

UNIVERZITET U BEOGRADU
TEHNIČKI FAKULTET U BORU

Aleksandra D. Papludis

**HEMOMETRIJSKO ODREĐIVANJE 16
PRIORITETNIH POLICIKLIČNIH
AROMATIČNIH UGLJOVODONIKA U
ZEMLJIŠTU I BILJNIM DELOVIMA
BRŠLJANA, JORGOVANA I SMOKVE (SORTE
CRNA PETROVAČA) IZ BORSKOG REGIONA:
KONTEKST FITOMONITORINGA I
FITOREMEDIJACIJE**

doktorska disertacija

Bor, 2026

UNIVERSITY OF BELGRADE
TECHNICAL FACULTY IN BOR

Aleksandra D. Papludis

**CHEMOMETRIC EVALUATION OF 16
PRIORITY POLYCYCLIC AROMATIC
HYDROCARBONS IN SOILS AND PLANT
PARTS OF COMMON IVY, LILAC, AND FIG
(CV. CRNA PETROVAČA) FROM THE BOR
REGION: CONTEXT OF PHYTOMONITORING
AND PHYTOREMEDIATION**

Doctoral Dissertation

Bor, 2026

Mentor i komisija za odbranu doktorske disertacije

Mentor:

Dr Slađana Alagić, redovni profesor
Univerzitet u Beogradu - Tehnički fakultet u Boru

Članovi komisije:

Dr Snežana Milić, redovni profesor
Univerzitet u Beogradu - Tehnički fakultet u Boru

Dr Žaklina Tasić, vanredni profesor
Univerzitet u Beogradu - Tehnički fakultet u Boru

Dr Jelena Nikolić, vanredni profesor
Univerzitet u Nišu, Prirodno-matematički fakultet

Datum odbrane_____

Zahvalnica

Neizmernu zahvalnost dugujem svojoj dragoj mentorki, dr Slađani Alagić, redovnom profesoru Tehničkog fakulteta u Boru, na nesebičnoj pomoći, podršci, sugestijama i stručnom vođenju tokom svih faza izrade ove doktorske disertacije. Njena izuzetna stručnost, posvećenost i konstruktivni saveti bili su od presudnog značaja za uspešan završetak ovog rada. Zahvalna sam joj na motivaciji, inspiraciji i poverenju koje mi je ukazala tokom naše dugogodišnje saradnje, kao i na stalnom podsticanju da istražujem i razvijam svoje znanje. Njeno mentorstvo ostaviće dubok trag u mom profesionalnom razvoju.

Zahvaljujem se članovima komisije, redovnom profesoru, dr Snežani Milić, vanrednom profesoru, dr Jeleni Nikolić i vanrednom profesoru, dr Žaklini Tasić na saradnji, stručnoj pomoći i korisnim sugestijama tokom izrade ove doktorske disertacije.

Dugujem veliku zahvalnost redovnom profesoru, dr Gordani Stojanović, koja je omogućila da se eksperimentalni deo moje doktorske disertacije realizuje na Prirodno-matematičkom fakultetu u Nišu, kao i kolegamicama sa PMF-a, dr Vesni Stankov Jovanović, redovnom profesoru, dr Snežani Jevtović, vanrednom profesoru i dr Ivani Zlatanović Đaić, naučnom saradniku. Zahvaljujem se mojoj dragoj kolegici docentu, dr Dragani Medić na pomoći tokom uzorkovanja. Kolegama sa odseka za Tehnološko inženjerstvo Tehničkog fakulteta u Boru, želim da se zahvalim na saradnji i podršci tokom realizacije ovog rada, a posebno asistentu, master inž. tehnol. Aleksandru Cvetkoviću, na pomoći oko izrade mape ispitivanog područja.

Želim da izrazim duboku zahvalnost svojoj porodici za nesebičnu podršku, ljubav i strpljenje tokom celog ovog procesa. Posebnu zahvalnost dugujem svojim roditeljima, sestri Mariji, zetu Jovanu i sestriću Vanji na njihovoj podršci i verovanju koji su me pratili kroz sve izazove.

Takođe, neizmerno hvala mom suprugu Dušanu i našoj deci – Dimitriju, Jakovu i Bogdanu – za razumevanje, ohrabrenje i inspiraciju koju mi svakodnevno pružaju. Njihova ljubav i podrška bili su temelj koji mi je omogućio da istrajem i ostvarim ovaj cilj.

HEMOMETRIJSKO ODREĐIVANJE 16 PRIORITETNIH POLICIKLIČNIH AROMATIČNIH UGLJOVODONIKA U ZEMLJIŠTU I BILJNIM DELOVIMA BRŠLJANA, JORGOVANA I SMOKVE (SORTE CRNA PETROVAČA) IZ BORSKOG REGIONA: KONTEKST FITOMONITORINGA I FITOREMEDIJACIJE

Sažetak

Osnovni predmet i cilj konkretne doktorske disertacije jeste evaluacija autentičnih, tj. prirodnih fitomonitoring i fitoremedijacionih potencijala nekoliko lokalnih biljnih vrsta koje rastu u gradu Boru i njegovoj okolini, dobro poznatom centru rudarenja i prerade bakarne rude na celom Balkanskom poluostrvu, u odnosu na 16 prioriternih policikličnih aromatičnih ugljovodonika, PAU, a na bazi njihove bioakumulacije/depozicije u odabranim biljnim organima. Kao test biljke za zadate ciljeve, iskorišćene su tri vaskularne, višegodišnje biljne vrste: jorgovan (*Syringa vulgaris* L.), SV, smokva (*Ficus carica* L.), FC, sorta crna Petrovača i bršljan (*Hedera helix* L.), HH, koje, po literaturnim podacima, ranije nisu bile ispitivane u ovom pogledu. Ove vrste bile su detektovane na svim lokacijama od interesa, tako da su sa njih uzorkovani, osušeni i dalje analizirani odgovarajući nadzemni delovi (kao neoprani), ali i (oprano) korenje sa korespondirajućim zemljištem iz odgovarajućih korenskih zona. Ocena posmatranih biljnih potencijala izvedena je hemometrijskim pristupom i izračunavanjem stopa akumulacije za svako pojedinačno jedinjenje PAU, u svakom uzorku korenja ispitivanih biljnih vrsta (takozvani biokoncentracioni faktori, BCF, izraženi kroz odnose koncentracija istovetnih jedinjenja u korenu i korespondentnom zemljištu). Hemometrijski pristup sproveden je najsavremenijom analitikom za izolovanje i kvalitativnu i kvantitativnu analizu PAU, kao što je gasna gromatografija sa masenom spektrometrijom, GC/MS, asistirana relativno novom i delimično modifikovanom QuEChERS tehnikom pripreme biljnih i zemljišnih uzoraka, uz kombinaciju sa odgovarajućim statističkim metodama: hijerarhijska klaster analiza, HCA i Pearson-ova korelaciona studija, PCS. Statističkim metodama ispitani su i ilustrovani: 1) uticaj udaljenosti lokacije, U, od industrijske zone u Boru (kao potencijalno glavnog izvora PAU u celom regionu), na detektovane koncentracije PAU u svim ispitivanim matriksima, 2) uticaji merenih zemljišnih parametara poput: vrednosti pH i električnog konduktiviteta, EC, sadržaja organske materije, OM, ali i zemljišnih koncentracija PAU na sadržaje PAU u matriksu korena, 3) odnosi između pojedinačnih PAU u različitim nadzemnim delovima i 4) odnosi pojedinačnih PAU u istom ispitivanom matriksu. Dodatno, detektovane zemljišne koncentracije PAU, upoređene su sa graničnim koncentracijama definisanim u odgovarajućim zakonskim propisima, ali i sa koncentracijama na istim lokacijama iz ranijeg perioda.

Rezultati doktorske disertacije obezbedili su mnoge korisne i originalne informacije u vezi sa osnovnim definisanim ciljevima, a na prvom mestu - ispunjen je njen glavni cilj, tj., na ispitivanoj teritoriji detektovane su i analizirane čak tri vaskularne biljne vrste, koje ranije nisu bile istražene u pogledu prirodnih biljnih remedijacionih i monitoring potencijala. Još jedan od opštih zaključaka jeste da dizajnirani hemometrijski pristup, uz izračunavanje BCF, pruža pouzdanu osnovu u formulaciji preciznih zaključaka o studiranim potencijalima biljaka, te se na taj način može iskoristiti i u odnosu na druge neispitane vrste biljaka. U konkretnijem smislu, mogu se istaknuti sledeći zaključci:

- U okviru odabranog hemometrijskog pristupa, uspešno je izvedena i delimična modifikacija QuEChERS tehnike, a pre svega vezano za prečišćavanje PAU iz biljnih uzoraka, gde je, po prvi put, dijatomejska zemlja primenjena kao sorbent u ekstrakciji disperznom čvrstom fazom. Suštinski, rezultati optimizacije ovog postupka potvrdili su da su svi parametri obezbeđenja kvaliteta i tačnosti kvalitativne i kvantitativne analize PAU u biljnim (i u zemljišnim) uzorcima bili na neophodnom nivou.

- GC/MS analiza biljnog i zemljišnog materijala pružila je dokaze da su koncentracije pojedinačnih PAU varirale po lokacijama i to ne samo u okviru istih matriksa, već i okviru svake pojedinačne vrste, pa samim tim i kod različitih biljnih vrsta. Frekventnost i obilnost pojedinačnih PAU bile su na različitim nivoima, a često su neki PAU bili i ispod granice detekcije. Ovo je bilo posebno uočljivo u slučajevima BgP i IcP, koji su na svim lokacijama, bez izuzetka, bili ispod granice detekcije. Dodatno, BaP i CHR nisu detektovani kod uzoraka korena (osim na jednoj lokaciji) i konačno, BaP nije bio detektovan kod svih uzoraka nadzemnih delova. Ovakvi nalazi bili su ujedno i prvi signali da BaP, ali u velikoj meri i CHR, inače dobro poznata kancerogena jedinjenja za ljude, najverovatnije predstavljaju i izuzetno opasna jedinjenja za sve ispitivane biljne vrste. Izbegavanje njihovog usvajanja bilo je izrazito i očigledno i to najviše u slučaju korena. Stanje sa nadzemnim delovima nije bilo tako jasno, jer su oni bili analizirani kao neoprani; zato je slučaj izostajanja BaP u njima, više bio u korist pretpostavke da, u periodu uzorkovanja, verovatno nije ni bilo njegove emisije u ispitivanoj oblasti. Istovremeno, može se konstatovati da je ogromna većina analiziranih PAU u zemljištu bila detektovana na skoro svim lokacijama, kao i da je u ovom matriksu, najveća koncentracija bila zabeležena za Flt kod SV, u urbano/industrijskoj zoni, na mestu BN: 1504 µg/kg. Interesantno, najveći korenski sadržaj bio je zabeležen za Flr kod iste biljke, SV, na ruralnom mestu G: 4990 µg/kg, a i najveći sadržaj u nadzemnim delovima je bio nađen kod SV i to za DhA u grančicama, na urbano/industrijskom mestu BN: 1200,9 µg/kg.

- Ovako raznoliko činjenično stanje nije neočekivano, jer jedinjenja poput NM PAU poseduju relativno jednostavne molekulske strukture, kao i pogodne fizičke i hemijske osobine, za olakšanu ekstrakciju korenom, dok se za VM jedinjenja može pretpostaviti da je i uloga izlučenih korenskih ekskudata, kao i membranskih lipida i transmembranskih proteina, bila veoma važna za predmetnu korensku ekstrakciju/akumulaciju, tako da se ni ona ne može isključiti iz pomenutih procesa, kao što se ne može isključiti ni uticaj važnih zemljišnih parametara: pH, OM i EC. Međutim, kada je PCS bila izvedena u odnosu na ove parametre, bilo je očigledno da se oni, osim u nekoliko retkih situacija, ne mogu označiti kao kontrolišući faktori pri usvajanju PAU iz zemljišta. PCS je dodatno ukazala da ni koncentracije istovetnih individualnih PAU u zemljištu i korenu nisu bile u značajnim korelacijama, što znači da koncentracije korespondentnih individualnih zemljišnih PAU nisu imale odlučujuću ulogu pri usvajanju tih (istih) jedinjenja u korenu, dok su, istovremeno, neke druge (statistički značajne) korelacije, koje se odnose na različita (nekorespondirajuća) zemljišna i korenska jedinjenja pokazala sinergističke, ali i kompetitivne odnose među sobom (oni se zato, u izvesnoj meri mogu smatrati uticajnim faktorima). Najviše statistički značajnih korelacija (i to pozitivnih) bilo je nađeno među različitim ispitivanim jedinjenjima zemljišnih PAU, posmatrano po selektovanim lokacijama, što sugeriše njihovo zajedničko poreklo, najverovatnije, atmosfersko i to pre svega, antropogene prirode. Rezultati PCS su takođe pokazali i da parametar U, osim u veoma retkim slučajevima, nije imao presudni uticaj na iznos koncentracija pojedinačnih PAU u različitim ispitivanim matriksima i time potvrdili da industrijska zona u Boru, sa gradskom toplanom i rudarsko/metalurškim kompleksom, ne predstavlja ni glavni, ni jedini izvor PAU jedinjenja u celom regionu, već da se tu mogu ubrojati i saobraćaj, kućna ložišta u individualnim domaćinstvima, spaljivanje strništa, roštiljanje u prirodi, spontani, tinjajući požari na gradskoj deponiji, ali i

povremeni spontani šumski požari. Kada je u pitanju parametar U, jedino se za sadržaje DhA (mogući kancerogen za ljude) u neopranim grančicama i lišću FC sa sigurnošću može tvrditi da su oni (u vreme uzorkovanja), poticali, pre svega, iz industrijske zone u Boru, jer su se jedino u slučaju ovog jedinjenja pojavile izrazito značajne negativne korelacije za obe vrste ispitivanih nadzemnih delova.

- Značajno je i da su jedino koncentracije DhA u zemljištu FC, na urbano/industrijskom mestu NS (128 µg/kg), prevazilazile odgovarajuće USEPA granične vrednosti za rezidencijsko zemljište. Međutim, kada je izvršeno izračunavanje sume svih detektovanih PAU u zemljištu svake lokacije, bilo je jasno da nijedan od ispitanih uzoraka ne pripada kategoriji nezagađenih zemljišta. Svi ovi nalazi ukazuju na neophodnu primenu prigodnih ekoloških mera zaštite zemljišta u celokupnom posmatranom regionu. Na kraju i visoki sadržaji DhA u nadzemnim biljnim delovima na skoro svim lokacijama (često iznad USEPA graničnih vrednosti za zemljište), kao i visoki iznosi suma ukupnih PAU, podržavaju ne samo preporuku o merama očuvanja zdravlja zemljišta, već i vazduha, jer je očigledno da je značajna količina PAU u/na ispitivane biljke dospela direktno iz atmosfere.

- Uprkos svim ovim činjenicama i specifičnostima, sve ispitivane vrste biljaka uspešno su rasle na svojim prirodnim staništima, bez odražavanja bilo kakvih vidljivih simptoma toksičnosti PAU, što ih kandiduje kao perspektivne i otporne vrste, pogodne za opstanak i obnavljanje vegetacije na kontaminiranim mestima. Značajnu ulogu u otpornosti ovih biljaka verovatno igra jačanje imunog odgovora i razvijanje tolerantnosti prema ispitivanim jedinjenjima PAU, a što se pre svega ogleda kroz razvoj specifičnih taktika u korenskom usvajanju/akumulaciji PAU. Najtačniji uvid u sposobnost ispitivanih vrsta za bioakumulaciju u korenu, pa i za izbegavanje usvajanja PAU, pružili su njihovi BCF (za svako individualno jedinjenje, na svakoj lokaciji). Naime, BCF kod svih ispitivanih biljnih vrsta, pokazali su da su njihove vrednosti bile na najrazličitijim nivoima, ali i da su jedinjenja poput Flr, BkF+BbF i DhA, generalno govoreći, bila najefektnije usvajana/akumulirana, dok su jedinjenja BaP i CHR, bila potpuno isključena iz usvajanja korenom (osim na jednoj lokaciji za CHR). I samo variranje i neujednačenosti kod BCF za NM i VM PAU, pružilo je potvrdu da hemijska struktura, kao i fizičko-hemijske osobine samih jedinjenja nisu imale neki značajniji uticaj na procese tokom usvajanja i akumulacije PAU u korenu. Može se reći da je uloga biljnih vrsta samih po sebi, bila presudna i da je jedini pouzdani zaključak, da su sve ispitivane vrste bile sposobne da koncentrišu značajne količine različitih PAU u svom korenju (a posebno Flr, BkF+BbF i DhA), te da su, kao takve, sve vrste primenjive u fitostabilizaciji PAU, kao fitoremedijacijskoj metodi koja praktično sprečava širenje PAU kontaminacije u zemljištu. Nije isključeno da su korenski ekskudati ispitivanih biljaka imali određenu ulogu i u degradaciji, precipitaciji i drugim potencijalnim procesima sa PAU u samom zemljištu (sve to moguće u saradnji sa rizosfernim mikrobima), tako da je vrlo verovatno da se ispitane vrste mogu primeniti i u metodi rizodegradacije (što bi trebalo detaljnije sagledati u budućim istraživanjima).

- Međutim, pokazalo se da, iako sposoban da koncentriše i toleriše značajne količine PAU, koren ipak ne može tačno da odrazi trenutno stanje PAU u zemljištu (kako u odnosu na sumu, tako i u odnosu na pojedinačna jedinjenja), što je najilustrativnije prikazano kroz kreirane hijerarhijske dendrograme, a što ga dalje eliminiše u pogledu primene u tačnom i preciznom monitoringu, tj. praćenju stanja zemljišnog zagađenja. Korisnije je pratiti koncentracije u samim zemljišnim uzorcima.

- Rezultati PCS sugerišu da je najveći broj ispitivanih jedinjenja PAU dospela u zemljište u različito, ali pre svega - skorije vreme i to dominantno iz atmosfere (verovatno primarno iz antropogenih aktivnosti), dok je jedino BaP bio preovlađujuće prirodnog porekla (najverovatnije biogenog, ili dijagenetskog). Proces starenja nekih PAU, a pre svega BaP u uzorkovanim

zemljištima je takođe bio moguć, a bilo je moguće i njihovo formiranje na sve poznate načine: pirogenim, petrogenim, biogenim i dijagenetskim putem.

- Doprinos prave bioakumulacije u sadržaju PAU kod nadzemnih biljnih delova bio je najveći u slučaju SV; kod HH i FC, doprinos atmosferske depozicije bio je veoma značajan. Ove činjenice je neophodno ugraditi u planirane postupke fitomonitoringa, kako bi se dobilo što tačnije tumačenje rezultata, a posebno rezultata HCA. Može se konstatovati da su nadzemni delovi svih ispitivanih biljnih vrsta pogodni za primenu u monitoringu sezonskog tipa i to pre svega njihovo lišće.

Ključne reči: hemometrija, policiklični aromatični ugljovodonici, fitoremedijacija, fitomonitoring, *Syringa vulgaris* L., *Ficus carica* L. (sorta crna Petrovača), *Hedera helix* L., modifikacija i optimizacija QuEChERS tehnike, bioakumulacija, depozicija

Naučna oblast: Tehnološko inženjerstvo

Uža naučna oblast: Hemija, hemijska tehnologija i hemijsko inženjerstvo

UDK broj: 502/504(043.3)

502.175(043.3)

504.5(043.3)

CHEMOMETRIC EVALUATION OF 16 PRIORITY POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS IN SOILS AND PLANT PARTS OF COMMON IVY, LILAC, AND FIG (CV. CRNA PETROVAČA) FROM THE BOR REGION: CONTEXT OF PHYTOMONITORING AND PHYTOREMEDIATION

Abstract

Basic objective and aim of the concrete doctoral dissertation is evaluation of the authentic, i.e., natural phytomonitoring and phytoremediation potentials of several local plant species growing in the city of Bor and its surrounding (a well known centre of copper ore mining and processing at the whole Balkan peninsula), with regard to 16 priority polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs, on the basis of their bioaccumulation/deposition in the selected plant organs. As test-plants for the defined goals, three vascular, perennial, plant species were used: common lilac (*Syringa vulgaris* L.), SV, fig (*Ficus carica* L.), FC, cultivar crna Petrovača, and ivy (*Hedera helix* L.), HH, which were not investigated earlier with this regard (according to the literature data). These species were detected at all location of interest, and from them, the related plant samples were taken, dried, and analyzed (aboveground parts as unwashed, and roots as washed), including the soils from their corresponding rooting zones. Estimation of the considered plant potentials is performed by chemometric approach and by the calculation of accumulation rates for each PAH compound in each root sample of the investigated plant species (the so called bioconcentration factors, BCFs, expressed thorough relations of concentrations of same compounds in the root and the corresponding soil). Chemometric approach is realized by modern analytics for PAH isolation, and their qualitative and quantitative analysis, such as gass chromatography with mass spectrometry, GC/MS, assisted by relatively new and partially modified QuEChERS technique for the preparation of plant and soil samples, in combination with related statistical methods: hierarchical cluster analysis, HCA and Pearson's correlation study, PCS. Statistical methods were used for the investigation and illustration of: 1) impact of location distance, U, from the industrial zone in Bor (as a potentially main source of PAHs in the complete region), on detected concentrations of PAHs in each investigated matrix, 2) influences of measured soil parameters such as: pH, electrical conductivity, EC, organic matter, OM, as well as soil PAH concentrations on PAH contents in the root matrix, 3) relations between individual PAHs in different aboveground parts, and 4) relations of individual PAHs in the same investigated matrix. Additionally, detected soil concentrations of PAHs were compared with the limit concentrations defined in the related legal regulations but also with the concentrations at the same locations from an earlier period.

The results of doctoral dissertation provided many useful and original informations regarding the basic defined goals but, at the first place - the realisation of its main goal was fulfilled, i.e., at the investigated territory, even three vascular plant species (which were not examined earlier regarding their natural remediation and monitoring potentials), were found and analyzed. One more of general conclusions was that the designed chemometric approach, together with the calculation of BCFs, offers a secure basis in formulation of accurate conclusions on studied plant potentials, and consequently, it can be used also for other non-investigated species. Some of the most concrete highlights are:

- As a part of the selected chemometric approach, a partial modification of QuEChERS technique is accomplished in a very effective way, generally related to PAH purification of plant samples, where

the diatomaceous earth was applied for the very first time as a sorbent in the dispersion solid phase extraction. Essentially, the results of optimization of this procedure confirmed that all parameters of quality assurance and accuracy of qualitative and quantitative analysis of PAHs in plant (and soil) samples were at the necessary level.

- GC/MS analysis of plant and soil material proved that the concentrations of individual PAHs varied between locations, not only amongst the same matrices but also among each individual species, and consequently – between different plant species. Frequency and abundance of individual PAHs were at different levels and many of them were below the detection limit. This was recognized especially in the case of BgP, and ICP, which were below the detection limit at all locations, without any exception. In addition, BaP, and CHR were not detected in root samples (except one location), and finally, BaP was not detected in all samples of the aboveground parts. At the same time, these findings were the very first signs that BaP, and CHR (in a great extent), well known carcinogenic compounds for humans, also represent, most probably, very dangerous compounds for all investigated plant species. Avoiding of their uptake was the most distinctly and obvious in the case of plant roots. Situation with the aboveground parts was not so clear, because they were analysed as unwashed, so that, the absence of BaP in them, was more in the favor of an assumption that, during the sampling period, there was not its emission in the investigated area. At the same time, it can be stated that a majority of the analysed PAHs in soil was detected at almost all locations, as well as that the highest concentration in this matrix was recorded for Flt in SV, in urban/industrial zone, at the site BN: 1504 µg/kg. It is interesting that the biggest root content was recorded for Flr, in the same plant, SV, at the rural site G: 4990 µg/kg, as well as the biggest content in the aboveground parts, which was found for DhA in stems of SV, at the urban/industrial site BN: 1200.9 µg/kg.

- This different factual situation is not unexpected, because compounds like NM PAU have relatively simple molecular structures as well as finest physical and chemical attributes, for a facilitated root extraction, while for VM compounds it can be assumed that the role of secreted root exudates, as well as of membrane lipids and transmembrane proteins, was very important for the root extraction/accumulation, so that they cannot be excluded from the mentioned processes; influence of important soil parameters: pH, OM, and EC, cannot be excluded, too. However, when PCS were performed with regard to these parameters, it was obvious that they can not be marked as controlling factors during PAH uptake from soil, except in several rare situations. Additionally, PCS pointed that the concentrations of the same individual PAHs in the soil and roots were not significantly correlated, which means that the concentrations of the corresponding individual soil PAHs did not have a decisive role in the adoption of those (the same) compounds in the roots, while, at the same time, some other (statistically significant) correlations, which refer to different (non-corresponding) soil and root compounds, showed synergistic but also some competitive relationships among themselves (therefore, to a certain extent, they can be considered as influential factors). Most of the statistically significant correlations (mostly positive ones) were found among the different examined compounds of soil PAHs, observed by selected locations, which suggests their common origin, most likely, atmospheric and above all, anthropogenic in nature. The PCS results also showed that the parameter U, except in very rare cases, did not have a decisive influence on the amount of concentrations of individual PAHs in the various tested matrices and thus confirmed that the industrial zone in Bor, with the city heating plant and the mining/metallurgical complex, is neither the main nor the only source of PAH compounds in the entire region, but also: traffic, home fireplaces in individual households, stubble burning, barbecues in nature, spontaneous, smoldering fires at the city landfill, and also occasional spontaneous forest

fires. Considering parameter U, only the contents of DhA (possible carcinogen for humans) in unwashed stems and leaves of FC can be asserted with certainty that they (at the time of sampling) originated, first of all, from the industrial zone in Bor; only for this compound extremely significant negative correlations existed for both types of examined aboveground parts.

