	0,46	2,13	0,71	0,70	0,36	5,50	1,74	1,80	0,40
	SP	proleće	0,11	0,55	0,35	1,42	0,41	1,10	0,18	1,70	0,20
		jesen	0,45	1,90	0,79	4,56	0,45	9,00	0,82	3,60	1,20
	BG	proleće	0,23	0,33	0,19	1,15	0,50	0,70	0,88	0,50	0,60
		jesen	0,45	1,84	0,54	1,05	0,42	6,40	0,76	2,90	0,60
2004	KP	proleće	0,24	0,97	0,43	0,98	0,30	1,50	0,64	0,60	0,20
		jesen	0,65	2,31	0,87	1,15	0,43	5,80	1,68	1,80	0,40
	SP	proleće	0,19	0,65	0,16	1,03	0,31	1,00	0,24	1,00	0,20
		jesen	1,21	4,34	1,37	5,22	0,70	11,9	1,32	3,90	2,40
	BG	proleće	0,50	1,43	0,48	1,50	0,45	2,60	0,48	0,80	0,80
		jesen	1,33	2,61	0,92	1,63	0,49	7,20	0,96	2,10	1,00
2005	KP	proleće	0,23	0,83	0,34	0,92	0,33	1,10	0,22	0,50	1,20
		jesen	0,24	0,97	0,57	0,64	0,31	1,90	0,92	2,10	0,40
	SP	proleće	0,13	0,43	0,31	1,87	0,28	1,30	0,16	1,10	0,20
		jesen	0,23	0,69	0,47	1,03	0,31	1,90	0,74	1,40	55,6
	BG	proleće	0,24	0,66	0,33	1,21	0,38	1,10	0,16	0,60	0,80
		jesen	0,29	1,03	0,35	0,89	0,36	2,70	0,92	2,30	11,0
2006	KP	proleće	0,21	0,87	0,47	0,80	0,36	0,90	1,12	1,10	0,40
		jesen	0,31	1,47	0,65	0,77	0,37	1,80	2,00	2,50	0,60
	SP	proleće	0,14	0,63	0,23	0,74	0,32	0,50	0,28	1,40	0,20
		jesen	0,38	1,39	0,55	1,02	0,40	4,20	0,46	4,90	0,40
	BG	proleće	0,37	1,42	0,43	1,06	0,51	1,60	0,32	0,80	0,40
		jesen	0,45	1,57	0,59	0,82	0,44	2,60	0,48	1,90	0,20

Prilog 1. Tabela 3. Lista uzoraka sa skraćenicama. Slova u skraćenicama se odnose na: biljne vrste (AH – *A. hippocastanum*, AP – *A. platanoides*, BP – *B. pendula*, T – *Tilia* spp.), lokalitete uzorkovanja (B – Botanička bašta, K – Karađorđev Park, S – Studentski Park, Z – Zemunski Park), vreme uzorkovanja (M – maj, S – septembar) i pripremu uzoraka (1 – netretirani uzorci, 2 – uzorci oprani vodom, 3 – uzorci oprani hloroformom).

Skraćenica	Biljna vrsta	Lokalitet	Vreme uzorkovanja	Priprema
AHBM1	<i>A. hippocastanum</i>	Botanička bašta	maj	netretirani uzorci
AHBM2	<i>A. hippocastanum</i>	Botanička bašta	maj	uzorci oprani vodom
AHBS1	<i>A. hippocastanum</i>	Botanička bašta	septembar	netretirani uzorci
AHBS2	<i>A. hippocastanum</i>	Botanička bašta	septembar	uzorci oprani vodom
AHBS3	<i>A. hippocastanum</i>	Botanička bašta	septembar	uzorci oprani hloroformom
AHKM1	<i>A. hippocastanum</i>	Karađorđev park	maj	netretirani uzorci
AHKM2	<i>A. hippocastanum</i>	Karađorđev park	maj	uzorci oprani vodom
AHKS1	<i>A. hippocastanum</i>	Karađorđev park	septembar	netretirani uzorci
AHKS2	<i>A. hippocastanum</i>	Karađorđev park	septembar	uzorci oprani vodom
AHSM1	<i>A. hippocastanum</i>	Studentski park	maj	netretirani uzorci
AHSM2	<i>A. hippocastanum</i>	Studentski park	maj	uzorci oprani vodom
AHSS1	<i>A. hippocastanum</i>	Studentski park	septembar	netretirani uzorci
AHSS2	<i>A. hippocastanum</i>	Studentski park	septembar	uzorci oprani vodom
AHZM1	<i>A. hippocastanum</i>	Zemunski park	maj	netretirani uzorci
AHZM2	<i>A. hippocastanum</i>	Zemunski park	maj	uzorci oprani vodom
AHZS1	<i>A. hippocastanum</i>	Zemunski park	septembar	netretirani uzorci
AHZS2	<i>A. hippocastanum</i>	Zemunski park	septembar	uzorci oprani vodom
APBM1	<i>A. platanoides</i>	Botanička bašta	maj	netretirani uzorci
APBM2	<i>A. platanoides</i>	Botanička bašta	maj	uzorci oprani vodom
APBS1	<i>A. platanoides</i>	Botanička bašta	septembar	netretirani uzorci
APBS2	<i>A. platanoides</i>	Botanička bašta	septembar	uzorci oprani vodom
APBS3	<i>A. platanoides</i>	Botanička bašta	septembar	uzorci oprani hloroformom
APKM1	<i>A. platanoides</i>	Karađorđev park	maj	netretirani uzorci
APKM2	<i>A. platanoides</i>	Karađorđev park	maj	uzorci oprani vodom
APKS1	<i>A. platanoides</i>	Karađorđev park	septembar	netretirani uzorci
APKS2	<i>A. platanoides</i>	Karađorđev park	septembar	uzorci oprani vodom
APSM1	<i>A. platanoides</i>	Studentski park	maj	netretirani uzorci
APSM2	<i>A. platanoides</i>	Studentski park	maj	uzorci oprani vodom
APSS1	<i>A. platanoides</i>	Studentski park	septembar	netretirani uzorci
APSS2	<i>A. platanoides</i>	Studentski park	septembar	uzorci oprani vodom
APZM1	<i>A. platanoides</i>	Zemunski park	maj	netretirani uzorci
APZM2	<i>A. platanoides</i>	Zemunski park	maj	uzorci oprani vodom
APZS1	<i>A. platanoides</i>	Zemunski park	septembar	netretirani uzorci
APZS2	<i>A. platanoides</i>	Zemunski park	septembar	uzorci oprani vodom
BPBM1	<i>B. pendula</i>	Botanička bašta	maj	netretirani uzorci

BPBM2	<i>B. pendula</i>	Botanička bašta	maj	uzorci oprani vodom
BPBS1	<i>B. pendula</i>	Botanička bašta	septembar	netretirani uzorci
BPBS2	<i>B. pendula</i>	Botanička bašta	septembar	uzorci oprani vodom
BPBS3	<i>B. pendula</i>	Botanička bašta	septembar	uzorci oprani hloroformom
BPKM1	<i>B. pendula</i>	Karađorđev park	maj	netretirani uzorci
BPKM2	<i>B. pendula</i>	Karađorđev park	maj	uzorci oprani vodom
BPKS1	<i>B. pendula</i>	Karađorđev park	septembar	netretirani uzorci
BPKS2	<i>B. pendula</i>	Karađorđev park	septembar	uzorci oprani vodom
BPZM1	<i>B. pendula</i>	Zemunski park	maj	netretirani uzorci
BPZM2	<i>B. pendula</i>	Zemunski park	maj	uzorci oprani vodom
BPZS1	<i>B. pendula</i>	Zemunski park	septembar	netretirani uzorci
BPZS2	<i>B. pendula</i>	Zemunski park	septembar	uzorci oprani vodom
TBM1	<i>Tilia spp.</i>	Botanička bašta	maj	netretirani uzorci
TBM2	<i>Tilia spp.</i>	Botanička bašta	maj	uzorci oprani vodom
TBS1	<i>Tilia spp.</i>	Botanička bašta	septembar	netretirani uzorci
TBS2	<i>Tilia spp.</i>	Botanička bašta	septembar	uzorci oprani vodom
TBS3	<i>Tilia spp.</i>	Botanička bašta	septembar	uzorci oprani hloroformom
TKM1	<i>Tilia spp.</i>	Karađorđev park	maj	netretirani uzorci
TKM2	<i>Tilia spp.</i>	Karađorđev park	maj	uzorci oprani vodom
TKS1	<i>Tilia spp.</i>	Karađorđev park	septembar	netretirani uzorci
TKS2	<i>Tilia spp.</i>	Karađorđev park	septembar	uzorci oprani vodom
TSM1	<i>Tilia spp.</i>	Studentski park	maj	netretirani uzorci
TSM2	<i>Tilia spp.</i>	Studentski park	maj	uzorci oprani vodom
TSS1	<i>Tilia spp.</i>	Studentski park	septembar	netretirani uzorci
TSS2	<i>Tilia spp.</i>	Studentski park	septembar	uzorci oprani vodom
TZM1	<i>Tilia spp.</i>	Zemunski park	maj	netretirani uzorci
TZM2	<i>Tilia spp.</i>	Zemunski park	maj	uzorci oprani vodom
TZS1	<i>Tilia spp.</i>	Zemunski park	septembar	netretirani uzorci
TZS2	<i>Tilia spp.</i>	Zemunski park	septembar	uzorci oprani vodom