- It is significant that only the concentrations of DhA in the soil of FC, in the urban/industrial site NS (128 µg/kg), exceeded the corresponding USEPA limit values for residential soil. However, when the sum of all detected PAHs in the soil of each location was calculated, it was clear that none of the examined samples belonged to the category of uncontaminated soils. All these findings point to the necessary application of suitable ecological measures for soil protection in the entire observed region. Finally, high DhA contents in the aboveground plant parts at almost all locations (often above the USEPA limit values for soil), as well as the high amounts of sums of total PAHs, support not only the recommendation of measures that preserve the health of soil, but also of the air, because it is obvious that a significant amount of PAHs in/on the examined plants came directly from the atmosphere.

- Despite all these facts and specificities, all examined plant species successfully grew in their natural habitats, without showing any visible symptoms of PAH toxicity, which makes them promising candidates as resistant species, suitable for the survival and restoration of vegetation in contaminated locations. A significant role in the resistance of these plants is probably realised by the strengthening of the immune system and the advance of tolerance to the tested PAH compounds, which is primarily reflected in the development of specific tactics in the root uptake/accumulation of PAHs. The most accurate insight into the ability of the tested species to bioaccumulate in roots, or even to avoid PAH uptake, was realised by their BCFs (for each individual compound, at each location). Namely, BCFs in all tested plant species showed that their values were at the most different levels, but also that compounds like Flr, BkF+BbF and DhA, were adopted/accumulated most effectively, while BaP and CHR were completely excluded from root adoption (except at one location for CHR). Variations and inconsistencies in BCFs for NM and VM PAHs, by themselves, provided a confirmation that the chemical structure, as well as the physicochemical properties of the compounds, did not have any significant influence on the processes during uptake and accumulation of PAHs in the roots. It can be said that here, the role of the plant species itself was crucial and that the only reliable conclusion can be that all tested species were able to concentrate significant amounts of different PAHs in their roots (especially Flr, BkF+BbF and DhA); in this way, all plant species are applicable in the phytostabilization of PAHs, as a phytoremediation method that practically prevents the spread of PAH contamination in the soil. It is not excluded that the root exudates of the tested plants had a certain role in the degradation, precipitation and other potential processes with PAHs in the soil (all this possible in cooperation with rhizosphere microbes), so it is possible that the tested species can also be used in the rhizodegradation method (which should be examined in more detail in future research).

- Although capable of concentrating and tolerating significant amounts of PAHs, the roots still cannot accurately reflect the current state of PAHs in the soil (neither in relation to the sum, nor in relation to individual compounds), which is most illustratively shown through the created hierarchical dendrograms, and which further eliminates them as applicable in an accurate and precise monitoring of land pollution. It is more useful to monitor the concentrations in the soil samples themselves.

- The PCS results suggest that the vast majority of tested PAH compounds entered the soil in different, but mostly, recent times and predominantly from the atmosphere (probably primarily from anthropogenic activities), while only BaP was predominantly of natural origin (most likely

biogenic, or diagenetic). The aging process of some PAHs, especially BaP, in the sampled soils was also possible. Their formation in all known ways (pyrogenic, petrogenic, biogenic and diagenetic) was also possible.

- The contribution of real bioaccumulation in the content of PAHs in the aboveground plant parts was the highest in the case of SV. In the case of HH, and FC, the contribution of atmospheric deposition was very significant. It is necessary to incorporate these facts into the planned phytomonitoring procedures, in order to obtain the most accurate interpretation of the results, especially HCA results. Nevertheless, it can be stated that the aboveground parts of all examined plant species are suitable for use in a seasonal type of monitoring (above all their leaves).

Key words: chemometry, Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, phytoremediation, phytomonitoring, *Syringa vulgaris* L., *Ficus carica* L. (cv. crna Petrovača), *Hedera helix* L., modification and optimization of QuEChERS technique, bioaccumulation, deposition

Scientific field: Technological engineering

Scientific subfield: Chemistry, chemical technology, and chemical engineering

UDK number: 502/504(043.3)

502.175(043.3)

504.5(043.3)

Sadržaj

1.	Uvod: Policiklični aromatični ugljovodonici (PAU) kao mikro-polutanti u životnoj sredini	str. 1
2.	Teorijske osnove sa literaturnim pregledom podataka...	4
2.1.	Izvori i sudbina PAU u životnoj sredini.....	4
2.2.	PAU u zemljištu.....	8
2.3.	PAU u biljkama.....	9
2.3.1.	PAU u biljkama: Toksičnost i detoksifikacija.....	9
2.3.2.	PAU u biljkama: Usvajanje i ponašanje.....	12
2.3.3.	PAU u biljkama: Procesi u rizosferi.....	15
2.4.	Fitomonitoring i fitoremedijacija kao dve ekološki poželjne metode u kontroli i zaštiti životne sredine u odnosu na PAU.....	15
2.4.1.	Fitoremedijacija.....	16
2.4.1.1.	Fitoekstrakcija/fitoakumulacija.....	17
2.4.1.2.	Fitodegradacija.....	18
2.4.1.3.	Fitostabilizacija.....	19
2.4.1.4.	Rizodegradacija.....	19
2.4.1.5.	Fitovolatilizacija.....	20
2.4.2.	Fitomonitoring.....	21
2.5.	Hemometrija u analizi i karakterizaciji PAU iz biljnih i zemljišnih uzoraka: Značaj za fitomonitoring i fitoremedijaciju	21
2.5.1.	Metode izolovanja i hemijske detekcije PAU kao deo hemometrijske karakterizacije i analize biljnih i zemljišnih uzoraka.....	22
2.5.1.1.	Tehnike ekstrakcije PAU.....	24
2.5.1.1.1.	Ekstrakcija po Soxhlet-u.....	24
2.5.1.1.2.	Ekstrakcija rastvaračima koji se kreću velikom brzinom (ASE) / Ekstrakcija rastvaračem pod pritiskom (PFE).....	26
2.5.1.1.3.	Ultrazvučna ekstrakcija.....	26
2.5.1.1.4.	Mikrotalasna ekstrakcija (MAE).....	27
2.5.1.1.5.	Alkalna saponifikacija sa ekstrakcijom tečno-tečno.....	27
2.5.1.1.6.	Ekstrakcija superkritičnim fluidima (SFE).....	27
2.5.1.1.7.	Mikroekstrakcija tečnom fazom (LPME).....	29
2.5.1.1.8.	Ekstrakcija čvrstom fazom (SPE) i mikroekstrakcija čvrstom fazom (SPME)...	29
2.5.1.1.9.	Magnetna ekstrakcija čvrstom fazom (MSPE).....	30
2.5.1.1.10.	Poređenje pojedinih tehnika koje se mogu koristiti za ekstrakciju PAU.....	31
2.5.1.2.	Prečišćavanje dobijenih ekstrakata.....	31
2.5.1.3.	QuEChERS tehnika kao relativno nova metoda izolovanja PAU.....	33
2.5.1.4.	Gasna hromatografija u detekciji PAU.....	34
2.5.1.5.	Gasna hromatografija sa masenom spektrometrijom u detekciji PAU.....	38
2.5.1.6.	Postupak dokazivanja da analitička metoda ispunjava određene uslove za široku primenu – validacija metode.....	42
2.5.2.	Statističke metode kao deo hemometrijske karakterizacije i analize PAU u biljnim i zemljišnim uzorcima.....	42
2.5.2.1.	Pregled najprimenijvanijih statističkih metoda.....	43

2.5.3.	Primeri studija sa hemometrijskim pristupom u analizi i karakterizaciji PAU prisutnim u zemljišnim i biljnim uzorcima.....	47
3.	Osnovne polazne hipoteze i cilj rada.....	58
4.	Eksperimentalni deo.....	61
4.1.	Opis mesta istraživanja.....	61
4.2.	Opis ispitivanih biljnih vrsta.....	64
4.3.	Uzorkovanje i preliminarna priprema biljnog i zemljišnog materijala.....	67
4.3.1.	Mereni zemljišni parametri.....	67
4.4.	Izolovanje i instrumentalna analiza PAU iz biljnog i zemljišnog materijala sa obezbeđenjem i kontrolom kvaliteta.....	68
4.4.1.	Korišćeni reagensi.....	68
4.4.2.	Procedura pripremanja standardnih rastvora PAU.....	68
4.4.3.	Modifikacija i optimizacija postupka QuEChERS tehnike za izolovanje PAU.....	69
4.4.3.1	Procedura GC/MS analize.....	70
4.5.	Metode procesuiranja rezultata dobijenih hemijskom analizom	72
5.	Rezultati i diskusija.....	73
5.1.	Rezultati optimizacije modifikovane QuEChERS tehike za izolovanje PAU iz biljnih i zemljišnih uzoraka.....	73
5.2.	Rezultati hemometrijske analize ispitivanih biljnih vrsta: Aspekti fitoremedijacije i fitomonitoringa.....	74
6.	Zaključak.....	103
	Literatura.....	107
	Prilog 1: Tabelarni prikazi rezultata Pearson-ove korelacione studije.....	119
	Prilog 2: Biografija autora	
	Prilog 3: Izjave autora	

1. Uvod: Policiklični aromatični ugljovodonici (PAU) kao mikro-polutanti u životnoj sredini

Policiklični aromatični ugljovodonici (PAU, ili eng. *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*, PAHs) su jedinjenja složene strukture koja sadrže dva, ili više kondenzovanih benzenovih prstenova (Jia i sar., 2021; Zhu i sar., 2023). Pripadaju grupi organskih zagađujućih materija, koje imaju osobinu dugotrajnog opstanka u životnoj sredini (takozvani perzistentni organski polutanti, POPs). Oni nastaju kao produkti nepotpunog sagorevanja organskih materija, a najčešće fosilnih goriva - nafte, uglja, prirodnog gasa, drveta, itd. (Papludis i sar., 2022).

U istraživanjima, najčešće se proučava 40-tak PAU jedinjenja. Međutim, postoji više od 100 jedinjenja koja pripadaju ovoj grupi polutanata. Šesnaest jedinjenja PAU, Američka agencija za zaštitu životne sredine (eng. *United States Environmental Protection Agency*, USEPA) postavila je na listu prioritetnih polutanata koji se obavezno prate u industrijskim emisijama (u literaturi poznati kao ukupni PAU, ili PAHs, ili ΣPAHs) i to su: naftalen, Nap; acenaftilen, Acy; acenaften, Ace; fluoren, Flr; fenantren, Phe; antracen, Ant; fluoranten, Flt; piren, Pyr; benzo(a)antracen, BaA; hrizen, CHR; benzo(b)fluoranten, BbF; benzo(k)fluoranten, BkF; benzo(a)piren, BaP; dibenzo(a,h)antracen, DhA; indeno(1,2,3-cd)piren, IcP i benzo(g,h,i)perilen, BgP. Sedam od tih jedinjenja se smatra potencijalno kancerogenim po ljude, uključujući: BaA, BaP, BbF, BkF, DhA, CHR i IcP (Tabela 1.) (Alagić i sar., 2015; Kariyawasam i sar., 2022; Papludis i sar., 2022; Sakshi i sar. 2019).

Iako prisutni u mikro-koncentracijama u životnoj sredini, ovih 16 PAU smatraju se prioritetnim kontaminantima ne samo zbog svojih kancerogenih, već i mutagenih i teratogenih osobina. Inhalacija PAU najčešće predstavlja rizik od raka pluća, mada ljudi mogu biti izloženi PAU putem kontakta preko kože, ingestijom, ili udisanjem zagađujuće materije iz kontaminiranog vazduha i zemljišta. Produžena izloženost zagađenju od strane PAU može uticati na zdravlje uzrokujući oboljenja kao što su: oštećenje jetre i bubrega, pad imuniteta, katarakta, respiratorna oboljenja, rak kože, želuca i pluća, kardiotsičnost, ateroskleroza i apoptoza endotelnih ćelija (Rusănescu i sar., 2025). Prema brojnim istraživanjima oni se smatraju najopasnijim polutantima među ugljovodonicima. Kao rezultat sposobnosti bioakumulacije u tkivima živih organizama, ove opasne supstance mogu se akumulirati u lancima ishrane, što u nekim slučajevima može izazvati ozbiljne zdravstvene probleme i nasledne bolesti. Interakcije između PAU u životnoj sredini, koji se uglavnom javljaju u kombinacijama, a ne kao pojedinačni PAU, mogu pojačati kancerogene efekte ovih jedinjenja (Mogashane i sar., 2024).

Većina PAU jedinjenja je izrazito lipofilna (na osnovu vrednosti particionog koeficijenta oktanol/voda, Kow, što ih čini rastvornim u širokom spektru organskih rastvarača), tj. ova jedinjenja rastvorna su u mastima, dok su u vodi slabo rastvorna (osim nekih PAU sa niskom molekulskom masom) (Tabela 1.) (Alagić i sar., 2015; Schwab i Dermody, 2021). Najčešća podela na osnovu molekulске mase je sledeća: PAU male molekulске mase, takozvani nisko-molekularni, NM PAU i PAU velike molekulске mase koji u svom molekulu sadrže od 4-7 prstenova, takozvani visoko-molekularni, VM PAU (Mogashane i sar., 2024; Sumathi i sar., 2023); po potrebi, njihova podela se može prikazati i sa PAU srednje molekulске mase, SM PAU (Tabela 1.) (Alagić i sar.,

2015). Pokazalo se da su NM PAU nekancerogeni, iako uzrokuju akutnu toksičnost, dok VM PAU poseduju mutagene, teratogene i kancerogene osobine, a imaju relativno nižu toksičnost (Rusănescu i sar., 2025).

Šesnaest prioriternih EPA PAU prikazano je u Tabeli 1., dok su njihove strukture date na Slici 1.

Tabela 1. 16 EPA PAU i neke od fizičko-hemijskih osobina (adaptirano iz Alagić i sar., 2015)

Jedinjenje/Skraćenica	Molekulska masa	Rastvorljivost (µg/L)	Napon pare ^a (mm Hg)	Henrijeva konstanta ^b (atm m ³ /mol)	LogKow	LogKoc
PAU male molekulske mase (nisko-molekularni, NM PAU)						
Naftalen / Nap	128,19	31,69	0,087	4,83·10 ⁻⁴	3,36	2,97
Acenaftilen / Acy	152,20	3,930	2,9·10 ⁻²	1,45·10 ⁻³	4,07	1,40
Acenaften / Ace	154,21	1,930	4,5·10 ⁻³	7,91·10 ⁻⁵	3,98	3,66
Fluoren / Flr	166,20	1,680 – 1,980	3,2·10 ⁻⁴	1,00·10 ⁻⁴	4,18	3,86
Antracen / Ant	178,20	76	1,7·10 ⁻⁵	1,77·10 ⁻⁵	4,45	4,15
Fenantren / Phe	178,20	1,200	6,8·10 ⁻⁴	2,56·10 ⁻⁵	4,45	4,15
PAU srednje molekulske mase (srednje-molekularni, SM PAU)						
Fluoranten / Flt	202,26	200 – 260	5,0·10 ⁻⁶	6,50·10 ⁻⁶	4,90	4,58
Piren / Pyr	202,30	77	2,5·10 ⁻⁶	1,14·10 ⁻⁵	4,88	4,58
Benzo(a)antracen ^c / BaA	228,29	10	2,2·10 ⁻⁸	1,00·10 ⁻⁶	5,61	5,30
Hrizen ^c / CHR	228,30	2,8	6,3·10 ⁻⁷	1,05·10 ⁻⁶	5,16	5,30
PAU velike molekulske mase (visoko-molekularni, VM PAU)						
Benzo(a)piren ^c / BaP	252,30	2,3	5,6·10 ⁻⁹	4,90·10 ⁻⁷	6,06	6,74
Benzo(b)fluoranten ^c / BbF	252,30	1,2	5,0·10 ⁻⁷	1,22·10 ⁻⁵	6,04	5,74
Benzo(k)fluoranten ^c / BkF	252,30	0,76	9,6·10 ⁻¹¹	3,87·10 ⁻⁵	6,06	5,74
Indeno(1,2,3-cd)piren ^c / IcP	276,30	62	1·10 ⁻¹¹ – 1·10 ⁻⁶	6,95·10 ⁻⁸	6,58	6,20
Benzo(g,h,i)perilen / BgP	276,34	0,26	1·10 ⁻¹⁰	1,44·10 ⁻⁷	6,50	6,20
Dibenzo(a,h)antracen ^c / DhA	278,35	0,5	1·10 ⁻¹⁰	7,30·10 ⁻⁸	6,84	6,52

Kow – particioni koeficijent oktanol/voda (indikacija potencijala jedinjenja za raspodelu između vodene i lipidne faze; korelacioni faktor za biokonzentraciju); Koc – particioni koeficijent organskog ugljenika (indikacija potencijala jedinjenja za vezivanje na organski ugljenik iz zemljišta, ili sedimenta)

a, b – parametri koji indikuju potencijal volatilizacije jedinjenja; c – mogući kancerogeni za ljude (klasifikacija od strane USEPA)

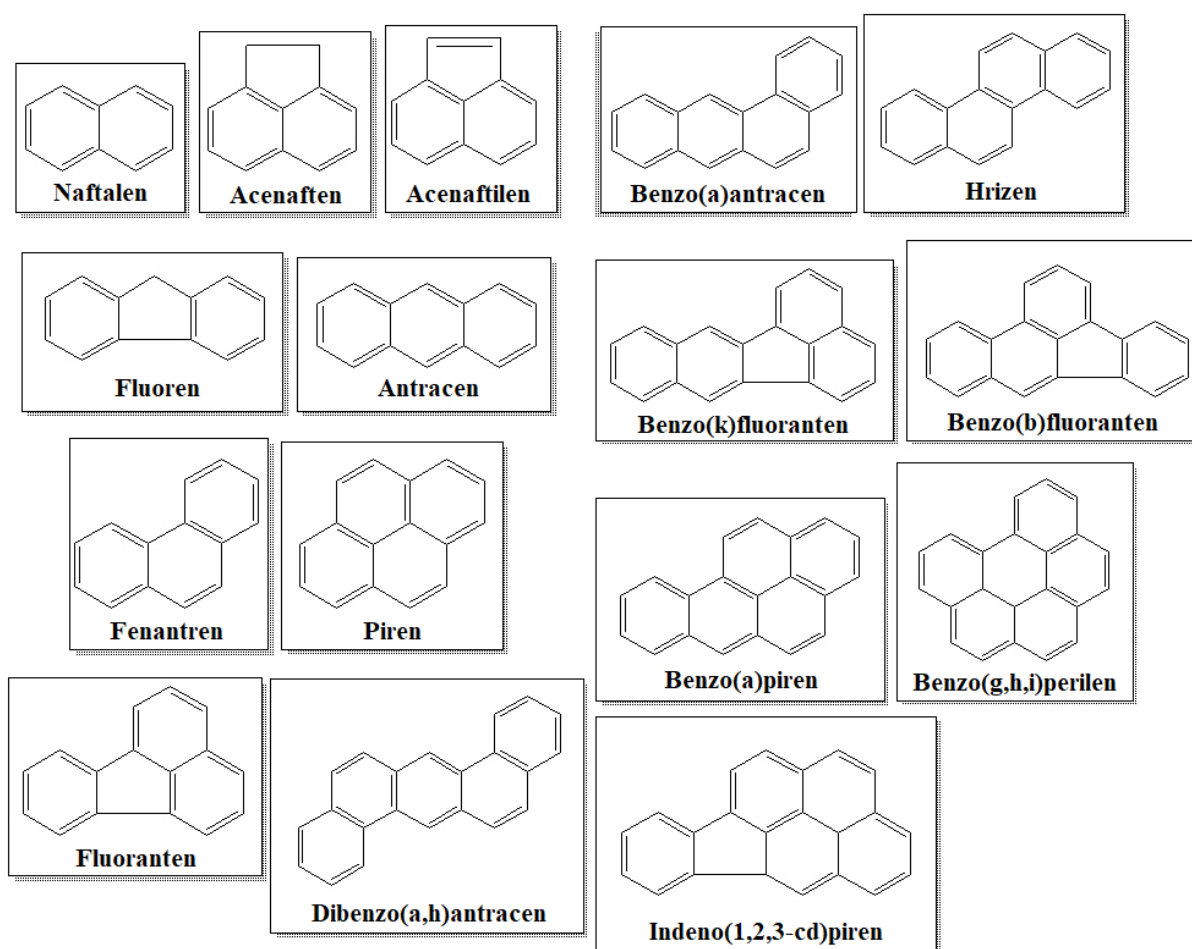
Osim toga, USEPA je takođe formirala takozvane Tabele Rizika, tj. "Risk-Based Screening Tables", koje se odnose na sve važne polutante, uključujući i 16 PAU. Ove Generičke tabele sadrže granične vrednosti (eng. *Limit Values*, LVs) koncentracija individualnih PAU za odgovarajuće Regionalne monitoring-nivoa (eng. *Regional Screening Levels*, RSLs) i to za česmensku vodu i za zemljišta u naseljenim i industrijskim mestima (USEPA, 2024). U slučaju zemljišta, RSL se odnose na koncentracije PAU koje ne zahtevaju nikakve dodatne procedure u odnosu na njegovu zaštitu; međutim, kada su PAU koncentracije identične, ili prevazilaze odgovarajuće RSL, dalja ispitivanja (ali ne neophodno i remedijacija) su potrebna. USEPA RSL vrednosti su definisane na osnovu ciljanog kancerogenog rizika (TR) od 1·10⁻⁶ i dve referentne vrednosti koeficijenta rizika po zdravlje (eng. *Target Hazard Quotient*, THQ): 1,0 i 0,1 (USEPA, 2024). Ova agencija poklanja posebnu pažnju zemljištu, jer ono predstavlja neobnovljivi (ili veoma sporo) obnovljivi prirodni resurs, koji je ujedno i glavni rezervoar za emitovane PAU (Banach-Szott i sar., 2015; Cvetkovic i sar., 2016).

I mnogi drugi autori (Gu i sar., 2019; He i sar., 2019; Huang i sar., 2014; Liao i sar., 2012; Morillo i sar., 2007; Melnyk i sar., 2015; Patel i sar., 2020) posvetili su posebnu pažnju ovom matriksu životne sredine, pa su tako za klasifikaciju stepena zagađenosti zemljišta, uzimali u obzir zbir koncentracija svih 16 prioriternih PAU, tj., Σ16 PAU. U odnosu na ovaj kriterijum, kontaminacija zemljišta PAU može se podeliti u četiri kategorije: 1) nezagađeno zemljište: <200

$\mu\text{g}/\text{kg}$, 2) umereno zagađeno: 200–600 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 3) zagađeno: 600–1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i 4) veoma zagađeno: $>1000 \mu\text{g}/\text{kg}$.

Sva pomenuta ograničenja koncentracija definisana su najvećim delom u odnosu na dermatološke rizike, tj. rizike od direktnog dodira kože ljudi sa zagađenim zemljištem.

Što se tiče fizičko-hemijskih osobina PAU, one direktno zavise od njihove molekulske strukture (Slika 1.). Na sobnoj temperaturi, PAU su obično čvrste bele, svetlo žute, ili bezbojne supstance. Odlikuje ih nizak napon pare, dok se sa porastom broja prstenova, povećavaju i njihove tačke topljenja i ključanja, a smanjuju se isparljivost i rastvorljivost u vodi (Tabela 1.). PAU zato imaju različito ponašanje, u zavisnosti od toga u kojoj sferi životne sredine se nalaze, pa tako i različito utiču na biološke sisteme i imaju različite toksikološke osobine (Mogashane i sar., 2024).

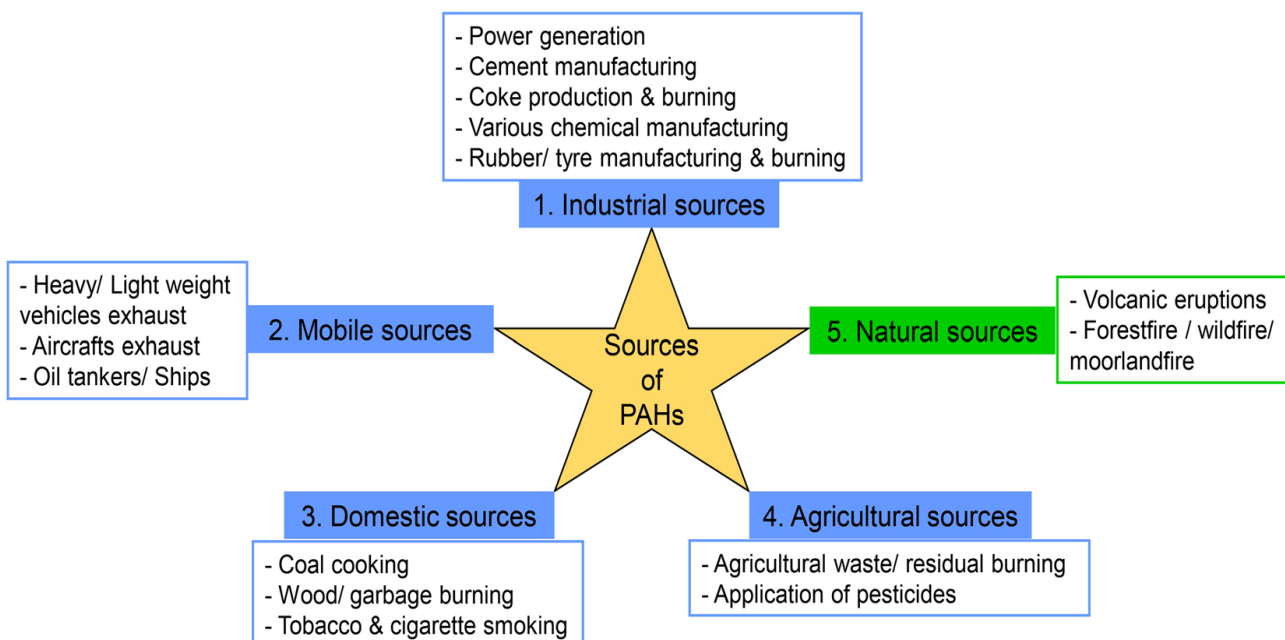


Slika 1. Strukture 16 prioriternih PAU (Antošová i sar., 2020, imena jedinjenja prevela: Aleksandra Papludis)

2. Teorijske osnove sa literaturnim pregledom podataka

2.1. Izvori i sudbina PAU u životnoj sredini

Izvori odgovorni za dospevanje PAU u životnu sredinu mogu se podeliti na dve glavne kategorije i to kao: prirodni i antropogeni (Zhu i sar., 2023). Prirodni izvori uključuju procese poput šumskih požara i vulkanskih erupcija, nekih geoloških fenomena, nepotpunog sagorevanja organske materije iz prirode, metabolizma mikroorganizama, itd. (Mogashane i sar., 2024; Papludis i sar., 2022). Ipak, glavni uzrok zagađenja od strane PAU danas je ljudska aktivnost. Na Slici 2. prikazane su različite vrste izvora PAU zagađenja u životnoj sredini, uključujući i prirodne i antropogene (Patel i sar., 2020).



Slika 2. Različite vrste izvora PAU (Patel i sar., 2020)

Antropogeni izvori prvenstveno obuhvataju sagorevanje fosilnih goriva i različite proizvodno/industrijske procese (Mogashane i sar., 2024; Vane i sar., 2014), ali uključuju i poljoprivredu i gradski otpad, pri čemu se formiraju tokom procesa nepotpunog sagorevanja. U industriji mogu nastati topljenjem metala, proizvodnjom koksa i aluminijuma, pri proizvodnji guma, sagorevanju goriva u motorima, zagrevanju stambenih objekata (gradske toplane u gradovima i individualna ložišta u ruralnim sredinama) i drugim pirogenim procesima. Neki PAU se takođe proizvode komercijalno, kao što su naftalen, acenaften, fluoren, antracen, fenantren, fluoranten i piren. U svakodnevnom životu, izvori PAU mogu biti i duvanski dim, pečenje i dimljenje namirnica, a tokom leta dominira zagađenje od gradskog i drumskog saobraćaja. (Alagić i sar., 2015; Idowu i sar., 2019; Simon i Sobieraj, 2006; Papludis i sar., 2022). Može se reći da su, tokom vremena, industrijalizacija i urbanizacija značajno doprinele povećanju koncentracija PAU u životnoj sredini, a naročito u blizini industrijskih područja i važnih saobraćajnica, a takođe je bilo

primećeno i da su koncentracije u ruralnim sredinama bile i do 10 puta niže nego u industrijskim (Schwab i Dermody, 2021). Značajni doprinos širenju PAU imaju i proizvodnja i upotreba asfalta, spaljivanje otpada, a u najnovije vreme čak i reciklirana plastika i mikro-plastika (Núñez i sar., 2023; Royuela i sar., 2024), tako da je uočavanje različitih izvora zagađenja ključno za razvoj efikasnih strategija za smanjenje kontaminacije životne sredine i zaštitu ljudskog zdravlja (Mogashane i sar., 2024). Brojni istraživači pokušali su da detektuju izvore i poreklo pojedinih vrsta PAU koristeći različite indikatore kontaminacije (*eng.* diagnostic ratio), koji se uglavnom svode na izračunavanje odnosa između određenih jedinjenja PAU, poput odnosa: indeno(1,2,3-cd)piren/(indeno(1,2,3-cd)piren+benzo(g,h,i)perilen), benzo(b)fluoranten/benzo(k)fluoranten, fluoren/(fluoren+piren), benzo(a)piren/(benzo(a)piren+hrizen), benzo(a)piren/benzo(g,h,i)perilen, indeno(1,2,3-cd)piren/benzo(g,h,i)perilen, itd. (Ravindra i sar. 2008).

Međutim, Lourenço i sar. (2023) su došli do zaključka da su zbog brojnih i komplikovanih načina formiranja PAU u životnoj sredini, ovi indikatori u velikoj meri nesigurni pokazatelji porekla i izvora PAU i oni pre svega preporučuju izračunavanje (statističkih) korelacija između različitih parametara koji mogu uticati na pomenute procese, koristeći različite metode statističke analize. Inače, isti autori opisuju da PAU mogu nastati kroz različite procese, kao što su:

- Veoma spori procesi (milioni godina) uključuju preraspodelu i transformaciju biogene organske materije, što dovodi do nastanka fosilnih goriva (petrogeni PAU);
- Veoma brzi procesi, kao što su nepotpuno sagorevanje, ili piroliza petrogene, ili biogene organske materije (pirogeni PAU);
- Relativno brzi procesi uključuju transformaciju, ili dijagenezu organskih jedinjenja u zemljištu i sedimentima (dijagenetički PAU);
- Direktna biosinteza od strane živih organizama kao što su bakterije, gljive, biljke i insekti (biološki PAU).

Patel i sar. (2020), Papludis i sar. (2022), kao i mnogi drugi autori, dele PAU još jednostavnije (na osnovu njihovog formiranja), u tri grupe: pirogeni, petrogeni i biološki.

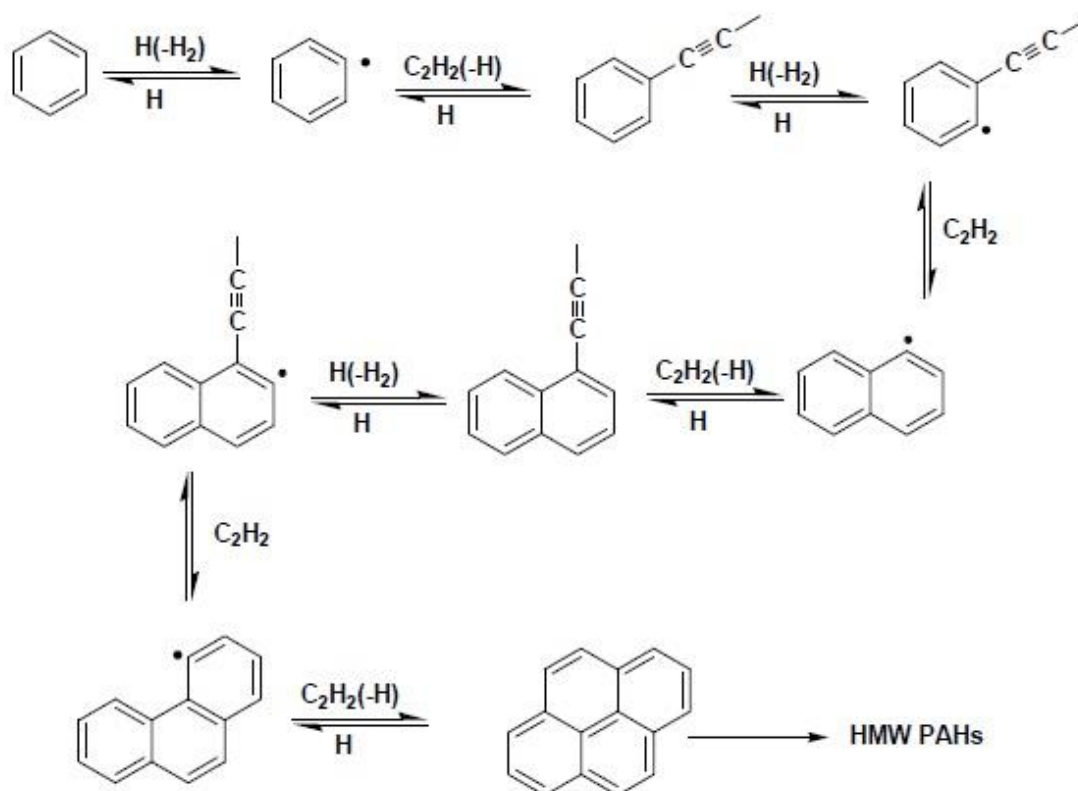
Pirogeni PAU nastaju usled prirodnih požara, ili ljudskih aktivnosti poput spaljivanja otpada i sagorevanja fosilnih goriva, pri čemu dolazi do delimičnog sagorevanja organske materije na povišenim temperaturama ($\geq 500^{\circ}\text{C}$) uz formiranje slobodnih radikala (Kaur i sar., 2024). Pirogeni izvori značajno doprinose postojećem skupu PAU, pri čemu se pretežno formiraju jedinjenja sa 4, 5 i 6 aromatičnih prstenova sa niskim nivoima alkilacije (Lourenço i sar., 2023). Mogashane i sar. (2024), kao i Patel i sar. (2020) navode da čak i procesi, koji se događaju u prisustvu kiseonika na temperaturama od $350\text{--}1200^{\circ}\text{C}$, dovode do razlaganja različitih kompleksnih molekula, stvarajući PAU jedinjenja; istovremeno međutim, kada sagorevanje nije potpuno, može doći i do povezivanja nekih organskih jedinjenja male molekulske mase u nova, složenija jedinjenja. Patel i sar. (2020) takođe navode da pirolitički procesi poput termičkog razlaganja kompleksnih jedinjenja nafte u ugljovodonike (krekovanje) i destilacija uglja u katran i koks mogu dati pirogene PAU i primećuju da su koncentracije pirogenih PAU generalno veće u urbanim sredinama.

Petrogeni izvori PAU uglavnom nastaju iz nafte i uglja (Lourenço i sar., 2023; Mogashane i sar., 2024; Patel i sar., 2020). Poznato je da je nafta složena mešavina brojnih organskih supstanci koje se formiraju u Zemljinoj kori. Ovi PAU mogu dospeti u životnu sredinu usled nepažljivog transporta, kao i zbog nenamernih izlivanja nafte (Kaur i sar., 2024; Patel i sar., 2020). Obično se formiraju na temperaturama od oko 150°C , tokom dužeg vremenskog perioda (Kaur i sar., 2024). Većina petrogenih PAU imaju nisku molekulsku masu, te sadrže 2, ili 3 benzenova prstena u svom molekulu (Lourenço i sar., 2023; Mogashane i sar., 2024; Patel i sar., 2020), pri čemu su Nap, Flr i

Phe, zajedno sa njihovim alkilovanim homolozima, najistaknutiji. Dibenzotiofen, heterociklično aromatično jedinjenje (koje sadrži sumpor u svojoj strukturi) i njegovi alkilovani homolozi, takođe mogu biti prisutni u petrogenim izvorima, za razliku od PAU koji se sastoje od 4 - 6 aromatičnih prstenova (Lourenço i sar., 2023). Formirani PAU tokom ovog procesa mogu sadržati supstituente poput metil-, etil-, butil-, ili neke više alkil-grupe (Kaur i sar., 2024).

Biološki PAU nastaju sintezom od bioloških entiteta kao što su mikroorganizmi, fitoplankton, alge i biljke (Kaur i sar., 2024) i tokom sporog biološkog raspadanja organskih materijala (Patel i sar., 2020). Ovi prirodni procesi imaju zanemarljiv uticaj na ukupno zagađenje, jer se uglavnom odnose na proizvode biosinteze (Kaur i sar., 2024; Vane i sar., 2014).

Na Slici 3., prikazan je mehanizam formiranja PAU u životnoj sredini, u uslovima nepotpunog sagorevanja organske materije. To je proces koji počinje sagorevanjem organske materije u nedostatku kiseonika, zatim sledi formiranje molekula različitih ugljovodonika, kao i njihovo spajanje u veće prstenaste strukture i na kraju se formiraju molekuli PAU (Mogashane i sar., 2024).

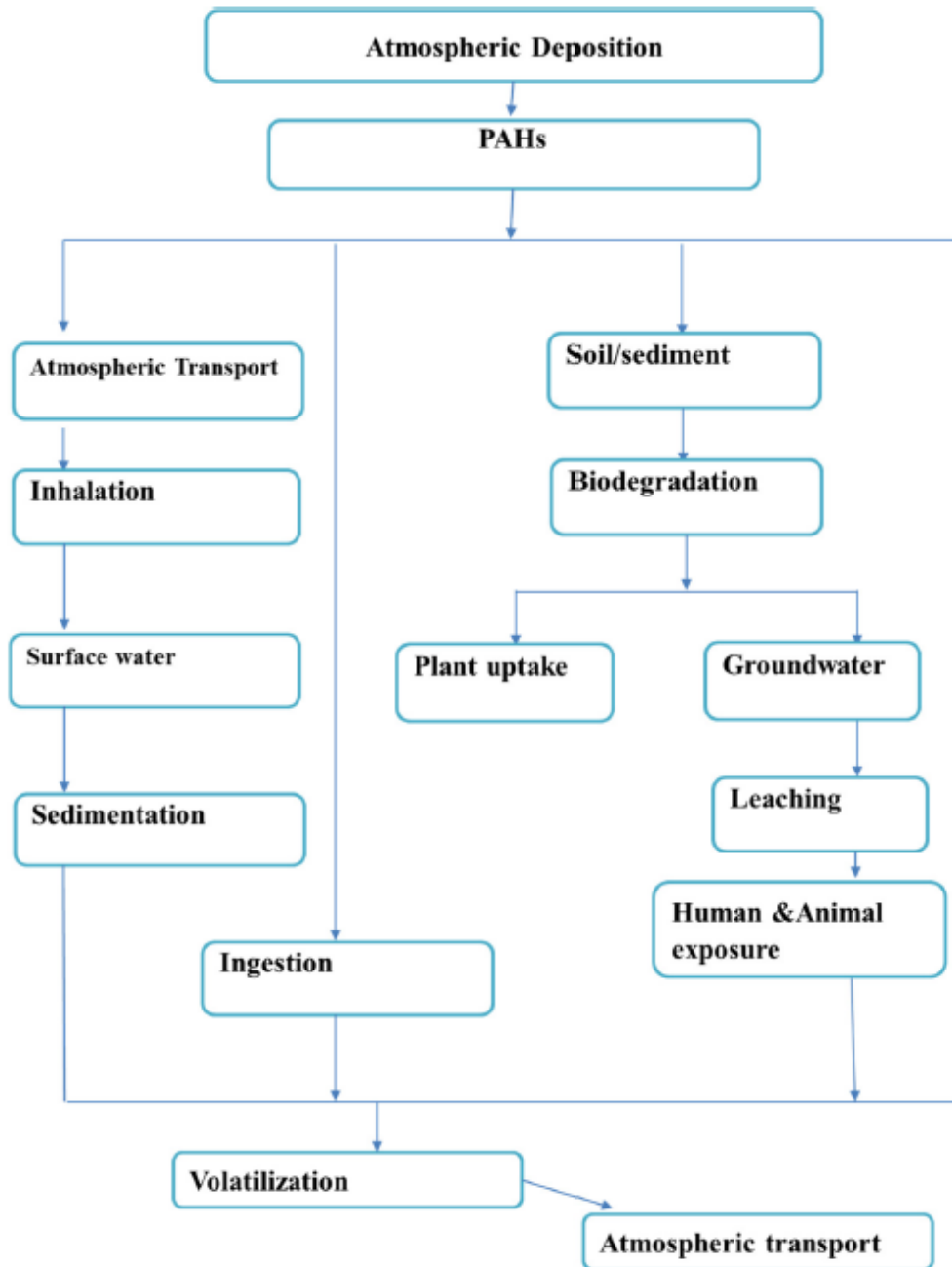


Slika 3. Mehanizam formiranja PAU nepotpunim sagorevanjem organske materije u životnoj sredini (Mogashane i sar., 2024)

PAU su široko rasprostranjeni u celokupnoj životnoj sredini, tj. u atmosferi, zemljištu, sedimentu, vodi i bioti, prožimajući se u svim ovim kompartmentima. Njihovo ponašanje u životnoj sredini diktiraju fizičko-hemijske osobine ovih jedinjenja, kao i procese koji regulišu njihovu distribuciju i transformaciju: isparavanje, rastvaranje, sedimentaciju, fotooksidaciju i biorazgradnju. Veći broj aromatičnih prstenova kod PAU rezultira povećanim tačkama topljenja i kjućanja, kao i nižim naponima pare i nižom rastvorljivošću u vodi (VM PAU su hidrofobniji i lipofilniji). Hidrofobna priroda PAU dovodi do njihove slabe rastvorljivosti u vodenoj sredini, ali i do snažnog afiniteta prema različitim organskim matricama u životnoj sredini. Zato se PAU pre svega

adsorbuju na čestice organskog materijala, te se na taj način najviše akumuliraju u zemljištu i sedimentima (Alagić i sar., 2015; Banach-Szott i sar., 2015; Lourenço i sar., 2023).

Na Slici 4. shematski je prikazana sudbina i uticaj PAU u različitim ekološkim segmentima, poput zemljišta, vode, atmosfere i živih organizama.



Slika 4. Ponašanje PAU u životnoj sredini (Mogashane i sar., 2024)

PAU mogu prolaziti kroz različite procese, kao što su izluženje u podzemne vode, apsorpcija u biljkama i razgradnja. Pored toga, mogu dospeti u organizme ljudi i životinja putem kontaminirane hrane i vode, ili udisanjem. Takođe, PAU imaju sposobnost transportovanja na velike udaljenosti i mogu iz zemljišta ponovo isparavati u atmosferu, čime se produžava ciklus raspršivanja u životnoj sredini (Meištininkas i sar., 2024; Mogashane i sar., 2024).

Jedna od dobro poznatih karakteristika PAU je njihova dugotrajna postojanost u životnoj sredini. Na primer, polu-životi individualnih PAU zavise od njihovih fizičko-hemijskih osobina, pa tako, u vazduhu, oni mogu opstati od nekoliko časova do nekoliko dana, dok u zemljištu, oni mogu opstati i po nekoliko desetina godina (Kicińska i Dmytrowski, 2023). PAU sa 3-5 benzenovih prstenova u molekulu mogu da se zadrže u atmosferi nekoliko sati do nekoliko dana, dok u zemljištu opstaju dekadama (Balmer i sar., 2019). Dekadama ranije, na početku industrijskog perioda, većina zemljišta (bez direktne izloženosti izvorima PAU), imala je niske koncentracije individualnih PAU: od 1 µg/kg do 10 µg/kg. Međutim, na početku XXI veka, ovaj opseg se proširio do 100 µg/kg (Wilcke, 2000). U najnovije vreme, kao što je izvešteno od strane Gąsecka i sar. (2015), neke studije su našle zemljišne koncentracije i od više stotina µg/kg. Tako na primer, Awere i sar. (2020) su izvestili da je u Gani, u blizini jednog e-otpada (eng. *e-waste*), tj. reciklažnog mesta, bilo detektovano 390-710 ng PAU u 1 g zemljišta.

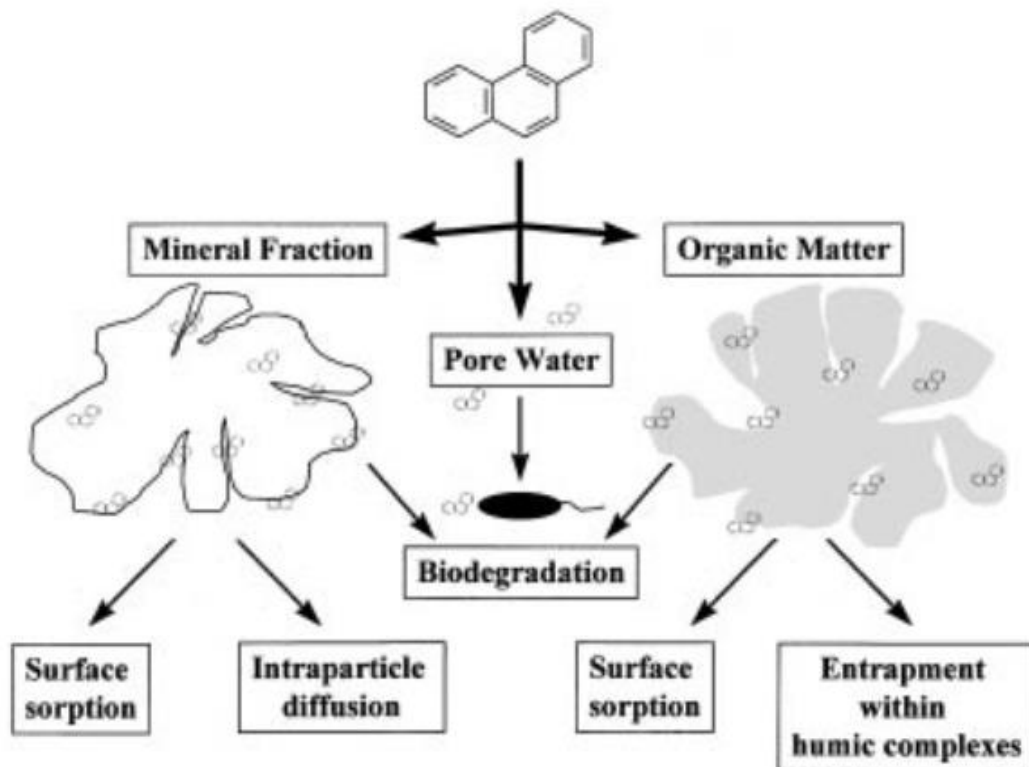
2.2. PAU u zemljištu

Para i čestice kao što su čađ, polen, prašina, pirogeni metalni oksidi i leteći pepeo, mogu delovati kao nosači PAU u vazduhu. Atmosferski PAU se talože u zemljištu, ali odatle mogu dalje dospeti i u podzemne vode. Preko 90% od ukupne količine PAU u životnoj sredini završi u zemljištu, tako da ono predstavlja glavni rezervoar različitih zagađujućih materija (Kariyawasam i sar., 2022). U zemljištu, PAU mogu da ostanu dugo, sorbovani na čestice zemljišta, što ih dalje čini manje pokretnim i manje biodostupnim, tj., bioraspoloživim za razgradnju različitim biološkim agensima (zemljišni mikrobi, biljke i sitnije životinje), a što u konačnom ishodu nije poželjno u procesima bioremedijacije PAU (Alagić i sar., 2015; Wilcke, 2000).

Preciznije rečeno, lipofilni molekuli PAU se prirodno najčvršće vezuju za organsku materiju, OM, organski matriks zemljišta, kojeg čine humini, huminske kiseline, fulvinske kiseline, itd. (Balmer i sar., 2019; Banach-Szott i sar., 2015; Kicińska i Dmytrowski, 2023; Reid i sar., 2000; Ukalska-Jaruga i Smreczak, 2020). Ovaj proces najviše zavisi od samog PAU jedinjenja, tipa zemljišta, temperature, mikrobne aktivnosti i prisustva drugih zagađujućih materija, kao i surfaktanata (Mogashane i sar., 2024; Patel i sar., 2020). Hemijske osobine zemljišta, poput sadržaja OM, ali i pH-vrednost i električna provodljivost, EC, značajno utiču na ponašanje PAU. Osim toga, pH-vrednost i EC zemljišta imaju važnu ulogu u regulisanju enzimskih aktivnosti i procesu biodegradacije PAU (Nikolić, 2018). Patel i sar. (2020) ističu da i fizičke osobine zemljišta, kao što su njegova tekstura, permeabilnost, sadržaj vlage, gustina, poroznost, itd., takođe mogu imati značajan uticaj.

Po Wen-u i sar. (2012), sorpcija hidrofobnih organskih jedinjenja karakteriše se brzom adsorpcijom na spoljašnju površinu zemljišne čestice i kasnije, polaganom difuzijom u njenu unutrašnjost, koja je inače manje pristupačna (Slika 5.).

Brojni drugi autori pružili su dokaze da se sa dužim zadržavanjem u podlozi, tj. sa povećanjem vremena kontakta između polutanta i čestica zemljišta, olakšavaju procesi sekvestracije molekula hidrofobnog organskog polutanta u mikropore zemljišta i povećava takozvana rekalcitracija, što je poznato kao proces "starenja" (eng. *aging*). Krajnji rezultat procesa starenja je translokacija jedinjenja iz dostupnih delova zemljišta u manje, ili potpuno nedostupne delove, što u konačnom prouzrokuje njegovu smanjenu biodostupnost (Balmer i sar., 2019; Banach-Szott i sar., 2015; Kicińska i Dmytrowski, 2023; Reid i sar., 2000; Ukalska-Jaruga i Smreczak, 2020).