Biografija

Isidora (Vladimir) Deljanin, istraživač saradnik, rođena je 23.09.1985. godine u Beogradu, gde je 2004. godine završila Treću beogradsku gimnaziju sa odličnim uspehom.

Osnovne studije na Biološkom fakultetu u Beogradu započela je 2004/2005 školske godine, a diplomirala je 2010. godine sa prosečnom ocenom 9,11 na smeru Ekologija i zaštita životne sredine. Diplomski rad pod nazivom „Gastrointestinalni paraziti sivog pacova *Rattus norvegicus* (Berk. 1769) sa šireg područja Beograda”, odbranila je sa ocenom 10 u januaru 2010. godine. Školske 2010/2011 upisala je doktorske studije na Tehnološko-metalurškom fakultetu Univerziteta u Beogradu, na studijskom programu Inženjerstvo zaštite životne sredine. Položila je sve ispite predviđene planom i programom za doktorske studije sa prosečnom ocenom 9,33. Završni ispit pod nazivom „*Platinska grupa elemenata – izvori, ponašanje i praćenje u životnoj sredini*“ je odbranila u septembru 2012. godine sa ocenom 10.

Od 01. februara 2011. godine angažovana kao saradnik na Projektu OI 172007, „Razvoj i primena metoda i materijala za monitoring novih zagađujućih i toksičnih organskih materija i teških metala“. Od februara 2011. godine je uključena u rad Laboratorije za masenu spektrometriju sa indukovano spregnutom plazmom (ICP-MS) na TMF-u. Takođe je bila angažovana i na izradi Lokalnog registra izvora zagađivanja životne sredine na teritoriji Beograda, u realizaciji Sekretarijata za zaštitu životne sredine Grada Beograda i Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu, u periodu od 2011. do 2014. godine.

Koautor je 7 radova objavljenih u časopisima međunarodnog značaja i 8 naučnih saopštenja u zbornicima radova sa međunarodnih i nacionalnih skupova.

Član je Srpskog hemijskog društva. Govori engleski, služi se španskim jezikom.

Prilog 1.

Izjava o autorstvu

Potpisani-a Isidora V. Deljanin

broj indeksa 4009/2010

Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod nazivom

Monitoring elemenata u tragovima u životnoj sredini primenom odabranih biljnih
vrsta

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,
- da predložena disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

Potpis doktoranda

U Beogradu, 13.05.2016.



Prilog 2.

Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora Isidora V. Deljanin

Broj indeksa 4009/2010

Studijski program Inženjerstvo zaštite životne sredine

Naslov rada Monitoring elemenata u tragovima u životnoj sredini primenom odabranih biljnih vrsta

Mentor Dr. Aleksandra Perić-Grujić, redovni profesor

Potpisani/a Isidora Deljanin

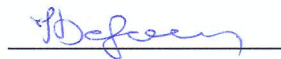
Izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la za objavljivanje na portalu Digitalnog repozitorijuma Univerziteta u Beogradu.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

Potpis doktoranda

U Beogradu, 13.05.2016.



Prilog 3.

Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

Monitoring elemenata u tragovima u životnoj sredini primenom odabranih biljnih vrsta

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

1. Autorstvo

2. Autorstvo - nekomercijalno

3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade

4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima

5. Autorstvo – bez prerade

6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci, kratak opis licenci dat je na poledini lista).

Potpis doktoranda

U Beogradu, 13.05.2016.



1. Autorstvo - Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence, čak i u komercijalne svrhe. Ovo je najslobodnija od svih licenci.
2. Autorstvo – nekomercijalno. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
3. **Autorstvo - nekomercijalno – bez prerade. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela. U odnosu na sve ostale licence, ovom licencom se ograničava najveći obim prava korišćenja dela.**
4. Autorstvo - nekomercijalno – deliti pod istim uslovima. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada.
5. Autorstvo – bez prerade. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
6. Autorstvo - deliti pod istim uslovima. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada. Slična je softverskim licencama, odnosno licencama otvorenog koda.