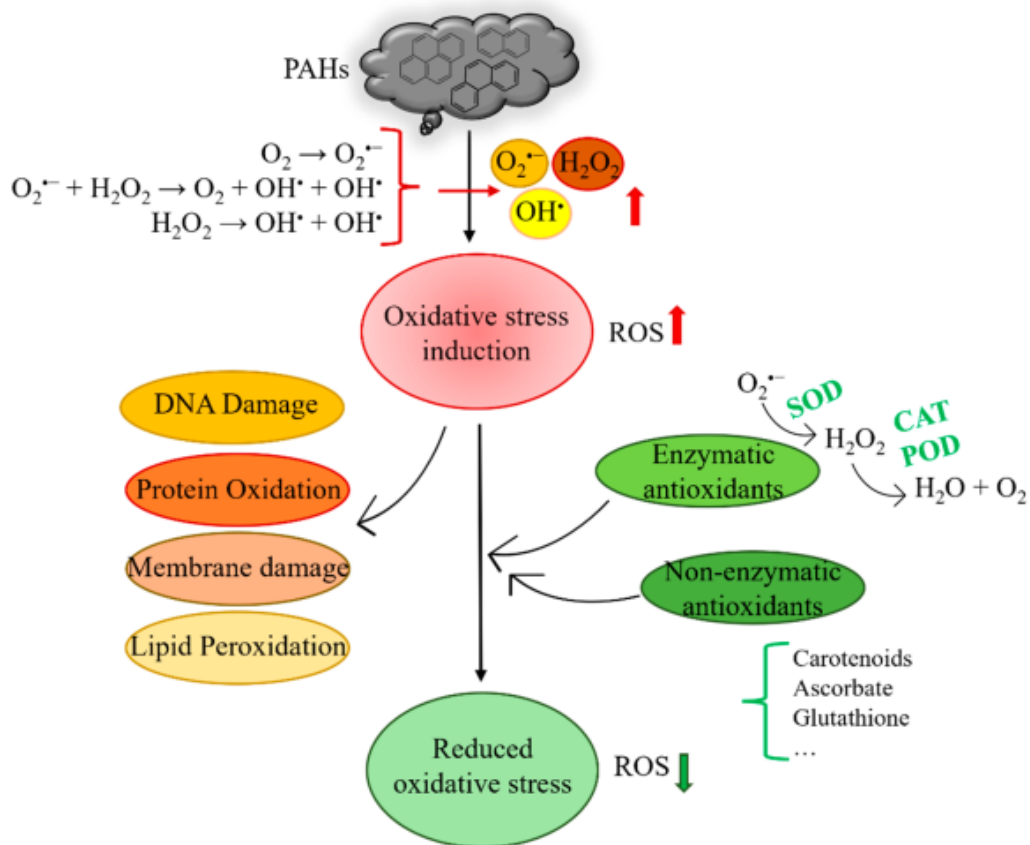
Slika 5. Sumarizovani prikaz procesa "starenja" PAU u zemljištu (Reid i sar., 2000)

2.3. PAU u biljkama

2.3.1. PAU u biljkama: Toksičnost i detoksifikacija

Sa razvojem civilizacije i povećanjem PAU koncentracija u životnoj sredini, a pre svega zbog njihove lake isparljivosti i samim tim, transmisije na velike udaljenosti, razvila se i značajna zabrinutost naučne, stručne i opšte javnosti, zbog mogućeg uticaja PAU na organizme koji su im direktno izloženi, a posebno u zemljištu, kao i biljkama koje na njemu rastu, uključujući tu i mogućnost njihovog ulaska u lanac ishrane preko istih (Meištininkas i sar., 2024). Biljojede životinje i ljudi koji direktno konzumiraju zagađene biljke su najizloženiji riziku (Balmer i sar., 2019; Kicińska i Dmytrowski, 2023; Onyema i sar., 2017).

Fitotoksični efekti PAU, mogu negativno uticati na zdravlje biljaka i njihov prinos, uključujući smanjen rast, umanjen prinos, slabu klijavost semena (Molina i sar., 2021), a u okviru ćelijskog nivoa dolazi do usporene fotosinteze, poremećaja čitavog metabolizma i generalno, do oksidativnog stresa (Alagić i sar., 2015; Mogashane i sar., 2024). Ova vrsta stresa, indukovana PAU, odnosi se na prekomernu produkciju takozvanih reaktivnih kiseoničnih vrsta (eng. *Reactive Oxygen Species*, ROS), koji su visoko-toksični i reaktivni nusproizvodi u organizmu. Oni izazivaju štetu u vitalnim ćelijskim strukturama, rezultujući pre svega, u peroksidaciji lipida, što oštećuje samu membranu ćelije, ali i DNK i proteine ćelije (Slika 6.) (Alagić i sar., 2016; Tarigholizadeh i sar., 2024).



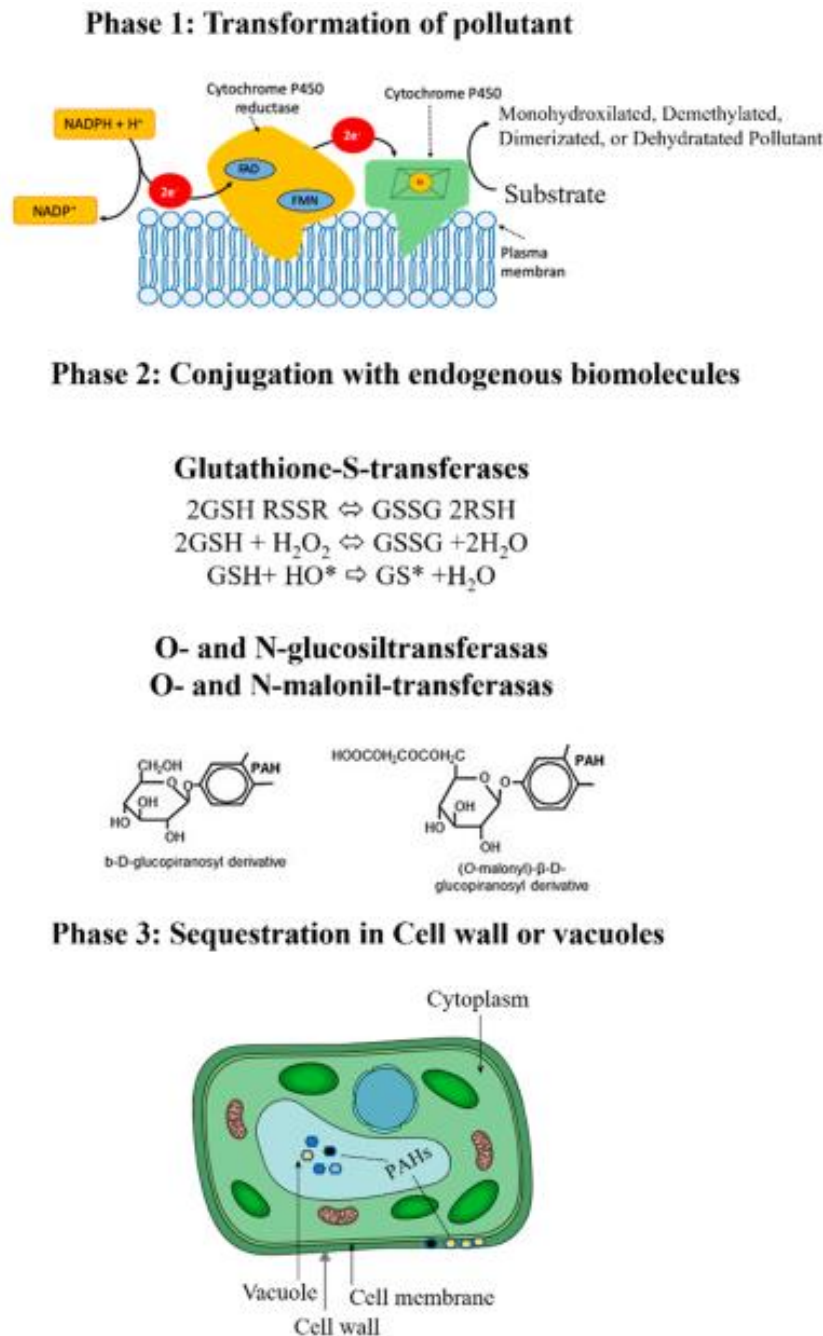
Slika 6. Shema oksidativnog stresa indukovanog PAU, produkcija ROS i aktivacija antioksidativnog odbrambenog sistema u biljkama (Tarigholizadeh i sar., 2024)

ROS iniciraju kaskadu reakcija koje mogu da vode do smrti ćelije, ali ovi fragmenti ujedno deluju i kao signalni molekuli koji mogu da pokrenu takozvani detoksifikacioni proces koji dalje može smanjiti toksičnost PAU pomoću ne-enzimskih, ali i enzimskih antioksidanasa. U poslednjem slučaju obično postoji više faza koje su veoma slične fazama detoksifikacije u jetri sisara, pa je ovaj način smanjenja toksičnosti PAU u biljkama poznat i kao "koncept zelene jetre" (Slika 7.) (Alagić i sar., 2015; Reichenauer i Germida, 2008; Tarigholizadeh i sar., 2024).

Prva (I) faza, tj. faza transformacije, tj. funkcionalizacije, uključuje ugradnju polarne funkcionalne grupe, kao što su: hidroksilna, karboksilna, amino i dr. u hidrofobni molekul PAU, uz pomoć reakcija oksidacije, redukcije, ili hidrolize katalizovanih enzima oksidoreduktazama (na primer: citohrom P450 monooksigenaze, ili hidrolaze poput esteraza); na ovaj način, roditeljsko jedinjenje PAU postaje više hidrofilno (Slika 7.).

U drugoj (II) fazi (takozvana konjugacija), endogena ćelijska jedinjenja kao što su šećeri, amino-kiseline, organske kiseline, glutation, peptidi, itd., povezuju se na nastale međuproizvode i formiraju peptidne-, etarske-, estarske-, ili tioetarske konjugate, i druga hidrofilna, obično manje toksična jedinjenja. Konjugacija se smatra odbrambenim mehanizmom koji se koristi za redukciju toksičnosti ksenobiotika dodavanjem netoksičnih ćelijskih jedinjenja; enzimi transferaze kao što su glutation S-transferaza, glikozil-*O*-transferaza, *N*-glikozil-transferaza, glukuronozil-*O*-transferaza i dr., igraju ključnu ulogu u ovoj fazi); konjugati opstaju u ćeliji određeni vremenski period bez ikakvih vidljivih patoloških odstupanja u homeostazi ćelije; toksičnost konjugata, u odnosu na roditeljska jedinjenja se dalje smanjuje vezivanjem za netoksična ćelijska jedinjenja; oni takođe obezbeđuju dodatno vreme za unutrašnju mobilizaciju, tj., indukciju enzima odgovornih za dalju transformaciju polutanata; konjugacija je jedan od najčešćih načina samoodbrane biljaka; međutim,

konjugacija se ne može smatrati energetsom i fiziološkom prednošću za procese u biljkama, jer formiranje konjugata dovodi do iscrpljivanja vitalno važnih ćelijskih jedinjenja (Slika 7.).



Slika 7. Enzimaska detoksifikacija PAU u biljkama (Tarigholizadeh i sar., 2024)

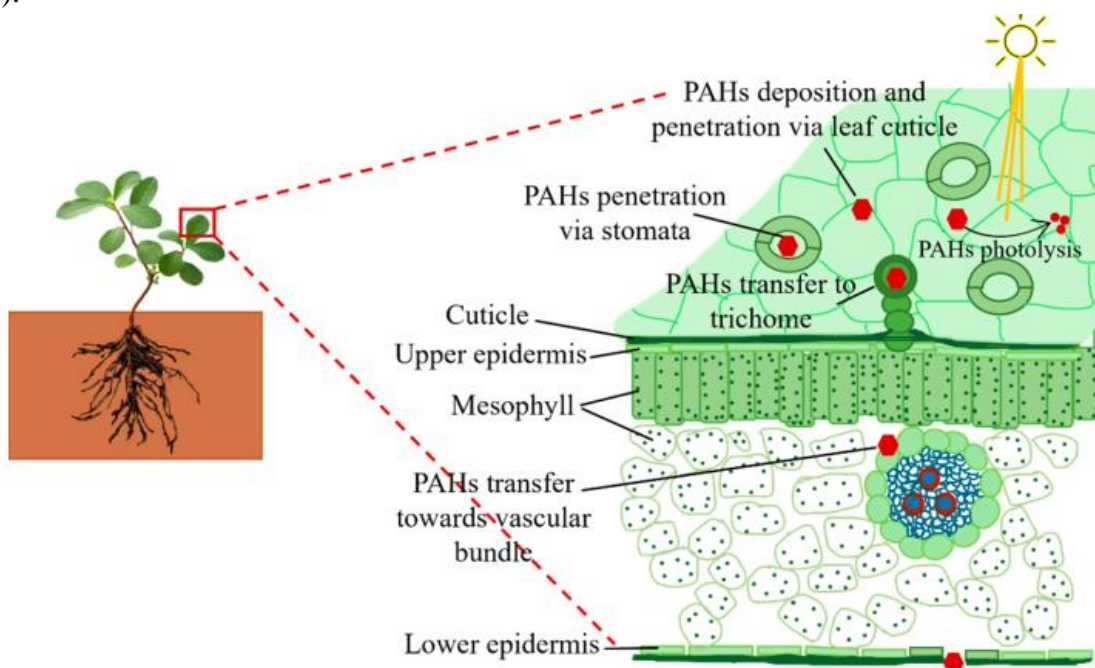
Treća (III) faza, ili faza kompartmentalizacije, tj., sekvenciranja (umesto ekskrecije kod sisara), podrazumeva privremeno, ali bezbedno uklanjanje različitih konjugata iz citoplazme, tj., vitalnih delova ćelije (jezgro, mitohondrije, plastidi, citosol, itd.) u ćelijske organele poznate kao vakuole; prenos novonastalih međuproizvoda iz prethodne faze u ove organele obično ide preko samog tonoplasta vakuola uz pomoć takozvanih ABC-transportera; u vakuolama su moguće dalje metaboličke reakcije; jedinjenja iz vakuole se po potrebi, mogu ponovo isporučiti u citoplazmu na dodatnu mineralizaciju; ponekad, novonastali konjugati, tj., međuproizvodi mogu biti asimilovani i unutar samog ćelijskog zida, u ligninu, pektinu, kao i frakcijama celuloze koji se u njemu i inače nalaze kao osnovni gradivni eklementi (Slika 7.).

Treba naglasiti da oba načina detoksifikacije PAU u biljkama - i enzimatski i ne-enzimatski, dovode do razvijanja otpornosti prema ovim opasnim kontaminantima, pa su tako pojedine biljne vrste razvile značajnu tolerantnost prema PAU, što je kasnije prigodno iskorišćeno za njihovu upotrebu u fitoremedijaciji kao jednoj od relativno novih i ekoloških metoda za remedijaciju različitih matriksa životne sredine (Alagić i sar., 2015; Kaur i sar., 2024; Tarigholizadeh i sar., 2024).

2.3.2. PAU u biljkama: Usvajanje i ponašanje

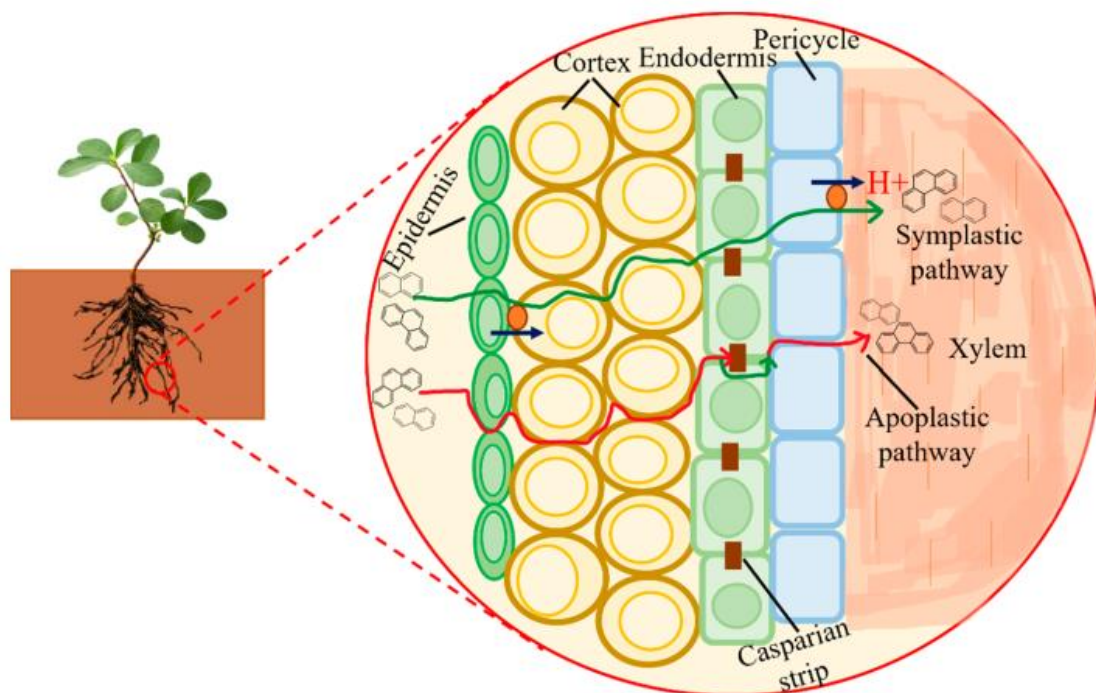
PAU mogu biti apsorbirani od strane biljaka preko korena, iz kontaminiranog zemljišta, ili vode, kao i preko listova, iz atmosferske depozicije. Većina ispitivanja je pokazala da su glavni uzroci pojave PAU u vegetaciji: taloženje iz atmosfere i apsorpcija od strane nadzemnih delova biljaka. U područjima bez razvijene industrije, biljna tkiva obično sadrže 50 – 80 µg/kg PAU, iako to može varirati u zavisnosti od vrste biljke, vrste PAU i okolnih uslova. Ipak, u industrijskim područjima, vegetacija često sadrži veće količine PAU u poređenju sa vegetacijom iz ruralnih područja (Mogashane i sar., 2024).

Tarigholizadeh i sar. (2024) naglašavaju da veliki deo atmosferske depozicije (tj. gasne, ili čestične faze) na listu, dospeva u unutrašnja tkiva usvajanjem preko voštane kutikule koja oblaže epidermis lista, ili preko stoma, tj., otvora preko kojih se vrše važni procesi transpiracije i disanja (Slika 8.). Lisno usvajanje uglavnom zavisi od atmosferskih koncentracija PAU, njihove isparljivosti, zatim od varijabli u životnoj sredini, ali i osobina lista. Nivo ovakve apsorpcije za svaki PAU, zavisi od njegovog particionog koeficijenta *n*-oktanol/voda, *K_{ow}*, koji je indikator lipofilnosti. Zato, NM organski polutanti poput PAU, ulaze u list preko stoma, dok VM uglavnom prodiru preko kutikule. Na kraju, kojim god putem da su dospeli u lisno tkivo, PAU prolaze kroz ćelijski zid i membranu i ulaze u unutrašnjost ćelije. Oni zatim mogu biti transportovani u neke druge nadzemne delove, ali mogu podleći i različitim metaboličkim i enzimskim procesima, pri čemu doživljavaju različite strukturne i hemijske promene i mogu biti akumulirani u vakuolama (Slika 7.).



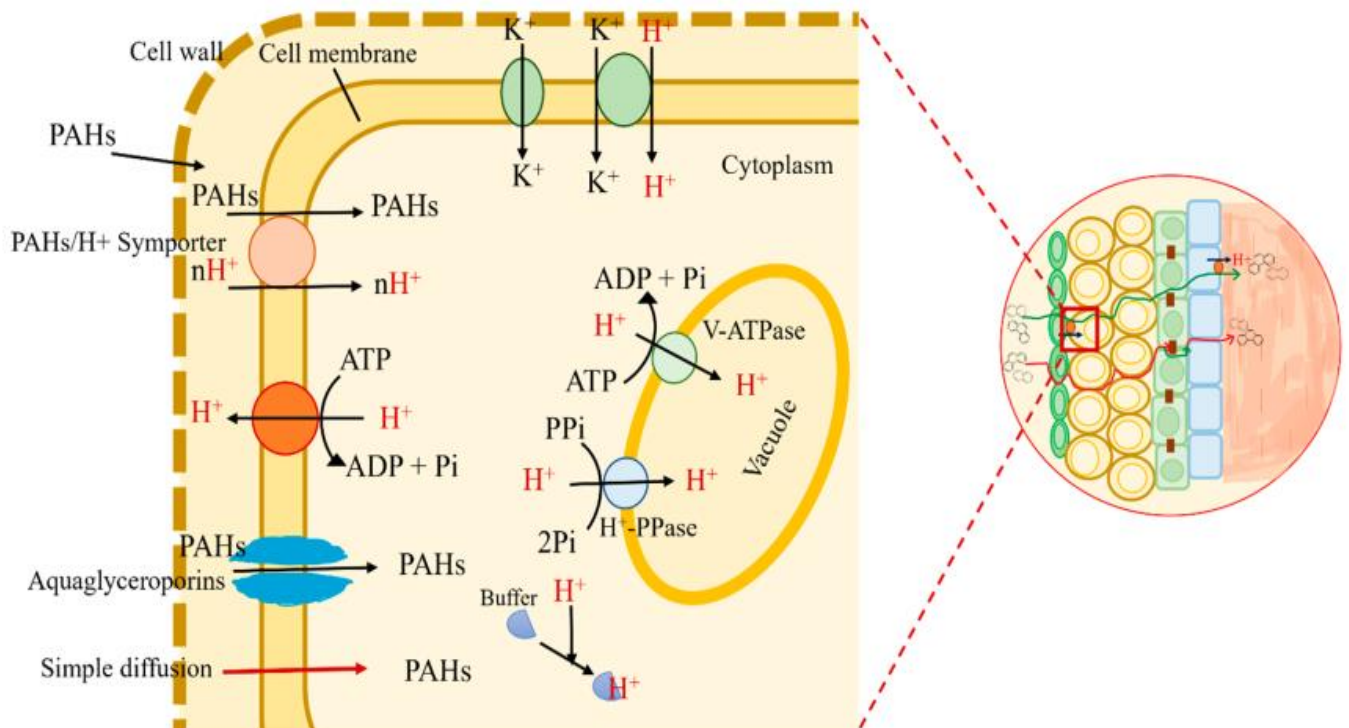
Slika 8. Usvajanje PAU preko lista (Tarigholizadeh i sar., 2024)

Istovremeno, kada je u pitanju sistem zemljište–biljka, prvo biljno tkivo koje dolazi u kontakt sa ovim opasnim polutantima je koren, te tako on predstavlja glavno mesto odgovorno za apsorpciju i akumulaciju većine zemljišnih PAU. Nakon toga, neki PAU sa NMM mogu se preneti iz korena u izdanak kroz transpiracioni tok. Uopšteno govoreći, do apsorpcije PAU može doći preko korteksa korena do ksilema stabljike, putem pasivnog, difuznog tj., apoplastičnog transporta (kroz međucelijski prostor) i/ili aktivnog, tj., simplastičnog transporta (kroz same ćelije), koji je verovatno posredovan preko H^+ -kuplovanih simportera (Slika 9.). Pretpostavlja se, naime, da su kretanje kroz zemljišni rastvor i ulazak u epidermis korena, omogućeni preko apoplasta, a zatim je ulazak u traheje omogućen putem simplasta. Ipak, do danas je dostupno veoma malo dokaza i informacija o tačnim mehanizmima koji su uključeni u ove procese. Jedino je sigurno da apsorpcija, distribucija PAU, kao i njihov toksični uticaj na biljke, zavise od početnih koncentracija i hemijskih osobina PAU (hemijske strukture, molekulske mase, naelektrisanja, rastvorljivosti u vodi i mastima i slično), zatim od biljne vrste (pre svega – sadržaj lipida u korenu, kao i njegova površina) i fizičko-hemijskih osobina zemljišta, što sve utiče na kretanje PAU kroz sistem zemljište–biljka; ovde su presudne njihove niske rastvorljivosti u vodi i visoki koeficijenti raspodele oktanol–voda (Tarigholizadeh i sar., 2024). Čini se da se PAU sa $\log K_{ow} < 4$ usvaja preko korena, a zatim prenosi i u druga biljna tkiva, dok se visoko hidrofobni PAU, sa $\log K_{ow} > 4$ snažno adsorbuju na epidermis korena i malo je verovatno da će oni dalje prodrati u unutrašnjost korena i biti premešteni unutar biljke (Sushkova i sar., 2020; Zhang i sar., 2017).



Slika 9. Apoplastično (pasivno) i simplastično (aktivno) usvajanje PAU u korenu (Tarigholizadeh i sar., 2024)

Dalji transportni mehanizam PAU kroz membranu korena nije adekvatno istražen. Pasivni transport generalno postoji u vidu jednostavne difuzije, ali postoje i drugi nepoznati pasivni procesi koje tek treba razjasniti. Tako naprimer, bilo je pokazano da su različite grupe glavnih intrinzičnih proteina (eng. *Main Intrinsic Proteins*, MIPs), koji predstavljaju veliku superfamiliju transmembranskih proteinskih kanala, takođe uključene u pasivno usvajanje, ubrajajući tu i akvaporine i akvagliceroporine (Slika 10.).



Slika 10. Putevi difuzije PAU i njihov transport u ćeliju korena (Tarigholizadeh i sar., 2024)

Tokom izloženosti PAU, neki akvaporini, kao što su: PIP1-2, TIP1-1, TIP1-2 i TIP2-2, su aktivirani i poboljšavaju transport NM PAU sa dobrom rastvorljivošću u vodi. Sa druge strane, akvagliceroporini, imaju selektivni filter koji ih čini permeabilnim (propustljivim) prema sitnim, neutralnim, i nepolarnim jedinjenjima, uključujući i PAU. Treba napomenuti da glicerol i živa deluju kao inhibitori akvagliceroporina, utičući na njihovu funkciju drugačije. Glicerol smanjuje dejstvo akvagliceroporina putem kompeticije sa drugim substratima (PAU i glicerol se usvajaju istim sistemom, koji je podložan prema Hg^{2+}), dok Hg^{2+} gradi komplekse sa ostacima cisteina u strukturi kanala, vodeći tako do promena u konformaciji njegove strukture (Slika 10.) (Tarigholizadeh i sar., 2024).

Nasuprot pasivnom, aktivno usvajanje je omogućeno proteinima-nosačima i ono se odvija uz utrošak energije (Slike 9. i 10.). Transport PAU preko ćelijske plazma-membrane (PM) je omogućeno PAU/ H^+ simporterom. Kao posledica, aktivnost simportera dovodi do povećanja pH spoljašnjeg nutritivnog rastvora, praćenog potpunim influksom pozitivnog naelektrisanja u ćelije korena (ili pak redukcijom unutarćelijskog pH). Ovi efekti, zauzvrat, doprinose depolarizaciji PM i povezani su sa H^+ -simport funkcijom. Takođe, električni odgovor je povezan sa usvajanjem PAU i funkcijom PAU/ H^+ -simportera. Električni odgovor izazvan PAU jedinjenjima odvija se u dve faze: početna depolarizacija ćelijske membrane, nakon koje sledi repolarizacija membranskog potencijala. PM depolarizacija je zavisna od koncentracija PAU. Kako usvajanje PAU napreduje, tako raste i pH spoljašnjeg, okružujućeg rastvora. Pumpe za izbacivanje protona u PM, poznate kao H^+ -ATPaze su sekundarno stimulisane i aktivirane zbog povećane intracelularne H^+ -koncentracije pri kraju usvajanja PAU (preko PAU/ H^+ -simport sistema), što je već opisano kao repolarizacija. H^+ -ATPaze PM vrše hidrolizu ATP-a i poboljšavaju ATP-zavisno izbacivanje H^+ -jona u ekstracelularni prostor. Ovaj proces generiše disparitet pH i električnog potencijala kroz PM (Slika 10.). Zato je zaključeno da je potencijal membrane vodeća sila za ogroman set sekundarnih transportera,

uključujući simporter, antiporter i uniporter, omogućavajući im transport supstrata nasuprot njihovih koncentracionih gradijenata (Tarigholizadeh i sar., 2024).

Zbog ovakve situacije, tj. brojnih faktora koji mogu uticati na usvajanje PAU, često se dešava da merene zemljišne i biljne koncentracije nisu u dobroj i pozitivnoj korelaciji (Alagić i sar., 2016, 2017). S druge strane, koncentracije PAU u listovima uglavnom dobro odražavaju njihovo prisustvo u atmosferi (Tarigholizadeh i sar., 2024).

2.3.3. PAU u biljkama: Proces i rizosferi

Rizosfera predstavlja uzani prostor oko korena biljke, oko 1 mm (Alagić i sar., 2015) u kojem se mogu dešavati brojni procesi degradacije PAU i to pomoću mikroba koji egzistiraju u ovoj zoni, a koji imaju toliko jake metaboličke procese, da se PAU mogu razložiti sve do ugljen-dioksida i vode, što u samim biljkama nije moguće. Biljke mogu pomoći mikrobima u ovim procesima na različite načine (ekskretovanjem različitih ekskudata koji obezbeđuju izvor ugljenika za prisutne mikrobe), ali i mikrobi mogu da pomažu biljkama obezbeđujući potrebne nutrijente, tako da u rizosfernoj zoni postoje takozvani sinergistički procesi koji su veoma značajni u degradaciji zemljišnih PAU (Haritash i Kaushik, 2009; Reichenauer i Germida, 2008).

2.4. Fitomonitoring i fitoremedijacija kao dve ekološki poželjne metode u kontroli i zaštiti životne sredine u odnosu na PAU

Termin „fitoremedijacija“ potiče od grčke reči *phyto* (biljka) i latinske *remedium* (lek, sredstvo za umanjeње, ili uklanjanje štetnih supstanci) (Kaur i sar., 2024). Fitoremedijacija je relativno nova tehnologija koja se može uspešno kombinovati i sa ostalim tradicionalnim tehnikama, a naročito kada su u pitanju prostrani lokaliteti koji bi zahtevali visoke troškove pri tretiranju klasičnim metodama. Fitoremedijacione tehnologije zasnovane su na specifičnim mogućnostima biljaka da se na različite načine prilagode i odgovore izazovnim uslovima okoline sa visokim koncentracijama PAU. Efikasnost fitoremedijacije može da zavisi od više faktora, uključujući prirodu i biodostupnost zagađujućih supstanci, karakteristike zemljišta, kao i odabir biljnih vrsta (Alagić i sar., 2015; Haritash i Kaushik, 2009; Kaur i sar., 2024; Nwoko, 2010; Patel i sar., 2020; RoyChowdhury i sar., 2015; Włóka i sar., 2019).

Biomonitoring, kao ekološka metoda procene stanja i kontrole kvaliteta okolne sredine, odnosi se ne samo na upotrebu biljaka, već i drugih organizama koji mogu pružiti kvantitativne podatke o promenama nastalim u toj sredini, a pre svega usled delovanja čoveka. Naime, brojni su autori koji smatraju da su odgovori živih organizama (i biološki i fiziološki) tačniji i reprezentativniji od informacija koje se dobijaju standardnim hemijskim, ili fizičkim mernim instrumentima, kao i da se i niže i više biljke mogu primeniti u svojstvu biomonitora, bioakumulatora, ili bioindikatora (Calzoni i sar., 2007).

Bioindikator su živi organizmi (ili njihovi delovi) koji obezbeđuju informacije o kvalitetu sredine, dok su biomonitori organizmi (ili njihovi delovi) koji pružaju i kvantitativne podatke o kvalitetu sredine. Može se zaključiti da se biomonitori mogu iskoristiti i kao bioindikator, dok bioindikator ne ispunjavaju uvek svojstva biomonitora. Ipak, važno je da obe vrste organizama reaguju na promene u svom okruženju (uzrokovane zagađujućim materijama), koje su i lako uočljive i lako merljive (Lodenić, 2013). U tom smislu, opšte je prihvaćeno da se biljke pre svega koriste kao pasivni bioindikator (zbog svoje stacioniranosti u oblastima koje se prate), dok se kao

aktivni bioindikatori primenjuju organizmi koji se unose u ispitivanu oblast, ili se, pak, u laboratorijskim, kontrolisanim, uslovima izlažu kontaminantima tokom određenog vremena (Markert i sar., 1999).

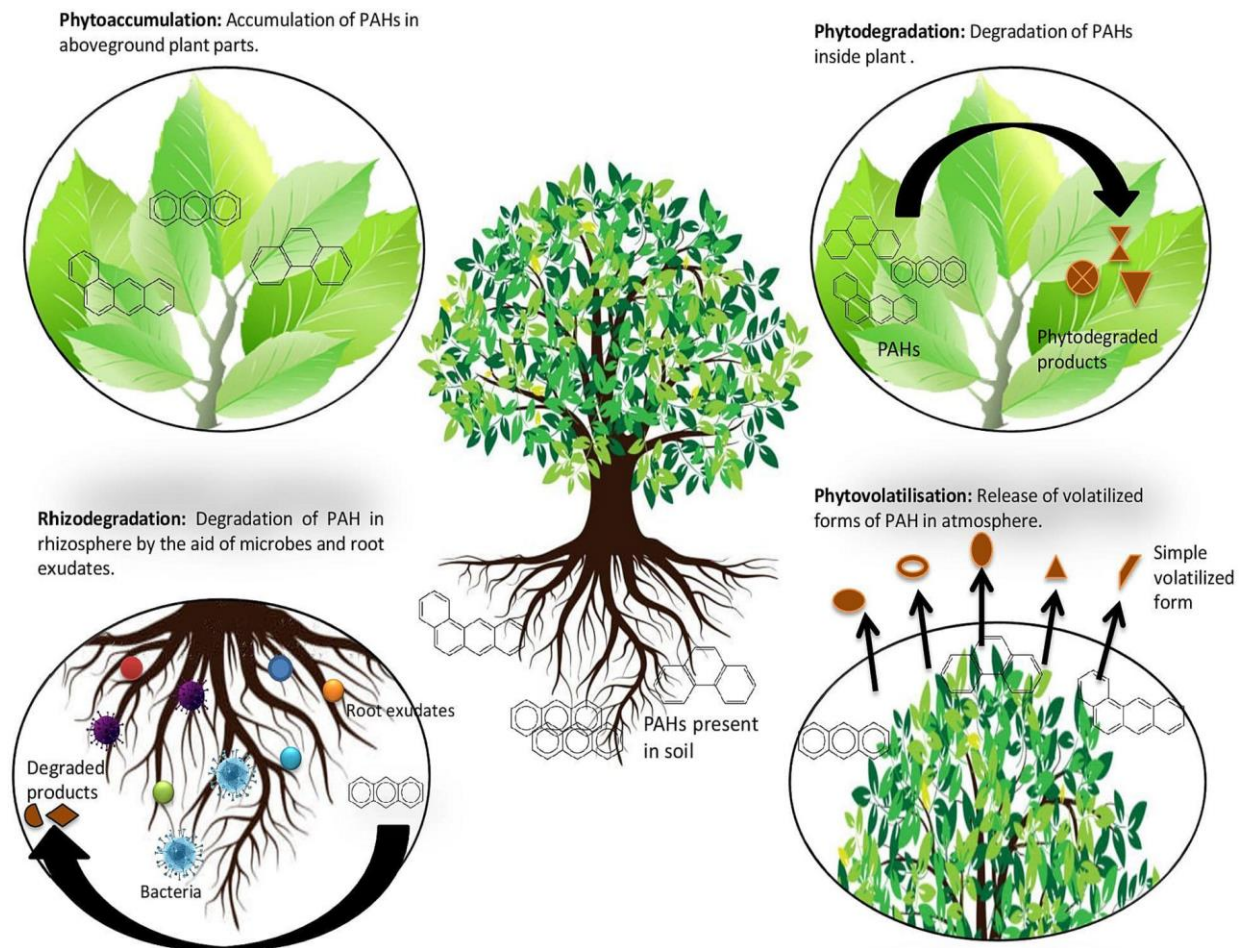
Danas je opšte prihvaćeno da biomonitoring i fitoremedijacija predstavljaju dve ekološki izuzetno pogodne metode za kontrolu i sanaciju zagađenih matriksa životne sredine. Za razliku od nekih klasičnih fizičko-hemijskih metoda, one ne uzrokuju dodatnu štetu ekosistemu, a istovremeno su relativno jednostavne za primenu, ekonomski isplative i održive (Bishnoi i sar., 2024; Haritash i Kaushik, 2009; Patel i sar., 2020; RoyChowdhury i sar., 2015; Włóka i sar., 2019). Dodatno, fitoremedijacija može doprineti poboljšanju kvaliteta zemljišta na kojem se primenjuje.

2.4.1. Fitoremedijacija

Kao što je već istaknuto, PAU se mogu infiltrirati u biljke na više načina, uzrokujući brojne štetne efekte i služeći kao okidači različitih biljnih odgovora, na način da, ili povećavaju toksičnost, ili pak toleranciju PAU u samoj biljci; ovi primarni biljni detoksifikacioni procesi uključuju enzimске transformacije, konjugacije i akumulaciju kontaminanata u ćelijskim zidovima, ili vakuolama, što je iskorišćeno u više metoda fitoremedijacije. Međutim, biljke takođe igraju ključnu ulogu i u stimulaciji mikrobne degradacije PAU proizvodnjom ekskudata korena, poboljšanjem bioraspoloživosti (tj. biodostupnosti) PAU, obezbeđujući izvore ugljenika, ali i promovišući diverzitet zemljišnih mikroba, kao i njihovu aktivnost, tako da i sinergističke akcije biljaka i mikroba značajno doprinose remedijaciji kontaminiranih terena (Alagić i sar., 2015; Haritash i Kaushik, 2009; Košnař i sar., 2019; Tarigholizadeh i sar., 2024).

U literaturi je opisano da se fitoremedijacija organskih zagađujućih materija različite biodostupnosti takođe odvija kroz različite mehanizme (Slika 11.), koji uključuju: fitoekstrakciju/fitoakumulaciju, fitodegradaciju, fitostabilizaciju, rizosfernu biodegradaciju i ređe, fitovolatilizaciju (Prabakaran i sar., 2019; Włóka i sar., 2019; Xiao i sar., 2015).

Biljke koje su uobičajeno birane za svrhe remedijacije PAU, pripadaju uglavnom botaničkim familijama *Poaceae* (trave) i *Fabaceae* (leguminoze, tj., bobovi). Njihova sposobnost za dobro uklanjanje PAU iz kontaminiranog zemljišta bila je dokazana u brojnim fitoremedijacionim eksperimentima. Neke od najistraženijih trava su: *Festuca arundinacea*, *Festuca rubra*, *Agropyron smithii*, *Panicum virgatum*, *Dactylis glomerata*, *Bouteloua gracilis*, *Cyanodon dactylon*, *Elymus canadensis*, *Lolium perenne* itd., dok su leguminoze: *Medicago sativa*, *Melilotus officinalis*, *Lotus corniculatus*, *Trifolium pretense*, *Trifolium repens*, itd. Dodatno, postoji i nekoliko povrtarskih i ratarskih vrsta kao što su: *Avena sativa* (*Poaceae*), *Zea mays* (*Poaceae*), *Helianthus annuus* (*Asteraceae*) i *Brassica napus* (*Brassicaceae*), kao i drvenastih vrsta poput: *Pinus spp.*, *Morus spp.*, *Salix spp.*, *Populus spp.* i *Betula spp.*, koje su takođe bile testirane u sprovedenim eksperimentima. Iako je veliki broj eksperimentalnih dizajna učinio poređenje dobijanih rezultata veoma teškim (skoro neizvodljivim), studije su ipak potvrdile da je uklanjanje PAU predominantno bazirano na takozvanim rizoremedijacionim procesima, dok su procesi fitoekstrakcije/fitoakumulacije mnogo manje efektivni (Alagić i sar., 2016; Haritash i Kaushik, 2009).



Slika 11. Različiti mehanizmi fitoremedijacije PAU koje mogu razviti biljke u kontaminiranom okruženju (Kaur i sar., 2024)

2.4.1.1. Fitoekstrakcija/fitoakumulacija

Fitoekstrakcija/fitoakumulacija se odnosi na ekstrakciju kontaminanata iz zemljišta pomoću biljaka, koje ih pre svega mogu akumulirati u nadzemnim delovima, ali i u korenu. Svakako, tokom procesa fitoakumulacije, kontaminanti prisutni u životnoj sredini, apsorbuju se od strane biljaka zajedno sa vodom i mineralima koji su im potrebni za rast i razvoj. Određene biljne vrste sposobne su da akumuliraju ekstremno visoke koncentracije zagađujućih materija, a naročito metala u nadzemnim delovima i one su poznate kao hiperakumulatori. Ove koncentracije mogu biti od 100-1000 puta veće nego koncentracije koje su normalno prisutne u biljkama, što je od velikog značaja za fitoremedijaciju upravo teških metala kao opasnih kontaminanata životne sredine. Međutim, kada su u pitanju organski kontaminanti, koncept hiperakumulacije je manje moguć zbog činjenice da se putevi njihove ekstrakcije i akumulacije, kao što je već prethodno opisano, prilično razlikuju, a posebno zbog koraka biotransformacije koji je prisutan jedino kod organskih molekula. Potvrđeno je da se uzimanje i transport zagađujućih materija, pa tako i organskih, odvija kroz niz uzastopnih faza: zemljišna čvrsta faza → zemljišna voda/para → koren → transpiracioni tok → izdanak → list. S obzirom da se apsorpcija svih vrsta zagađujućih materija može desiti i kroz lisno tkivo, to je tok, koji je prethodno pomenut, moguć i u suprotnom smeru. Međutim, kod organskih zagađujućih materija, uključujući i PAU, ove ekstrakcije i distribucije mogu biti otežane pre svega njihovim fizičkim i hemijskim svojstvima (rastvorljivost u vodi, napon pare, molekulska masa i koeficijent raspodele oktanol-voda, itd.), a zatim i karakteristikama životne sredine (pH vrednost, temperatura,

sadržaj OM i sadržaj vlage u zemljištu), kao i karakteristikama same biljne vrste (vrsta korenovog sistema, kao i sadržaj lipida u membrani korena, a zatim i tip izlučenih enzima i drugih ekskudata). Ustanovljeno je da biljke najbolje ekstrahuju srednje hidrofobne organske materije sa logKow između 0,5 i 3. Hidrofilne organske materije, koje karakteriše log Kow ispod 0,5, mogu se dobro transportovati unutar same biljke, ali one nisu u stanju da prođu kroz plazmalemu lipidne korenske membrane, koja se ponaša kao barijera za ove materije. Hidrofobna organska jedinjenja sa logKow iznad 3, dobro se rastvaraju u lipofilnoj plazmalemi, ali se zato slabo vezuju u hidrofilnoj citoplazmi. Situacija se praktično svodi na to da biljke koje usvoje određene PAU preko korena, dalje ne mogu da ih transportuju u nadzemne organe, osim u par slučajeva nekih NM PAU (Alagić i sar., 2015).

Za razliku od hiperakumulacije, klasična fitoakumulacija se odlikuje po značajno manjoj količini akumulirane supstance, ali se i dalje, pre svega odnosi na nakupljanje i akumulaciju neorganskih zagađujućih materija u biljnim izdancima. Ovo se smatra korisnim pristupom za uklanjanje, ili smanjenje pre svega, teških metala iz zemljišta, jer ove apsorbovane kontaminante biljke mogu premeštati u nadzemne delove, poput izdanaka i listova. Nakon toga, kontaminirani biljni delovi mogu biti požnjeveni i odloženi na drugim lokacijama, ili spaljeni u sanitarnim spalionicama (Kaur i sar., 2024). Mesta akumulacije PAU u biljnim ćelijama su već opisana, tj. u pitanju su unutarćelijske vakuole, kao i lipofilna mesta na ćelijskim membranama, koja se mogu nalaziti i u korenu i u listu (Alagić i sar., 2015). U zavisnosti od biljne vrste i PAU jedinjenja prisutnog u kontaminiranoj oblasti, nivo korenske bioakumulacije može varirati i on se obično izražava preko takozvanog faktora biokoncentracije (eng. *Bioconcentration Factor*, BCF, koji opisuje tendenciju bioakumulacije jedinjenja u određenom biljnom organu). Osim BCF za koren, mogu se definisati i bioakumulacioni faktori za nadzemne delove (eng. *mobility ratio*, MR), kao i translokacioni faktor (TF), ali to samo u onim slučajevima kada se radioaktivnim izotopom dokaže da je neko zemljišno PAU jedinjenje zaista translocirano iz zemljišta u određeni nadzemni deo (Kaur i sar., 2024; Tao i sar., 2004, 2006):

$$BCF = C_{\text{koren}}/C_{\text{zemljište}} \dots\dots\dots (1)$$

$$MR = C_{\text{nadzemni deo biljke}}/C_{\text{zemljište}} \dots\dots\dots (2)$$

$$TF = C_{\text{nadzemni deo biljke}}/C_{\text{koren}} \dots\dots\dots (3)$$

Faktori bioakumulacije za PAU u različitim biljnim delovima su obično manji od jedinice i kreću su od 0,001 do 0,4, mada u slučajevima ekstremne zagađenosti, njihova vrednost može dostići i vrednost 2 (Alagić i sar., 2015; Tao i sar., 2006). Ispitivanja Alagić i sar. (2016, 2017) na sadržaj PAU u korenju divlje kupine iz borskog regiona (istočna Srbija), pokazali su da BCF vrednosti mogu imati i ekstremno visoke nivoe.

2.4.1.2. Fitodegradacija

Za razliku od neorganskih zagađujućih materija, poput teških metala, koji ostaju nepromenjeni na svom elementarnom nivou, organske zagađujuće materije mogu se razgraditi, ili čak gotovo potpuno mineralizovati uz pomoć biljaka i mikroorganizama koji su sa njima povezani. Po već objašnjenom principu, kada prodru u biljku, organske zagađujuće materije mogu učestvovati u različitim procesima, koje biljke aktiviraju kao skup biohemijskih i fizioloških odgovora, tj.,

procesa odbrane. Da bi se sprečilo toksično delovanje organskih zagađujućih materija, najjednostavniji odgovor biljke može biti u vidu njihovog izlučivanja. U osnovi, izlučivanje osigurava da molekul toksina nije hemijski transformisan, već samo translociran kroz apoplast i izlučen iz biljke. Međutim, ovaj način eliminacije organskog polutanta je prilično redak i odvija se samo u slučaju vrlo mobilnih molekula sa jednostavnim molekulskim strukturama. Češće, polutanti koji prodru u biljnu ćeliju, prolaze kroz transformacije enzimskog tipa koje najčešće dovode do smanjenja toksičnosti, a što je već opisano kroz koncept „zelene jetre“ (Slika 10). Rodonačelnik ovog koncepta je Sanderman i to još devedesetih godina XX veka (Alagić i sar., 2015).

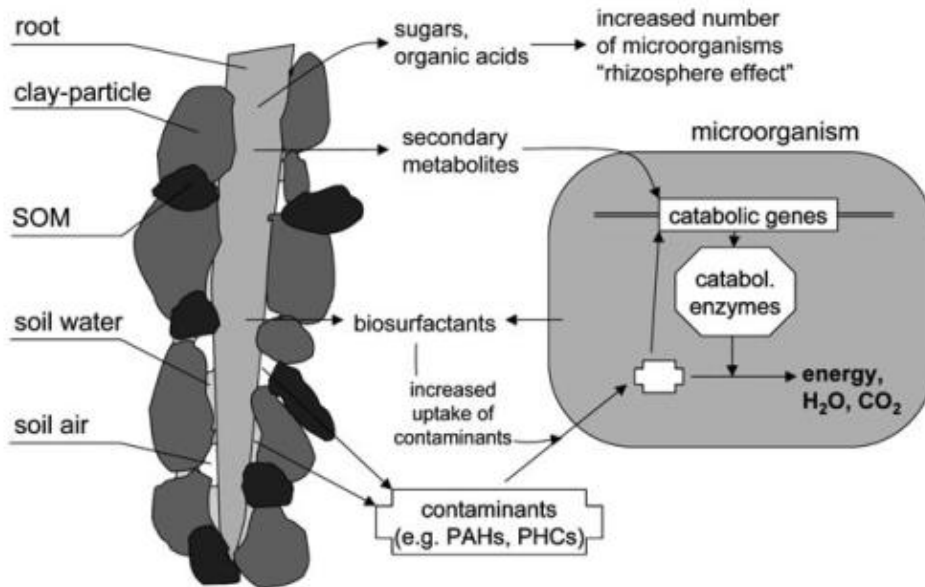
2.4.1.3. Fitostabilizacija

Fitostabilizacija je mehanizam koji može usporiti migraciju organskih zagađujućih materija u zemljištu; temelji se na sposobnosti korenovog sistema biljke da luči ekskudate koji menjaju svojstva zemljišta (pH vrednost, sadržaj vode, itd.), stvarajući uslove za precipitaciju ksenobiotika i smanjujući njihovu biodostupnost. Na primer, peroksidaze biljaka mogu imobilizovati i detoksifikovati mnoge organske zagađujuće materije formiranjem reaktivnih radikala koji mogu biti polimerizovani, istaloženi, ili kovalentno vezani za huminske kiseline (Alagić i sar., 2015). Organske zagađujuće materije se takođe mogu akumulirati u humusu, ili adsorbovati na površini korena, čineći ih nepokretnim i manje toksičnim, ili vezujući ih za lignin, koji je komponenta ćelijskog zida. Ovaj proces pomaže i u obnovi vegetacije u područjima sa slabom vegetacijom (usled jake zagađenosti) (Kaur i sar., 2024).

2.4.1.4. Rizodegradacija

Rizodegradacija je proces fitoremedijacije uz pomoć mikroba, gde se organski kontaminanti uglavnom transformišu mikrobima koji se nalaze u zoni korena biljaka, pre svega u zoni rizosfere (Slika 12.). Jasno je da su procesi u rizosferi često simbiotičke prirode, što proizilazi iz već pomenute intenzivne interakcije između biljaka i mikroba u zemljištu (Alagić i sar., 2015; Košnár i sar., 2019). Glavni mehanizam procesa rizodegradacije koji se odvija u zemljištu je stimulacija aktivnosti rizosfernih bakterija od strane biljaka za razgradnju organskih zagađujućih materija kao što su PAU (Kaur i sar., 2024). Kao što je pomenuto, više biljke se mogu prilagoditi geohemijskom okruženju u rizosferi, stvarajući idealne uslove za rast i razvoj bakterija i gljiva koje mogu razgraditi organske kontaminante sve do CO₂ i H₂O. Primećeno je, na primer, da lučenje enzima, koji deluju kao surfaktanti, može povećati bioraspoloživost organskih zagađujućih materija. Brojne biljne vrste, kao i rizosferni mikrobi, aktivno proizvode ramnolipide (prirodne biosurfaktante), koji smanjuju površinski napon na način da kontaminanti mogu lako preći u tečnu fazu (Slika 12.). Biljke čije korenje izlučuje peroksidaze, katalaze, dehalogenaze, nitroreduktaze, lakaze i druge enzime, ili supstance „čistače“, u većoj meri reaguju na stresne uslove, te su poželjnije u rizoremedijaciji (Slika 12.). Peroksidaze su usko povezane sa oksidativnom polimerizacijom fenolnih jedinica u ćelijskim zidovima, formirajući tamo lignin, ali takođe mogu i da uklone ROS. Lakaze su enzimi koji mogu da oksiduju lignin, poliamine i nekoliko neorganskih jona. Takođe mogu smanjiti toksičnost PAU. Osim lučenja enzima, biljke izlučuju i šećere, aminokiseline, hormone, vitamine i organske kiseline. Takođe, mnoge fenolne supstance koje izlučuju biljke mogu stimulisati rast bakterija. Mnoge biljke stvaraju sekundarne metabolite (alkaloide, izoprenoide, flavonoide), koji se mogu izlučiti kroz korenje u značajnim količinama. Molekulske strukture

sekundarnih metabolita biljaka slične su molekulima organskih zagađujućih materija, tako da mogu da indukuju kataboličke gene mikroorganizama koji razgrađuju ove analoge ksenobiotika (Slika 12.) (Alagić i sar., 2015).



Slika 12. Sinergistički efekti u rizosferi između korena biljaka i rizosfernih mikroba (Reichenauer i Germida, 2008)

Korenje biljaka može čak i da promeni uslove u zemljištu bez učešća eksudata; naime, biljke obezbeđuju stanište za prisutnu populaciju mikroba i u isto vreme - distribuciju kiseonika do korena. Ovo poslednje obezbeđuje procese aerobne transformacije u blizini korena. Korenski sistem prodire u zemljište povećavajući aeraciju i aerobnu degradaciju u dubljim slojevima. Korenje može da obezbedi bolje uslove za biodegradaciju povećanjem vlažnosti zemljišta, kao i uvođenjem ugljen-dioksida u zemljište. Istovremeno, korenovom sistemu je potreban kiseonik za disanje, tako da ukupan efekat gustine korenovog sistema mora biti ozbiljno razmatran kako bi se osmislio uspešan plan rizoremedijacije. Može se reći da interakcije između korenja biljaka, zemljišta i mikrobne populacije u rizosferi mogu izazvati značajnu degradaciju organskih jedinjenja u netoksične, ili manje toksične oblike. Rizodegradacijom je takođe moguće izbeći faze remedijacije kao što je berba i odlaganje, ili uništavanje kontaminiranog biljnog materijala (Alagić i sar., 2015).

2.4.1.5. Fitovolatilizacija

Fitovolatilizacija je mehanizam u kojem se zagađujuće materije oslobađaju u atmosferu u obliku isparljivih supstanci, ili njihovih metabolita putem biljne transpiracije. Iako nije toliko efikasan, ovaj proces u nekim slučajevima omogućava prenos kontaminanata iz zemljišta u atmosferu (Alagić i sar., 2015). Zagađujuće materije se prenose u isparljive oblike kroz metaboličke modifikacije unutar biljaka i mikroorganizama u rizosferi, čineći ih manje toksičnim i omogućavajući njihovu transpiraciju, tj., odavanje u životnu sredinu. Polutant apsorbovan kroz koren prelazi u ksilem, modifikuje se u manje toksičan, a isparljiviji oblik i na kraju se oslobađa u atmosferu (Kaur i sar., 2024). Iako je ovaj proces uspešan za organske kontaminante poput trihlor-etilena i polihlorovanih bifenila, postoje ograničeni podaci o fitovolatilizaciji PAU (Alagić i sar., 2015).

2.4.2. Fitomonitoring

Činjenice da biljke imaju kapacitete ne samo da apsorbuju, već i da akumuliraju PAU iz zagađenih matriksa, igraju vitalnu ulogu ne samo u njihovoj remedijaciji, već i fitomonitoringu, kao metodi biomonitoringa (Sushkova i sar., 2020). Tako je i fitomonitoring PAU također zasnovan na usvajanju i akumulaciji u biljnim delovima, ali pre svega nadzemnim. Naime, s obzirom da su mnogi radovi ukazali da korenje ne može odraziti tačnu situaciju sa PAU u zemljištu (Alagić i sar., 2016, 2017), fitomonitoring ovih jedinjenja je uglavnom namenjen praćenju atmosferskog zagađenja i to pre svega, na osnovu sadržaja u listovima, ili stabljikama različitih vrsta biljaka. Najiskorišćenije vaskularne biljke u biomonitoringu PAU su različite vrste iz roda *Pinus*, tj., iz roda borova, jer borove iglice pokazuju izvanrednu sposobnost za zadržavanje i akumulaciju PAU (Gąsecka i sar., 2015; Ratola i sar., 2010). Lišće drvenastih biljaka kao što su *Quercus ilex* i *Ginkgo biloba*, je također vrlo uspešno korišćeno u svrhe biomonitoringa u različitim kontaminiranim područjima (Gąsecka i sar., 2015), kao i lišće i izdanci brojnih tropskih biljaka (Sojinu i sar., 2010). Karakteristično je da se za amosferski monitoring ugavnom preporučuje upotreba neopranih nadzemnih delova, a naročito lišća, jer je poznato da je ono sposobno da usvaja ne samo određene količine polutanta (preko stoma, ili preko kutikule, takozvana bioakumulacija), već na svojoj površini može da zadrži i značajnu količinu čiste atmosferske depozicije (i do 40%) i tako omogućiti najispravniji uvid u jedan aktuelni profil atmosferskog zagađenja (Simon i sar., 2014; Weber i sar. 2014).

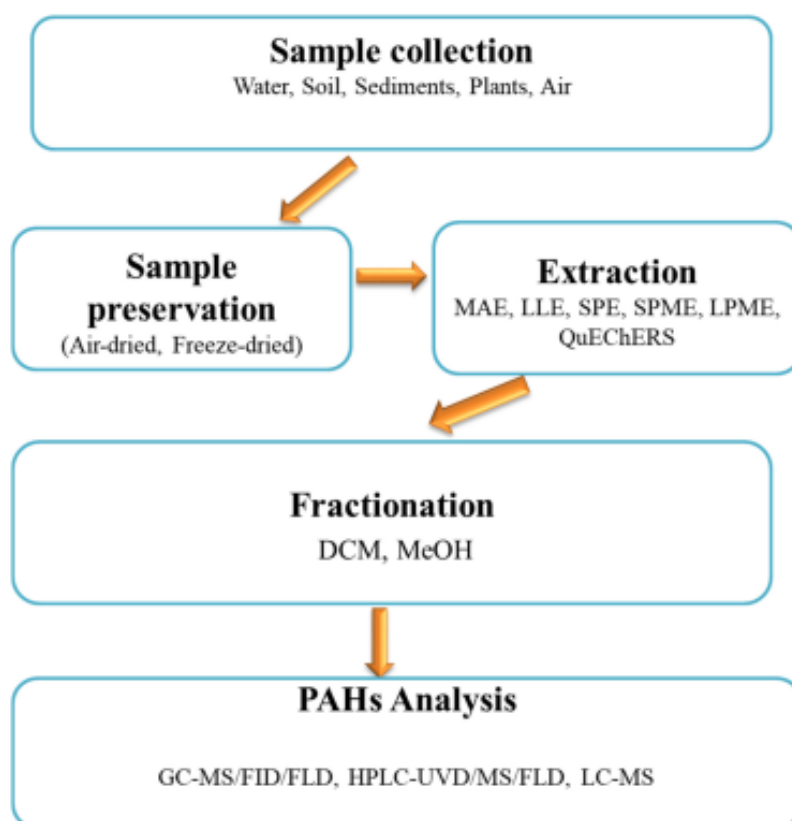
2.5. Hemometrija u analizi i karakterizaciji PAU iz biljnih i zemljišnih uzoraka: Značaj za fitomonitoring i fitoremedijaciju

Da bi se postupci fitomonitoringa i fitoremedijacije ispravno planirali i dizajnirali i kako bi se, na prvom mestu, ispitali potencijali određenih biljnih vrsta u odnosu na pomenute metode kontrole i zaštite životne sredine, potrebno je raspolagati kvalitetnim, modernim, analitičkim instrumentima kojima se koncentracije PAU u zemljišnom, ili biljnom materijalu mogu precizno odrediti, a zatim dalje i procesuirati odgovarajućim metodama statističke analize (“Chemometrics”; Inobeme i sar., 2022). Tako na primer, fitomonitoring uglavnom uključuje celu kolekciju merenja radi praćenja statusa životne sredine; njegovi osnovni principi su razvrstani u tri kategorije: detekcija i monitoring polutanta, identifikacija izvora zagađenja i izveštavanje o prisustvu polutanta. S obzirom da bi generalno posmatrano, fitomonitoring trebao da bude veoma brz proces, on se može pokazati i kao veoma skup i komplikovan za izvođenje. Podaci mogu imati kumulativni karakter, biti nelinearni, ili multivarijantni, što otežava primenu konvencionalnih tehnika koje često imaju značajna ograničenja (Inobeme i sar., 2022). Zbog toga se danas za analizu takvih podataka najčešće koristi hemometrijski pristup, koji podrazumeva primenu različitih matematičkih i statističkih metoda na polje hemije, ali i medicine, biologije, geologije, nutricionistike itd. (“Chemometrics”). Pripp (2013) zato smatra da se hemometrija u stvari, može nazvati jednom relativno novom, multidisciplinarnom naukom. Kramer je još 1998. godine zaključio da hemometrija, posmatrano u najširem smislu, predstavlja umeće u procesuiranju podataka pomoću najrazličitijih numeričkih tehnika, a sve u cilju ekstrakovanja informacija korisnih za dato istraživanje. Na kraju, treba ukazati da ovo ne bi bilo moguće bez postojećeg brzog razvoja moćnih softverskih paketa koji mogu primiti i kompjuterski obraditi ogroman broj podataka.

Može se reći da hemometrija obuhvata primenu statističkih i matematičkih metoda u analizi eksperimentalnih podataka, prevazilazeći tako ograničenja ranije uobičajenog, tj. manuelnog pristupa. Ova metoda omogućava istovremeno precizno kvantitativno određivanje eksperimentalnih rezultata i olakšava otkrivanje trendova u hemijskim (i drugim) skupovima podataka koji su ranije bili zanemarevani, omogućavajući na taj način detaljnu analizu i ekstrakciju ključnih informacija iz složenih analitičkih postupaka (Inobeme i sar., 2022).

2.5.1. Metode izolovanja i hemijske detekcije PAU kao deo hemometrijske karakterizacije i analize biljnih i zemljišnih uzoraka

Poslednjih godina, najveće koncentracije PAU zabeležene su u zemljištu kao poznatom rezervoaru različitih zagađujućih materija (Banach-Szott i sar., 2015; Cvetkovic i sar., 2016), ali, kao što je pokazano u prethodnim poglavljima, nije redak slučaj da se nađu i u biljkama koje ih usvajaju preko korena; s obzirom da ih usvajaju i preko lišća, iz zagađenog vazduha (Sushkova i sar., 2020), analizi i detekciji PAU u uzorcima zemljišta i biljaka posvećena je velika pažnja. Ovde su važni ne samo postupci ekstrakcije i prečišćavanja PAU, već i sama gasna hromatografija sa masenom spektrometrijom (GC/MS) kao metoda koja se najčešće koristi za kvalitativnu i kvantitativnu detekciju ovih opasnih mikro-polutanata (Slika 13.) (Wagrowski i Hites, 1996; Boll i sar., 2008; Liang i sar., 2008; Wang i sar., 2009; Stepanov i sar., 2010).



Slika 13. Procedure ekstrakcije, prečišćavanja i detekcije PAU (Mogashane i sar., 2024)

Danas su istraživačima na raspolaganju brojni analitički instrumenti, koji omogućavaju detekciju organskih zagađujućih materija čak iako su u uzorcima prisutne i u ekstremno niskim koncentracijama, kao što je to slučaj i sa PAU. Kao što je već pomenuto, najbrži i najpouzdaniji

podaci uobičajeno se dobijaju primenom GC/MS analize (Wagrowski i Hites, 1996; Boll i sar., 2008; Liang i sar., 2008; Wang i sar., 2009; Stepanov i sar., 2010), a ovu metodu takođe predviđa i "Pravilnik o graničnim vrednostima, metodama merenja emisije, kriterijuma za uspostavljanje mernih mesta i evidenciji podataka Republike Srbije" ("Službeni glasnik RS", br. 54/92, 30/99, 19/2006).

Priprema izabranih uzoraka predstavlja jedan od najvažnijih koraka, kako bi rezultati ove metode bili što pouzdaniji, a i sami uzorci moraju biti odabrani na jedan sistematski način koji je eventualno dodatno usklađen sa pravcima duvanja preovlađujućih vetrova u ispitivanoj oblasti. Različitim tehnikama ekstrakcije potrebno je dalje izolovati određeni sastojak (na primer, neko od jedinjenja PAU) iz matriksa u kojem se nalazi, ali i razdvojiti ga od ostalih primesa, što se pak postiže postupcima prečišćavanja. Analitički instrumenti su visoko osetljivi i precizni, pa ukoliko se ovi koraci ne sprovedu na odgovarajući način, oni neće moći efikasno da detektuju jedinjenja PAU; u ovom slučaju, može doći do "preklapanja" signala koji nastaje kao rezultat prisustva ne samo targetne grupe jedinjenja, već i drugih nečistoća u uzorcima. Pre samog izolovanja PAU nekada je potrebno da se uzorci koji se uzimaju iz zemljišta, ili sedimenta, čak i zamrznu do analize (do -18°C), što je posebno preporučljivo u slučajevima kada se u njima određuju lako isparljiva jedinjenja (na primer, Nap). U slučajevima kada treba detektovati PAU čija isparljivost nije tako velika, uzorci zemljišta i sedimenta, uobičajeno se usitnjavaju do finoće zrna od < 63 µm, zatim suše i do analize čuvaju kao osušeni prahovi (Liang i sar., 2008; Boll i sar., 2008; Sun i sar., 2009).

Iz vazdušne čestične faze, PAU se najbolje uzorkuju na staklenim filterima, dok se oni iz gasne faze sakupljaju specijalnim poliuretanskim penama (Barrero Mazquiarán i de Pinedo, 2007). Neophodno je da za vreme uzorkovanja filteri budu zaštićeni od svetlosti i u odgovarajućem zatvorenom kontejneru, kako bi se mogla odrediti koncentracija od 0,1 ng/m³ i trebalo bi uzorkovati najmanje 50 m³ vazduha ("Službeni glasnik RS", br. 54/92, 30/99, 19/2006).

Što se tiče uzoraka vode koji se analiziraju na sadržaj PAU, oni se mogu sakupljati sa različitih dubina, u zavisnosti od cilja samog istraživanja, ali je poželjno da se do analize čuvaju na temperaturi od 4°C i to ne duže od dva dana (Ma i sar., 2008; Sun i sar., 2009).

Kada je u pitanju uzorkovanje zemljišta, ono može da se izvodi na različite načine (u zavisnosti od ciljeva istraživanja), ali se najčešće primenjuju takozvano sistematsko i slučajno uzorkovanje. Međutim, u slučajevima kada su u pitanju ciljevi fitoremedijacije, ili zemljišnog fitomonitoringa, najvažnije je da se uzorci zemljišta uzimaju iz korenskih zona biljnih vrsta od interesa, a za koje se može desiti da su, na samom terenu, raspoređene dosta neujednačeno. Ukoliko je potrebno, važno je i da se od tih pojedinačnih uzoraka sa svake ispitivane lokacije naprave reprezentativni uzorci, spajanjem prvobitnih, tj., pojedinačno uzetih količina (iz oblasti korena svakog nađenog primerka pojedinačne biljne vrste). Takođe, kada je u pitanju analiza PAU u ovakvim zemljišnim uzorcima, važno je da alat za uzorkovanje ne bude od plastičnih materijala (pošto se PAU mogu adsorbovati na njima), već pre svega od nerđajućeg čelika, ili hromiran. U istom smislu, tj., kako bi se izbegla kontaminacija uzorka, čak i ambalaža za čuvanje i transport reprezentativnih uzoraka ne sme da sadrži plastične materijale, a vreme čuvanja do GC/MS analize treba da bude što kraće. To znači da se i sušenje, sitnjenje i prosejavanje uzoraka treba obaviti u što kraćem vremenu, kao i samo čuvanje do analize (obično u frižideru, na 4°C) (Nikolić, 2018).

Biološki uzorci se pre analize moraju homogenizovati (mlevenje i miksiranje), a kako bi se zaštitili od kontaminacije čuvaju se u čistim kontejnerima od inertnih materijala poput aluminijuma, stakla, ili nerđajućeg čelika. Poželjno je da se kontejneri prethodno isperu acetonom, ili heksanom visoke čistoće (p.a.), kao i da se izbegava upotreba sudova od plastike. Biološki uzorci se do analize

čuvaju uobičajeno na -18°C (Wagrowski i Hites, 1996; Boll i sar., 2008; Malik i sar., 2008; Wang i sar., 2009).

U slučaju izolovanja pojedinačnih PAU, postoji više tehnika ekstrakcije koje se mogu primeniti ("Službeni glasnik RS", br. 54/92, 30/99, 19/2006), ali je najvažnije da se pre same GC/MS analize rastvori ekstrahovanog materijala frakcionišu, tj., raspodele na frakcije prema polarnosti, odnosno, rastvorljivosti jedinjenja, što se postiže različitim organskim rastvaračima. Oni se najčešće primenjuju u tehnikama hromatografije (pod hromatografijom uopšte, podrazumevaju se analitičke metode kojima se razdvajaju hemijska jedinjenja na osnovu različitih raspodela između dve faze – pokretne, tj., mobilne i nepokretne, tj., stacionarne), poput tankoslojne hromatografije, ili hromatografije na koloni silika-gela, itd. Razdvojene frakcije mogu se dalje veoma uspešno analizirati na analitičkim instrumentima. U odnosu na starije tehnike klasične hemijske analize, kada je bilo neophodno da se neko nepoznato jedinjenje prvo izoluje u čistoj, kristalnoj formi i tek na kraju identifikuje strukturnom analizom, GC/MS procedura predstavlja izuzetno unapređeno rešenje. Ovakva analiza individualnih PAU, ali i njihova identifikacija u okviru uzoraka složenog sastava (kako se ona obično i sreću u životnoj sredini), omogućena je zahvaljujući razvoju gasno-hromatografskih kolona visoke rezolucije. Metoda GC/MS je nezamenljiva i u slučaju analize svih ostalih POPs hemikalija (Nikolić, 2018).

2.5.1.1. Tehnike ekstrakcije PAU

Posle završenog uzorkovanja, pristupa se nekoj od metoda ekstrakcije PAU koje se zasnivaju na raspodeli supstanci između dve faze koje se međusobno ne mešaju, što predstavlja samo jedan od načina razdvajanja i koncentrovanja supstanci. Vreme i troškovi celokupne analize u velikoj meri zavise od odabrane tehnike ekstrakcije. Tako na primer, zemljište koje se analizira, u zavisnosti od toga da li je suvo ili vlažno, zahteva i različit odabir rastvarača za ekstrakciju. Ukoliko je u pitanju vlažno zemljište, ekstrakcija se obično započinje nekim polarnim rastvaračem (aceton, metanol, ili acetonitril). Obično je najbezbednija za upotrebu smesa acetona/heksana. Kada je u ispitivanim uzorcima prisutna voda, neophodno je ponoviti ekstrakciju više puta kako bi ona bila što efikasnija. Kako bi se ekstrahovali polarniji PAU iz zemljišta, koriste se polarni rastvarači, a nakon toga se ekstrakcija ostalih PAU nastavlja nekim manje polarnim rastvaračem. Ovakvo dobijeni ekstrakti moraju da se spoje nakon kompletne operacije ekstrakcije. Za ekstrakciju PAU iz zemljišta uobičajeno se koriste različite smese rastvarača kao što su: dihlormetan/aceton (1:1, v/v), dihlormetan/dietil-etar (1:2, v/v), etil-acetat/heksan (1:1, v/v), aceton/heksan (1:1, v/v), *n*-butanol, piridin, dihlormetan/metanol (1:1, v/v), dihlormetan/aceton (1:1, v/v). Ponekad, korišćenjem dihlormetana dolazi do gubitaka PAU. Zbog visoke tačke ključanja, toluen se izbegava u analizi PAU, ali se ipak njegova primena preporučuje u slučajevima kada zemljište sadrži čestice čađi. Konačno, prilikom odabira rastvarača potrebno je obratiti pažnju na njegovu toksičnost i moguće negativne efekte na životnu sredinu (Nikolić, 2018).

Tehnike ekstrakcije mogu biti različite, mogu biti istovremeno kombinovane i sa tehnikama prečišćavanja, a neke od najkorišćenijih date su u potpoglavljima koja slede.

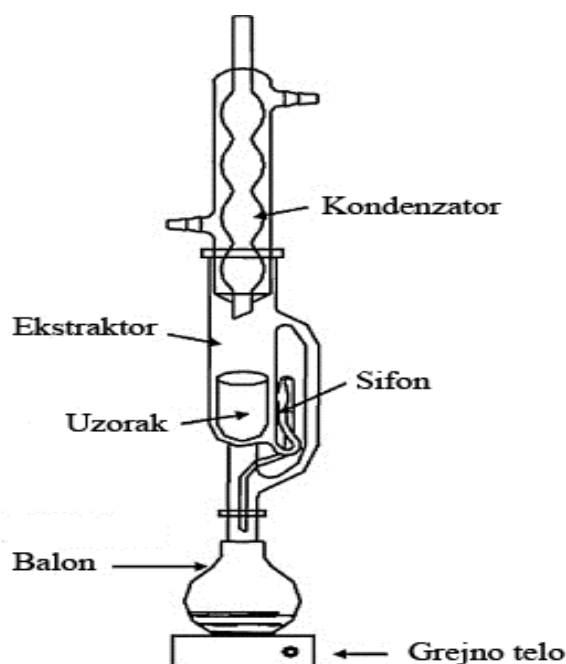
2.5.1.1.1. Ekstrakcija po Soxhlet-u

Jedna od najpoznatijih i često primenjivanih tehnika za izolovanje različitih organskih jedinjenja (a svakako i PAU), iz kompleksnih matriksa je ekstrakcija po Soxhlet-u (Nikolić, 2018).

Ova metoda ekstrahuje ciljane komponente tokom dužeg vremenskog perioda, kontinuiranom ekstrakcijom čvrstog uzorka odgovarajućim rastvaračem. Ekstrakcija po Soxhlet-u može trajati od nekoliko sati do nekoliko dana, u zavisnosti od složenosti uzorka i potrebne efikasnosti ekstrakcije. Ovaj pristup se upravo i koristi zbog visoke efikasnosti ekstrakcije i ponovljivosti. Međutim, kako zahteva dosta vremena, a i veliku količinu rastvarača, izvođenje ove tehnike i odlaganje upotrebljenih rastvarača treba obavljati pažljivo, kako bi se smanjio negativan uticaj na životnu sredinu (Mogashane i sar., 2024).

Za ekstrakciju PAU, najčešći rastvarači koji se koriste u ovoj tehnici su dihlorometan, heksan i toluen i to zbog njihove sposobnosti da rastvore ove nepolarne molekule (Mogashane i sar., 2024). Praktično, u čauru za ekstrakciju stavlja se uzorak zemljišta (Nikolić, 2018), biljke, ili nekog drugog matriksa, a zatim se ona smešta u aparaturu po Soxhlet-u i ekstrahuje rastvaračem, odnosno smesom rastvarača, uz refluks. Nakon postizanja potrebne temperature, rastvarač isparava i kondezuje se u kondenzatoru; kondenzovani rastvarač ide niz čauru, ekstrahuje jedinjenje iz uzorka i kada se nakupi dovoljna količina vraća se u rastvor u balonu sifoniranjem (Slika 14.) (Mogashane i sar., 2024).

PAU se kontinuirano ekstrahuje iz uzorka, kada se ekstrakcija ponavlja više puta, u nekoliko ciklusa. Upotreba većih količina toksičnih organskih rastvarača zapravo predstavlja glavnu manu ekstrakcije po Soxhlet-u, jer se na 10 g uzorka uobičajeno koristi 150 mL nekog rastvarača (Mogashane i sar., 2024). Kako bi se postigla dobra efikasnost, ova tehnika zahteva i dugo vreme izvođenja, pa može trajati i do 24 h. Još jedan nedostatak ekstrakcije po Soxhlet-u je slaba selektivnost za ekstrakciju PAU. Postoji i mogućnost kontaminacije uzorka, gubitka nekih jedinjenja tokom uparavanja, kao i nemogućnost rastvaranja dobijenog suvog ostatka (Nikolić, 2018).



Slika 14. Aparatura za ekstrakciju po Soxhlet-u (Nikolić, 2018)

Uprkos navedenim manjkavostima, ova tehnika se i dalje često primenjuje u analizi PAU u zemljištu, jer se pokazalo da je ekstrakcija po Soxhlet-u imala sličnu efikasnost kao i neke savremenije tehnike, poput ekstrakcije sa velikom brzinom kretanja rastvarača (eng. *Accelerated Solvent Extraction*, ASE), ekstrakcije superkritičnim fluidima (eng. *Supercritical Fluid Extraction*,

SFE) i mikrotalasne ekstrakcije (eng. *Microwave-assisted Extraction*, MAE). Sa porastom molekulske mase PAU, raste i efikasnost Soxhlet-ove ekstrakcije i iznosi od 84-100% za PAU koji sadrže preko 4 prstena (Nikolić, 2018). Automatizovana ekstrakcija po Soxhlet-u, predstavlja nešto efikasniju verziju koja podrazumeva kombinaciju ključanja i ispiranja, tako da se smanjuje vreme ekstrakcije, a brzo uparavanje rastvarača omogućava smanjenje zapremine rastvarača koji se upotrebljava. Uzorak se obično smešta u čauru koja se ovog puta direktno uranja u rastvarač i na taj način se poboljšava efikasnost ekstrakcije (Khan i sar., 2005). Primenom ove tehnike, za analizirane PAU, dostiže se efikasnost i do 100%. Vreme trajanja postupka je znatno kraće u poređenju sa klasičnom Soxhlet-ekstrakcijom i najčešće iznosi do 2 sata (Nikolić, 2018).

2.5.1.1.2. Ekstrakcija rastvaračima koji se kreću velikom brzinom (ASE) / Ekstrakcija rastvaračem pod pritiskom (PFE)

Jedna od savremenijih tehnika ekstrakcije u kojoj se rastvarač zagreva iznad temperature ključanja, ali se održava u tečnoj fazi povećanjem pritiska naziva se ekstrakcija rastvaračima koji se kreću velikom brzinom (ASE / ekstrakcija rastvaračem pod pritiskom (eng. *Pressurised Fluid Extraction*, PFE)) (Mogashane i sar., 2024). Veća dodirna površina između uzorka i rastvarača, stvara se kao posledica povišenog pritiska koji dovodi do rastvaranja mehurića vazduha, što je veoma pogodno za analizu PAU. Ekstrakcija se obično sprovodi na temperaturama od 50 - 200°C i pritisku od 10432 - 20864 kPa. U odnosu na ekstrakciju po Soxhlet-u, efikasnost ASE je i dva puta veća, a kao najbolji rastvarač pokazala se smesa aceton/izoheksan (Nikolić, 2018).

Visok pritisak olakšava rastvaranje vazdušnih mehurića povećanjem količine uzorka izloženog rastvaraču za ekstrakciju i poboljšava sposobnost zagrejanog rastvarača da podstiče rastvorljivost. Za ekstrakciju organskih jedinjenja iz različitih čvrstih materijala, uključujući PAU, dostupni su mnogi komercijalni ASE sistemi. Kada se temperatura i pritisak povećaju na odgovarajući način, uzorci zemljišta se stavljaju u ekstrakcione ćelije i dodaje se organski rastvarač. Primećeno je da je efikasnost ekstrakcije PAU iz zemljišta korišćenjem ASE tehnike dvostruko veća u odnosu na ekstrakciju po Soxhlet-u, a pošto se koriste visoki pritisci, ASE ima i prednost u tome što zahteva manje vremena i manje rastvarača. Korišćenjem kontinualne kolone za prečišćavanje, proces ekstrakcije može biti potpuno automatizovan, minimizirajući tako gubitak isparljivih PAU, ali i nepotrebno vreme pripreme i mogućnost kontaminacije koja može nastati usled mehaničkog mućkanja (Mogashane i sar., 2024).

2.5.1.1.3. Ultrazvučna ekstrakcija

Najjednostavnija tehnika koja se koristi za ekstrakciju PAU je ultrazvučna ekstrakcija, bazirana na upotrebi ultrazvučnih talasa sa minimalnom frekvencijom od 16 kHz (Nikolić, 2018). U ultrazvučno kupatilo postavlja se pripremljeni uzorak, koji se smešta u sud u koji se dodaje i odgovarajući rastvarač (Mogashane i sar., 2024). Uzorci koji sadrže analit u tragovima potrebno je ekstrahovati više puta, uvek sa svežom porcijom rastvarača. Pošto se ovaj proces odigrava na sobnoj temperaturi, ekstrakcija starijih zemljišta se obično odvija otežano (Khan i sar., 2005). Pojedini istraživači postigli su mnogo bolje prinose PAU koristeći ultrazvučnu ekstrakciju u odnosu na ekstrakciju po Soxhlet-u, zbog njenog lakšeg izvođenja i veće efikasnosti ekstrakcije. Ipak, efikasnost ekstrakcije zavisi pre svega od tipa uzorka, kao i koncentracije analita. Sa druge strane, u pojedinim eksperimentima primećena je znatno niža efikasnost ultrazvučnom ekstrakcijom,

posebno za PAU sa manjom molekulskom masom (Mogashane i sar., 2024) i to čak do 44-76% (Nikolić, 2018).

2.5.1.1.4. Mikrotalasna ekstrakcija (MAE)

Kao jedna od novijih tehnika za efikasno izolovanje PAU iz različitih matriksa, uključujući biljni materijal, zemljište i sedimente, je i ekstrakcija uz pomoć mikrotalasa, odnosno mikrotalasna ekstrakcija (eng. *Micro-wave assisted extraction*, MAE) (Mogashane i sar., 2024). Kod MAE tehnike, koriste se mikrotalasi kao izvor zagrevanja smese rastvarač – uzorak, pri čemu se postiže značajno ubrzanje ekstrakcije (Khan i sar., 2005). Druge prednosti u odnosu na standardne procedure uključuju upotrebu manjih količina rastvarača i poboljšanu efikasnost ekstrakcije (Mogashane i sar., 2024). Pri upotrebi mikrotalasa ne dolazi do razgradnje uzorka, a rastvarač koji se koristi, mora apsorbovati mikrotalase. Kada se u toku ekstrakcije koriste zatvoreni sudovi sa kontrolisanim pritiskom i temperaturom, ova tehnika se naziva mikrotalasna ekstrakcija pod pritiskom (eng. *Pressurized MAE*, PMAE) koja značajno smanjuje gubitak isparljivih komponenti i omogućava bolju kontrolu uslova ekstrakcije (Mogashane i sar., 2024). Kada se koriste otvoreni sudovi, na atmosferskom pritisku, radi se o usmerenoj mikrotalasnoj ekstrakciji (eng. *Focussed MAE*, FMAE) (Khan i sar., 2005). Prednost ove ekstrakcije je rad sa malim količinama rastvarača i kratko vreme trajanja ekstrakcije. U poređenju sa SFE, troškovi MAE su nešto manji. Osim toga, specifičan mehanizam zagrevanja omogućava ostvarivanje interakcije sa polarnim molekulima, što olakšava ekstrakciju PAU (Nikolić, 2018).

Ova tehnika je korisna kada se PAU ekstrahuju iz složenih matriksa, gde bi tradicionalne metode mogle biti neefikasne, ili dugotrajne. Zbog svoje efikasnosti i ponovljivosti, MAE je naročito korisna u analizi uzoraka iz životne sredine. Prilikom upotrebe MAE, kod različitih vrsta uzoraka, koriste se manje količine rastvarača (u odnosu na druge tehnike), što ima minimalan negativan uticaj na životnu sredinu. Mikrotalasna ekstrakcija je jeftinija i od ekstrakcije superkritičnim fluidima. Glavno ograničenje ove metode je potreba da se rastvarač fizički odvoji od uzorka matriksa radi dalje analize nakon ekstrakcije PAU. Ova metoda proizvodi čistiji i manje kontaminirani ekstrakt (Mogashane i sar., 2024).

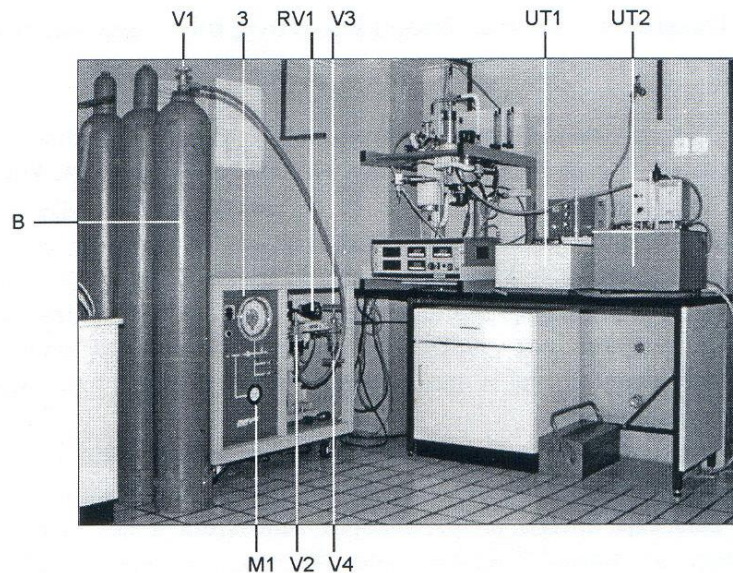
2.5.1.1.5. Alkalna saponifikacija sa ekstrakcijom tečno-tečno

U analizi PAU u zemljištu, sedimentima, pa i biološkim uzorcima, često se upotrebljava alkalna saponifikacija u kombinaciji sa tečno-tečno ekstrakcijom. Reflukcija uzoraka se obično izvodi sa 0,5 M rastvorom KOH u smesi metanol:toluen, a nakon toga hlade do sobne temperature. Organski sloj se ekstrahuje pomoću toluena, a zatim se dobijeni ekstrakt ispere destilovanom vodom, osuši natrijum-sulfatom, filtrira i koncentruje. Tokom alkalne saponifikacije dolazi do razgradnje huminskih supstanci, a iz njih se naknadno oslobađaju zagađujuće supstance koje se posle ekstrakcije mogu analizirati odgovarajućim metodama (Nikolić, 2018).

2.5.1.1.6. Ekstrakcija superkritičnim fluidima (SFE)

Jedna od efikasnijih tehnika za ekstrakciju PAU iz uzoraka iz životne sredine je ekstrakcija superkritičnim fluidima (SFE) (Mogashane i sar., 2024). Ekstrakcija superkritičnim fluidima je bazirana na fluidima koji imaju osobine i tečnosti i gasa, a čiji su temperatura i pritisak iznad

kritičnih (Khan i sar., 2005). Fizičke osobine ovih fluida (gustina slična tečnosti, mala viskoznost i velika moć difuzije) omogućavaju njihov prodor u pore većine materijala i rastvaranje skoro svih prisutnih komponenti. U ove svrhe najčešće se koristi ugljen-dioksid (Magashane i sar., 2024), koji na 31°C i 7380 kPa postaje superkritični fluid, a pri tome je i ekološki prihvatljiv. Neki od modela uređaja za ekstrakciju superkritičnim fluidima prikazani su na Slici 15 a) i 15 b).



Slika 15. a) Uređaj za SFE (NOVA, Swiss), postavljen u laboratoriji za SFE Tehnološkog fakulteta u Novom Sadu, Univerzitet u Novom Sadu (Autor: Slađana Alagić)
V1, V2, V3, V4 – Ventili; RV1 - Regulatorni ventil; UT1, UT2 – Ultratermostati; M1 – Manometar; B - Boca sa ugljen-dioksidom



b) SFE uređaj, laboratorija "Sentryca" (<https://www.sentryca.com/supercritical-fluid-extraction/>)

Upoređujući ekstrakciju po Soxhlet-u, moguće je zaključiti da je SFE tehnika zahtevnija za rad, ali je činjenica da ona daje niže standardne devijacije i bolju selektivnost, te se može preporučiti u analizi PAU. Generalno, u poređenju sa tradicionalnim procedurama, SFE omogućava brže vreme ekstrakcije i često se može završiti za manje od sat vremena. Kako bi se ekstrahovali samo PAU, uz minimalnu ko-ekstrakciju neželjenih supstanci, visoka efikasnost se postiže preciznim podešavanjem parametara ekstrakcije superkritičnim CO₂ (temperatura, pritisak, ko-rastvarač). Superkritični CO₂ ne samo da rastvara PAU, već i efikasno prodire u matriks uzorka

(Mogashane i sar., 2024). Postoje i sistemi za SFE ekstrakciju koji omogućavaju analizu PAU pomoću GC/MS i to bez prethodnog prečišćavanja dobijenog ekstrakta (Nikolić, 2018).

2.5.1.1.7. Mikroekstrakcija tečnom fazom (LPME)

PAU se mogu ekstrahovati sa velikom efikasnošću i korišćenjem mikroekstrakcije tečnom fazom (eng. *Liquid Phase Microextraction*, LPME). Ova tehnika nudi prednosti poput povećane osetljivosti u izolovanju analita iz matriksa, kao i korišćenje male količine rastvarača za ekstrakciju. Da bi se postigli željeni rezultati, uslovi ekstrakcije moraju biti dobro optimizovani. Duboko eutektički rastvarači (eng. *Deep Eutectic Solvents*, DES), jonske tečnosti (eng. *Ionic Liquids*, IL), surfaktanti i rastvarači koji menjaju hidrofilitnost su neki od novih medija koji se mogu iskoristiti za ekstrakciju kod LPME. Glavne karakteristike ovih ekstraktanata uključuju nisku toksičnost, nizak napon pare, jednostavnost sinteze i opštu sigurnost. Disperzivna tečno-tečno mikroekstrakcija (eng. *Dispersive Liquid-liquid Microextraction*, DLLME), LPME sa šupljim vlaknom (eng. *Hollow-fibre LPME*, HF-LPME) i mikroekstrakcija sa jednom kapljicom (eng. *Single-drop Microextraction*, SDME) su tri osnovne vrste LPME metoda (Mogashane i sar., 2024).

DLLME je tehnika koja koristi ultrazvuk i binarni disperzivni agens za ekstrakciju PAU različitih molekularnih masa iz vode. Pri optimizaciji procesa, za ekstrakciju analita uzeti su u obzir postavke centrifugiranja, vreme ultrazvučnog tretmana, odnosi komponenti i sastav smese. U jednom primeru, kada je bila završena priprema uzoraka, sistem je povezan sa GC/MS-om, identifikovani su analiti u veoma niskim koncentracijama (od 0,0002 $\mu\text{g/L}$) sa relativnim standardnim devijacijama od 8% i reproduktivnošću koja dostiže 80% (Mogashane i sar., 2024).

2.5.1.1.8. Ekstrakcija čvrstom fazom (SPE) i mikroekstrakcija čvrstom fazom (SPME)

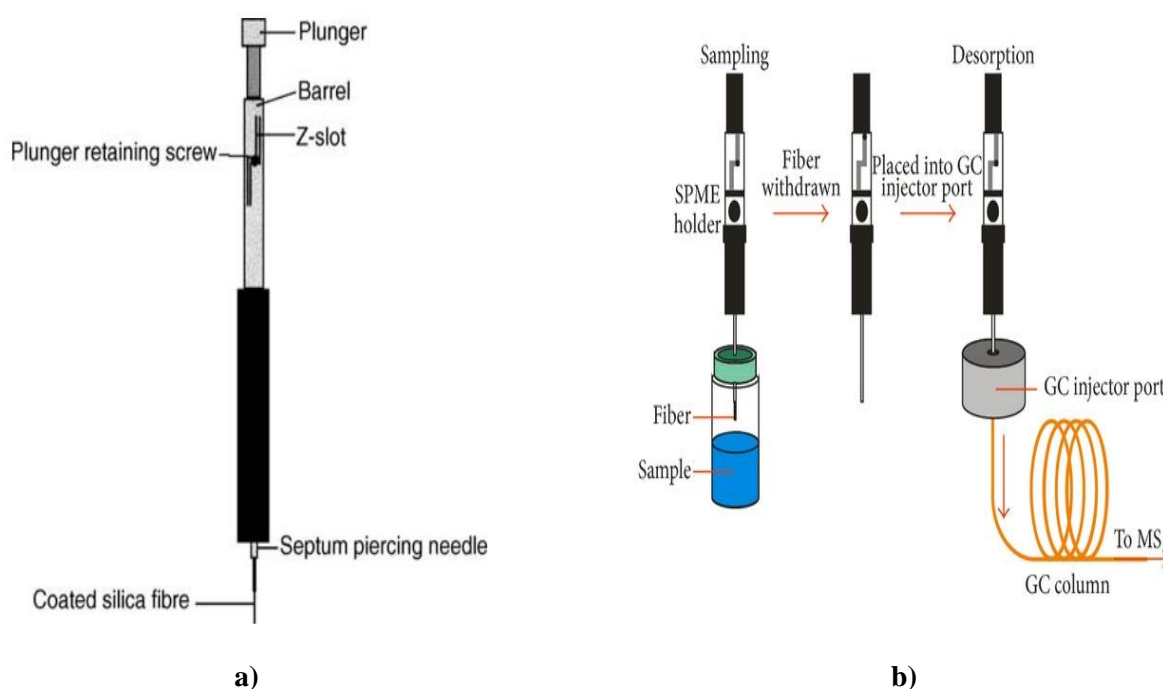
Ekstrakcija čvrstom fazom (eng. *Solid Phase Extraction*, SPE) je efikasna tehnika koja se široko koristi za ekstrakciju analita iz različitih vrsta uzoraka. Ova metoda koristi kertridže, kolone, ili špriceve sa adsorbentnim materijalom na kojima se analiti adsorbuju, a svaka od ovih metoda nudi specifične prednosti i može se prilagoditi kako bi se zadovoljile i specifične analitičke potrebe. Njena svestranost i široka primenljivost u analitičkoj hemiji čine SPE popularnim izborom u pripremi različitih tipova uzoraka (Crizel i sar., 2023).

Ekstrakcija čvrstom fazom je široko korišćena tehnika za ekstrakciju PAU iz uzoraka poreklom iz životne sredine. Ona podrazumeva prolazak uzorka kroz čvrst adsorbentni materijal na bazi smole, ili silicijum-dioksida, spakovan u ketridž, ili disk. Na osnovu svojih hemijskih svojstava, kao što su hidrofobnost i π - π interakcije, PAU se selektivno zadržavaju na adsorbentu, dok se preostale komponente ispitivane matrice ispiraju. Ciljani analiti se koncentrišu na sorbentu. Ekstrakcija čvrstom fazom nudi nekoliko prednosti za ekstrakciju PAU iz uzoraka iz životne sredine, uključujući visoku selektivnost, visoku osetljivost i reproduktivnost. Omogućava koncentrisanje analita iz velikih zapremina uzoraka, što dalje omogućava niže granice detekcije. Međutim, SPE takođe ima i neka ograničenja, kao što su potreba za specijalizovanom opremom i potrošnim materijalima, kao i potencijalni gubitak uzorka tokom procesa ekstrakcije. Optimizacija SPE parametara, uključujući izbor sorbenta, izbor rastvarača i uslove elucije, neophodna je za efikasnu ekstrakciju PAU iz uzoraka uzetih iz životne sredine (Mogashane i sar., 2024).

Kod zemljišnih uzoraka, za brzu ekstrakciju PAU, uzorci se prvo moraju isprati odgovarajućim rastvaračem, kako bi se iz njih uklonile neželjene komponente (koje smetaju analizi

PAU). Dalje se uzorci zemljišta obično ekstrahuju acetonom, mešaju sa vodom i prenose na odgovarajuću kolonu; nakon ispiranja PAU se obično ekstrahuju tetrahidro-furanom (Nikolić, 2018).

Tehnika koja služi za izolovanje analita u tragovima (i takođe se primenjuje za ekstrakciju PAU iz zemljišta) je mikroekstrakcija čvrstom fazom (eng. *Solid Phase Microextraction*, SPME) (King i sar., 2003; Mogashane i sar., 2024). Osnovni deo sistema za mikroekstrakciju je špric sa vlaknom dužine 1 cm izrađenim od odgovarajućeg polimera i povezanim sa klipom od nerđajućeg čelika koji reguliše uzorkovanje (Slika 16.). Za nepolarna jedinjenja kao što su PAU, obično se koristi nepolarni polimer polidimetilsiloksan (PDMS) (King i sar., 2003). Sam proces je zasnovan na raspodeli analita u vlaknu, odnosno na selektivnoj sorpciji analita u aktivnom sloju samog vlakna i direktnoj desorpciji u injektor hromatografa. Kako se za ekstrakciju koriste veoma male količine uzorka, potrebno je voditi računa da ne dođe do gubitaka (Nikolić, 2018).



Slika 16. a) Dizajn SPME uređaja (King i sar., 2003) i **b)** primena u SPME-GC/MS (Schmidt i Podmore, 2015)

Glavne prednosti SPME su njena brzina, jednostavnost i terenska pogodnost, jer se može izvoditi na mestu uzorkovanja. Konfiguracija SPME uređaja omogućava ekstrakciju malih količina uzoraka, koji potom mogu biti analizirani bez ikakvog prethodnog tretmana. Ipak, za održavanje doslednosti u kvalitetu i ishodima procesa ekstrakcije, potrebna je velika preciznost u samoj proizvodnji kako bi se postignla uniformnost u konstrukciji vlakana (Mogashane i sar., 2024).

2.5.1.1.9. Magnetna ekstrakcija čvrstom fazom (MSPE)

PAU se mogu ekstrahovati i uz pomoć nove metode, tj., korišćenjem magnetne ekstrakcije čvrstom fazom (eng. *Magnetic Solid-phase Extraction*, MSPE), koja ima niz prednosti u odnosu na konvencionalne tehnike. Praktično, upotrebom magnetnih nanočestica ugrađenih u selektivni sorbent, MSPE omogućava brzo i efikasno ekstrakovanje PAU u tragovima iz kompleksnih matriksa i to sa minimalnom količinom rastvarača. Bez potrebe za centrifugiranjem, ili filtracijom,

sorbent se može lako odvojiti od uzorka pomoću spoljnog magnetna, zahvaljujući magnetnim svojstvima prisutnih nanočestica. Ipak, postoje i određeni nedostaci ove metode, kao što je mogućnost agregacije nanočestica, što može dovesti do smanjenja efikasnosti ekstrakcije, ali i potreba za pažljivim optimizovanjem uslova kako bi se dobili pouzdani rezultati. Takođe, proizvodnja i funkcionalizacija magnetnih nanočestica mogu biti skupe i vremenski zahtevne, što bi moglo sprečiti široku primenu ove metode u svakodnevnim istraživanjima životne sredine. Uprkos tim preprekama, MSPE i dalje predstavlja održivu metodu za efikasnu ekstrakciju PAU iz različitih uzoraka iz životne sredine (Mogashane i sar., 2024).

Jasno je da se MSPE ekstrakcija oslanja na magnetnu interakciju. U ovoj metodi, materijal koji se koristi za adsorpciju analita je magnetne prirode. Nakon što se postigne određeno vreme kontakta, primenjuje se spoljašnji magnet kako bi se odvojio magnetni materijal od rastvora, prenoseći sa sobom komponente od interesa. Na kraju se vrši desorpcija u posebnoj posudi, kako bi se oslobodile željene komponente iz magnetnog materijala. Ovaj proces je vrlo efikasan i brz, jer eliminiše potrebu za kolonama za ekstrakciju i oslanja se isključivo na magnetni adsorbent (Crizel i sar., 2023).

2.5.1.1.10. Poređenje pojedinih tehnika koje se mogu koristiti za ekstrakciju PAU

Prezentovani materijal ukazuje da sve navedene tehnike ekstrakcije PAU imaju svojih prednosti i mana, pa su najvažnije od njih uporedno prikazane, tj. upoređene u Tabeli 2.

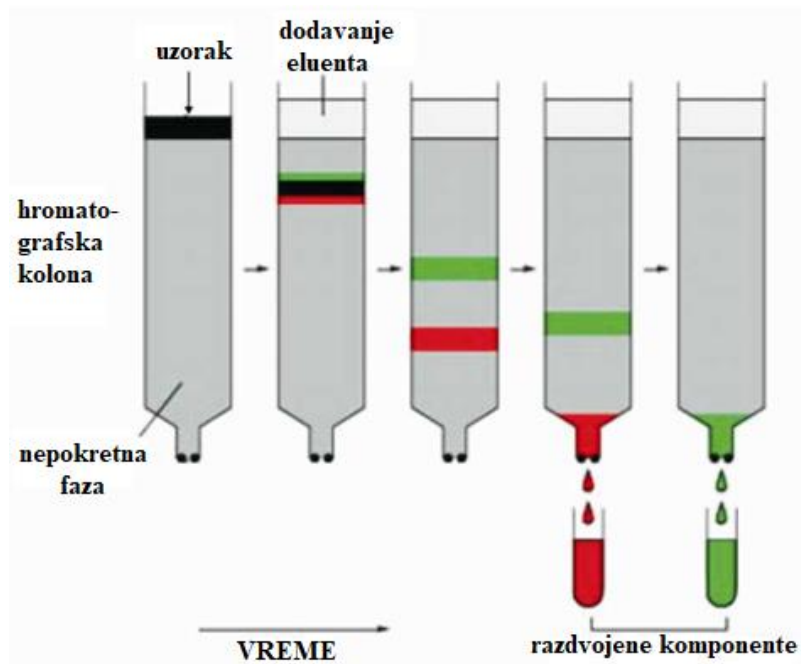
Tabela 2. Poređenje pojedinih tehnika koje se mogu koristiti za ekstrakciju PAU (Khan i sar., 2005; Nikolić, 2018)

Tehnika ekstrakcije	Prednosti	Nedostaci
Ekstrakcija po Soxhlet-u	<ul style="list-style-type: none"> • Klasična i najčešće primenjivana metoda • Dobra efikasnost za određene PAU 	<ul style="list-style-type: none"> • Dugo vreme analize • Skupa, zahteva velike količine rastvarača • Relativno niska efikasnost za neke PAU
Ultrazvučna ekstrakcija	<ul style="list-style-type: none"> • Jeftina • Brza • Jednostavna 	<ul style="list-style-type: none"> • Niska selektivnost • Niža efikasnost u poređenju sa ekstrakcijom po Soxhlet-u i ASE
Ekstrakcija velikom brzinom kretanja rastvarača	<ul style="list-style-type: none"> • Dobra efikasnost za analizu PAU • Brza • Male količine rastvarača 	<ul style="list-style-type: none"> • Niska selektivnost
Mikrotalasna ekstrakcija	<ul style="list-style-type: none"> • Male količine rastvarača • Jeftina • Brza 	<ul style="list-style-type: none"> • Niska selektivnost • Posedovanje specifične opreme za njeno izvođenje
Ekstrakcija superkritičnim fluidima	<ul style="list-style-type: none"> • Odlična selektivnost • Brza 	<ul style="list-style-type: none"> • Niska efikasnost za PAU VMM • Efikasnost odvajanja zavisi od matriksa uzorka • Posedovanje specifične opreme za njeno izvođenje
Mikroekstrakcija čvrstom fazom	<ul style="list-style-type: none"> • Upotreba vrlo malih količina rastvarača • Brza • Jednostavna za izvođenje 	<ul style="list-style-type: none"> • Niska selektivnost • Posedovanje specifične opreme za njeno izvođenje

2.5.1.2. Prečišćavanje dobijenih ekstrakata

Razdvajanje željene supstance od ostalih ko-ekstrahovanih supstanci predstavlja operaciju koja je generalno prepoznata kao postupak prečišćavanja (eng. *Clean up*). Selektivnost odabrane metode ekstrakcije značajno utiče i na izbor tehnike prečišćavanja dobijenog ekstrakta. Tehnike prečišćavanja uzoraka za analizu PAU mogu biti **tehnike prefiltriranja**, za uklanjanje većih količina biološkog materijala koji može da zaostane i posle ekstrakcije i **tehnike frakcionisanja**, za odvajanje ciljane supstance od ostalih eventualno ekstrahovanih organskih supstanci (Khan i sar., 2005; Nikolić, 2018).

Ova dva postupka se često kombinuju za uzorke koji sadrže jedinjenja u tragovima, kao što je to slučaj kod PAU. Osim PAU, uzorci iz životne sredine koji se analiziraju, obično sadrže i alifatične ugljovodonike, aromatične ugljovodonike sa samo jednim prstenom, proteine, lipide, kao i druge različite organske supstance i naravno, sva ova jedinjenja se mogu ekstrahovati zajedno sa ciljanim PAU. Prečišćavanje uzoraka od neželjenih supstanci, tj., dalja procedura u detekciji PAU, izvodi se tehnikama koje su pomenute prethodno, ali se najčešće primenjuju: hromatografija na koloni (Slika 17.), ekstrakcija pomoću čvrste faze, kao i tečna hromatografija visoke efikasnosti (eng. *High Performance Liquid Chromatography*, HPLC) (Khan i sar., 2005; Nikolić, 2018).



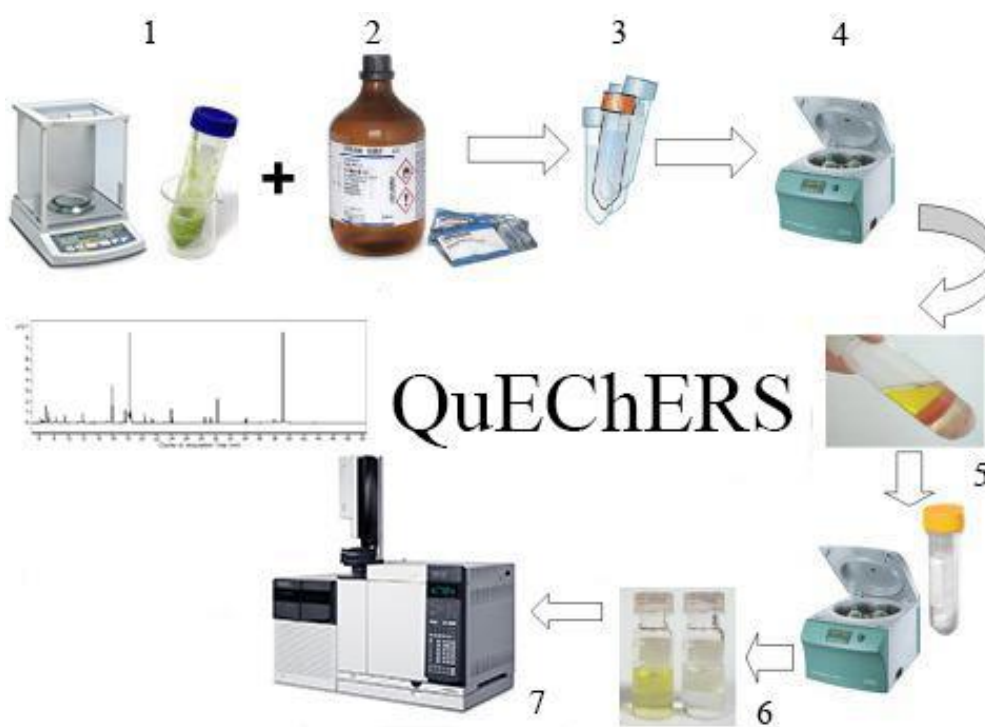
Slika 17. Razdvajanje dve komponente na klasičnoj hromatografskoj koloni (Ristić, 2019)

Hromatografija na koloni podrazumeva vertikalni stakleni stub (kolona) ispunjen određenom količinom stacionarne faze, tj. čvrstog sorbensa kao što su silika-gel i aluminijum-oksidi (Slika 17.). Na ovako pripremljenu kolonu nanosi se uzorak i dodaje mobilna faza, tj., eluent koji obezbeđuje kontrolisani protok, a koja se niz stub stacionarne faze, kreće pod uticajem gravitacije. Pre nanošenja uzorka na kolonu, ona se ispira pogodnim rastvaračem (pentanom najčešće), dok se PAU sa kolone uobičajeno eluiraju smesom dihlormetan/pentan (Nikolić, 2018).

Ekstrakcija čvrstom fazom (SPE) je takođe već opisana i kod koje takođe dolazi do zadržavanja jedinjenja na čvrstom nosaču koji pokazuje veliki afinitet prema jedinjenju koje treba razdvojiti iz neke smese. Nakon njegovog vezivanja za čvrstu fazu, primenjuje se odgovarajući rastvarač radi njegovog daljeg eluiranja sa te čvrste faze. Proces ekstrakcije čvrstom fazom podrazumeva nekoliko obaveznih koraka: 1) Kondicioniranje sorbensa - propuštanje male količine rastvarača kroz sorbens da bi se isti pripremio za vezivanje jedinjenja; 2) Nanošenje uzorka - propuštanje uzorka kroz sloj sorbensa, kada se jedinjenje vezuje za sorbens; 3) Ispiranje kolone - propuštanje male količine odgovarajućeg rastvarača da bi se uklonile nečistoće; 4) Eluiranje - propuštanje odgovarajućeg rastvarača u kojem se jedinjenje dobro rastvara i desorbuje sa sorbensa. Kao najčešći sorbensi u SPE pojavljuju se razni silikatni materijali koji mogu da sadrže polarne i nepolarne funkcionalne grupe, a koje omogućavaju selektivne i specifične interakcije sa jedinjenjima (Nikolić, 2018).

2.5.1.3. QuEChERS tehnika kao relativno nova metoda izolovanja PAU

Tokom poslednje decenije javila se potreba za simultanom, brzom, jednostavnom i jeftinom tehnikom pripreme uzoraka više komponenti, ali metodom koja ne zahteva korišćenje toksičnih rastvarača i ujedno omogućava visoku selektivnost pri razdvajanju supstanci. Ove uslove ispunjava relativno nova metoda poznata kao QuEChERS (eng. *Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe*) tehnika (Slika 18.) koja najčešće kombinuje ekstrakciju tečno - tečno uz acetonitril i prečišćavanje dobijenih ekstrakata pomoću ekstrakcije disperznom čvrstom fazom (eng. *dispersive Solid Phase Extraction, dSPE*) (Nikolić, 2018).



Slika 18. Šematski prikaz QuEChERS procedure (Nikolić, 2018)

Proces pripreme uzorka QuEChERS tehnikom odvija se po sledećem redosledu (Slika 18.): 1 – odmereni uzorak se ubaci u QuEChERS kivetu; 2 – dodavanje rastvarača i soli; 3 – pripremljena smesa se mućka u kiveti; 4 – centrifugiranje kivete sa uzorkom; 5 – alikvot ekstrakta se prebaci u kivetu koja sadrži sorbens za prečišćavanje; 6 – prebacivanje prečišćenog ekstrakta u vialu; 7 – analiza ekstrakta pogodnom hromatografskom tehnikom (Nikolić, 2018).

Uz mnoga organska jedinjenja (metoda je bila originalno razvijena za analizu pesticida u biljnim namirnicama, pre svega voća), ovom tehnikom analizirani su i PAU (Cvetkovic i sar., 2016; Sadowska-Rociek i sar., 2013, 2014). Neki radovi opisuju analizu svih 16 prioriternih PAU (Cvetkovic i sar., 2016; Sadowska-Rociek i sar., 2013, 2014), dok su u nekim drugim radovima opisani postupci analize samo pojedinih PAU (Alagić i sar., 2016, 2017).

Mnogi radovi opisali su da je za ekstrakciju najčešće bio korišćen acetonitril u kombinaciji sa solima kao što su $MgSO_4$ i $NaCl$ (u nekima je umesto $NaCl$ upotrebljavan $NaOAc$). Osim acetonitrila, opisana je i upotreba etil-acetata, kao i smese acetona, etil-acetata i izooktana. Ova poslednja smesa mnogo bolje ekstrahuje manje polarne PAU iz uzoraka biološkog porekla u odnosu

na acetonitril. Kao najčešće korišćeni sorbens za prečišćavanje pojavljuje se PSA (primarni-sekundarni amin) u kombinaciji sa $MgSO_4$, ili sa dodatkom C18. PSA u kombinaciji sa anjonskim izmenjivačem takođe je bio predložen za prečišćavanje, ali i dijatomejska zemlja (za dSPE u analizi zemljišnih PAU). Dijatomejska zemlja je sorbens koji sadrži 87-97% SiO_2 i izvesnu količinu Fe_2O_3 i Al_2O_3 ; njena prednost leži u činjenici da se radi o mineralu koji je široko prisutan u prirodi, pa se tako smanjuju troškovi analize. Još jedan od prirodnih sorbenasa je klinoptilolit, zeolit koji se sastoji iz različitih oksida: slicijuma, gvožđa, aluminijuma, magnezijuma, kalcijuma, natrijuma i kalijuma; u zavisnosti od lokaliteta sa kog se sakuplja, klinoptilolit može biti različitog sastava (Nikolić, 2018).

Neke osnovne prednosti QuEChERS tehnike, u odnosu na klasičnu ekstrakciju po Soxhlet-u, date su u Tabeli 3. Parametari koji su praćeni kod obe tehnike su: vreme trajanja procesa, količina korišćenog rastvarača, stvaranje otpada, oprema, kao i cena koštanja obe operacije po uzorku. Prednosti QuEChERS tehnike u poređenju sa ekstrakcijom po Soxhlet-u su: veća brzina ekstrakcionog procesa, koristi se mnogo manje rastvarača, ne stvara se neka veća količina otpada, nije potrebna specijalna oprema i što je najbitnije - dosta je jeftinija. Ekonomika sistema kao i aspekti vezani za zaštitu životne sredine predstavljaju neke od najvažnijih faktora prilikom odabira same tehnike, a QuEChERS tehnika to zapravo i jeste.

Tabela 3. Poređenje QuEChERS tehnike i Soxhlet-ekstrakcije (Cvetkovic i sar., 2016)

	Ekstrakcija po Soxhlet-u	QuEChERS tehnika	Prednosti QuEChERS tehnike
Vreme trajanja procesa za 5 uzoraka	Od 6-24 h trajanje ekstrakcije, 2 h prečišćavanje ekstrakata	1 h	8-26 puta brža
Rastvarač (mL)	300 mL	20 mL	15 puta manje rastvarača
Otpad	300 mL DCM po uzorku, kolona za prečišćavanje se pere i eluira sa 50 mL rastvarača	/	Ne stvara se neka značajnija količina otpada
Oprema	Soxhlet-ov aparat (kondenzator, ekstraktor i balon za destilaciju)	/	Nije potrebna specijalizovana oprema
Cena	28,44 \$ po uzorku	4,80 \$ po uzorku	6 puta jeftinija

Procedura QuEChERS tehnike postala je popularan i efikasan postupak pripreme uzoraka, posebno kontaminanata kao što su PAU iz uzoraka životne sredine. Modifikovanjem rastvarača za ekstrakciju, soli i sorbenata koji se koriste u QuEChERS tehnici, može se postići njeno prilagođavanje za različite vrste tipova uzoraka iz životne sredine (Mogashane i sar., 2024).

2.5.1.4. Gasna hromatografija u detekciji PAU

Prvi hromatografski eksperiment datira još iz 1906. godine kada je ruski botaničar, Mihail Cvet, izvršio prvo hromatografsko razdvajanje. Naime, on je ekstrahovao pigment hlorofila iz svežeg lišća koristeći petrol-etar kao rastvarač propušten kroz kolonu čvrstog sorbenta i dobio zeleno obojeni rastvor (Altova i Hargittai, 2022).

Danas, analitičke metode hromatografije obuhvataju različite tehnike, među kojima se izdvajaju (<http://elektron.tmf.bg.ac.rs/organskahemija/Gasna%20hromatografija%202010.pdf>):

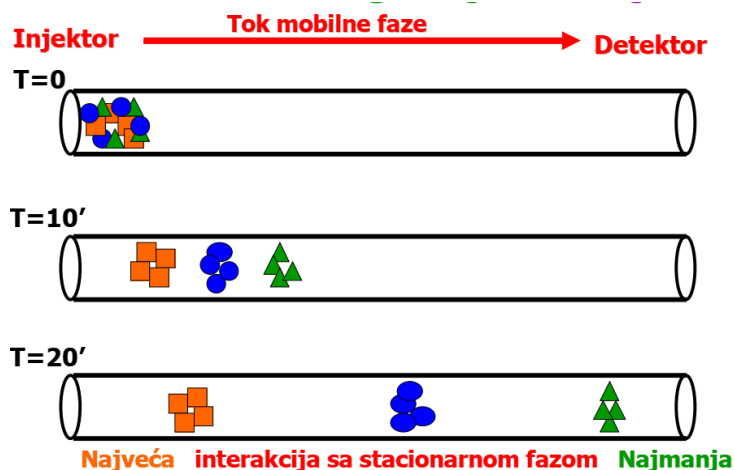
- 1) Hromatografija na koloni (CC)
- 2) Hromatografija na papiru (PC)
- 3) Tankoslojna hromatografija (TLC)
- 4) Gasna hromatografija (GC)
- 5) Tečna hromatografija (LC)
- 6) Hromatografija pod visokim pritiskom (HPLC)

GC predstavlja hromatografsku metodu razdvajanja i detekcije organskih jedinjenja koja su lako isparljiva, ili koja se bez degradacije mogu prevesti u gasovito stanje. Instrument koji se koristi kod ove metode, naziva se gasni hromatograf (Slika 19.) (Nikolić, 2018).



Slika 19. Izgled gasnog hromatografa (Ristić, 2019)

Kod gasno-hromatografske metode postoje dve faze - mobilna (pokretna) i stacionarna (nepokretna). Stacionarna faza može biti tečna, ili čvrsta i nju čine sloj tečnosti, ili polimera na inertnoj čvrstoj podlozi, a koja se nalazi unutar kolone smeštene u takozvanoj peći instrumenta (ako je stacionarna faza u tečnom stanju, onda je zapravo u pitanju tanak sloj tečnosti fiksiran za neku čvrstu fazu, koja se u tom slučaju zove nosač). Mobilna faza je gasovita i nju čine inertan noseći gas (helijum, azot, vodonik, ili argon) i pare jedinjenja iz smese koju treba razdvojiti. Do dodira između ove dve faze dolazi upravo u hromatografskoj koloni. Komponente smese, koje treba razdvojiti, nošene su inertnim gasom u mobilnoj fazi i različito se vezuju na stacionarnu fazu preko koje prelaze; one se na taj način kroz stacionarnu fazu kreću različitim brzinama (Hussain i Maqbool, 2014; Milosavljević, 1994; Nikolić, 2018). Naime, različite komponente uzorka pokazuju različit afinitet prema stacionarnoj fazi, tako da se, usled različitih interakcija, različito i zadržavaju na koloni (Slika 20).

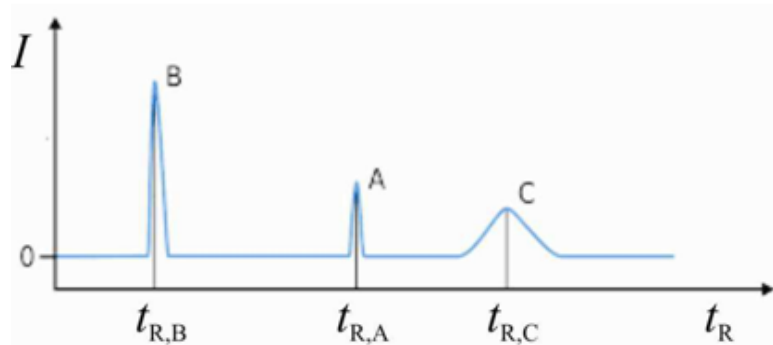


Slika 20. Razdvajanje komponenti smese u GC-koloni (T – vreme u min)
(<http://elektron.tmf.bg.ac.rs/organskahemija/Gasna%20hromatografija%202010.pdf>)

Pri proticanju mobilne faze preko stacionarne, supstance koje imaju veći afinitet prema stacionarnoj fazi duže se zadržavaju u hromatografskom sistemu. Svaka komponenta uzorka distribuira se između pokretne i stacionarne faze u skladu sa uspostavljanjem dinamičke ravnoteže koja je definisana koeficijentom raspodele, K (Babić, 2018; Milosavljević, 1994):

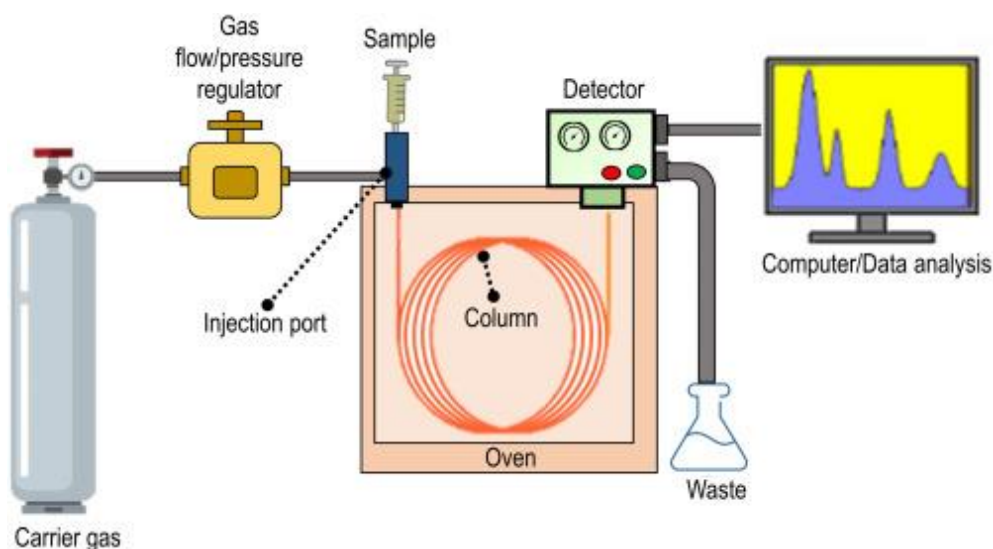
$$K = \text{molarna koncentracija u stacionarnoj fazi} / \text{molarna koncentracija u mobilnoj fazi} \dots\dots\dots (4)$$

Posle završenog eluiranja, odnosno razdvajanja, svako pojedino jedinjenje dospeva do detektora koji je dalje povezan sa računarom na čijem se ekranu ispisuje hromatogram, tj. odgovarajući signali (pikovi) za svako od razdvojenih jedinjenja (Babić, 2018; Milosavljević, 1994; Nikolić, 2018). Signal koji daje detektor uvek je srazmeran koncentraciji komponente. Na Slici 21., prikazan je primer hromatograma na kome se nalaze signali (hromatografski pikovi, ili trake) poreklom od tri komponente. Svaki signal u hromatogramu odgovara jednom hemijskom jedinjenju i okarakterisan je određenim retencionim vremenom, t_R (ili R_t), ali i površinom (koja daje podatke o kvantitetu jedinjenja). Retenciono vreme je vreme koje je potrebno nekoj komponenti smese da prođe kroz hromatografsku kolonu pri određenim uslovima (određena temperatura, pritisak, eluent, brzina eluiranja i vrsta stacionarne faze). Retenciono vreme komponente zavisi od njenih fizičkih i hemijskih osobina u datim uslovima i predstavlja karakteristiku te komponente pomoću koje se vrši njena identifikacija. Ako neka komponenta smese uopšte ne interaguje sa stacionarnom fazom, onda je njeno vreme prolaska najkraće za date uslove (i jednako vremenu prolaska eluenta) i naziva se mrtvo vreme, t_0 . Ukoliko takve komponente nema u smesi, potrebno je njeno dodavanje (Milosavljević, 1994).



Slika 21. Primer hromatograma sa signalima za tri razdvojene komponente (Ristić, 2019)

Tehnika eluiranja, koja se primenjuje kod GC, praktično se sastoji u neprekidnom proticanju nosećeg gasa konstantnom brzinom kroz GC-sistem: isparivač-kolona-detektor (Slika 22.). Sredstvo kojim se uzorak spira sa kolone naziva se eluent, a postupak njegovog uvođenja u hromatografsku kolonu zove se eluiranje. Praktično, iz boce koja sadrži noseći gas, ovaj gas se uvodi u kolonu i to preko regulatora za pritisak i protok. Injektor se nalazi na ulasku u kolonu i pomoću njega se uzorak unosi na put nosećeg gasa. Tečni uzorak se ubacuje u zagrejani injektor (da bi brzo ispario), prolazi kroz kolonu za razdvajanje nošen inertnim gasom i detektuje kao serija signala na pisaču kada komponente izađu iz kolone. Gasoviti uzorci ubacuju se u kolonu preko specijalnih gasnih slavina (Milosavljević, 1994).



Slika 22. Shema gasnog hromatografa (<https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/gas-chromatography>)

Kao što je već pomenuto, prostor u kome se odigrava interakcija između mobilne i stacionarne faze naziva se hromatografska kolona. Ona je smeštena u peći, gde temperatura može biti stalna (izotemska analiza), ili sa porastom (temperaturna gradijentna analiza). Na višim temperaturama komponente brže prolaze kroz kolonu, ali slabije interaguju sa stacionarnom fazom, tako da će i njihovo međusobno razdvajanje biti slabije. Najčešće, u početku analize, temperatura se drži na nekoj nižoj vrednosti, a pošto se utvrdi da je postignut željeni stepen razdvajanja, temperatura se podiže određenom brzinom (kako bi se skratilo vreme analize). Podizanje temperature kolone može čak dovesti do isparavanja tečne stacionarne faze (na hromatogramu se vidi kao podizanje bazne linije) (Milosavljević, 1994).

Kolona može biti potpuno ispunjena stacionarnom fazom, ili može imati stacionarnu fazu jedino na svojim zidovima, pa se u tom smislu mogu razlikovati punjene i kapilarne kolone (Slika 23a) i 23b).).



a) Punjena kolona



b) Kapilarna kolona

Slika 23. Izgled punjene, a) i kapilarne kolone b), kod gasnog hromatografa

([https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Instrumental_Analysis_\(LibreTexts\)/27%3AGas_Chromatography/27.03%3AGas_Chromatographic_Columns_and_Stationary_Phases](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Instrumental_Analysis_(LibreTexts)/27%3AGas_Chromatography/27.03%3AGas_Chromatographic_Columns_and_Stationary_Phases))

Po Babić (2018) i Nikolić (2018), punjene kolone su cevi izrađene od nerđajućeg čelika, bakra, ili stakla sa inertnim punjenjem, presvučenim tečnom, ili čvrstom stacionarnom fazom, dužine od 1,5 do 10 m, unutrašnjeg prečnika od 2 do 4 mm; udeo tečne faze može iznositi od 5-

10%; prosečni prečnik zrna inertnog nosača je od 100-150 μm . (Slika 23a).). Kapilarne kolone su mnogo tanje od punjenih, zidovi su obloženi aktivnom materijom, umotane u kotur zbog velike dužine (i do 60 m). Izrađene su od topljenog silica-gela sa poliimidnom oblogom. Prečnik je veoma mali i iznosi 0,125-0,250 mm (Slika 23b).).

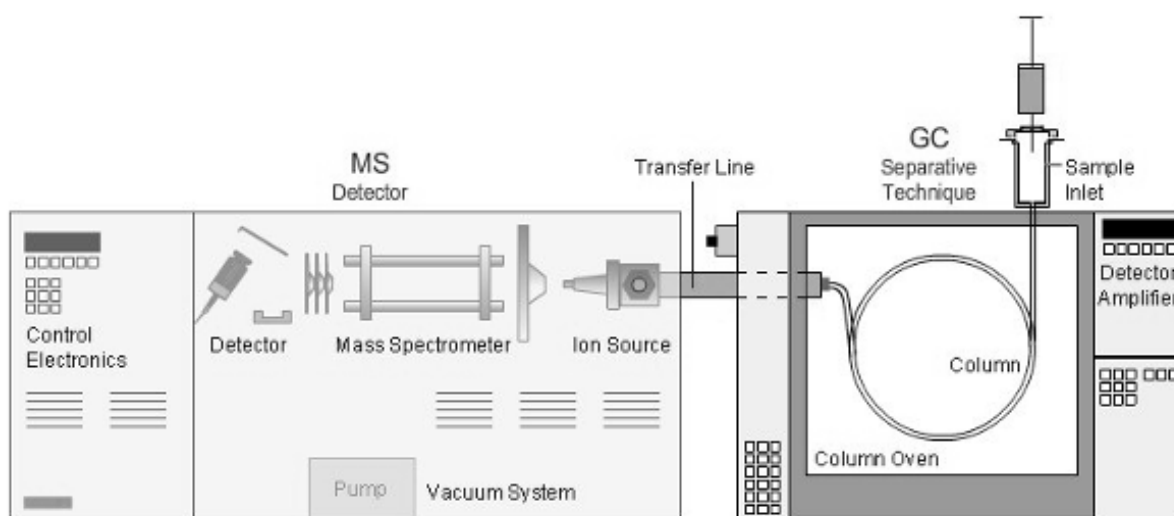
Zbog odsustva klasičnog pakovanja kod kapilarnih kolona nema značajnog otpora protoku mobilne faze, što i omogućava izradu vrlo dugačkih spiralnih kolona. Ovakva konstrukcija obezbeđuje visoku efikasnost razdvajanja i plus, kapilarne kolone se lako povezuju sa masenim spektrometrom. Zato su postale izuzetno rasprostranjene u gasnoj hromatografiji i danas se koriste u velikoj meri (i do 90%), dok su punjene kolone znatno ređe u upotrebi (svega oko 10%) (<http://instrumentalne.tmf.bg.ac.rs/Primeri%202020-21/3.%20Hromatografija.pdf>).

Kapilarne kolone zahtevaju znatno manju količinu uzorka (obično manju od 10^{-2} μL) i imaju veću efikasnost razdvajanja, jer imaju više teorijskih podova po jedinici dužine; one su duže u poređenju sa punjenim kolonama, te zahvaljujući tome proizvode bolju razdvojenost pikova na hromatogramu. Međutim, punjene kolone imaju 1000 puta veći kapacitet, pošto mogu da prihvate velike količine uzorka, što je često važno za samu GC/MS analizu određenih analita ([https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Instrumental_Analysis_\(LibreTexts\)/27%3A_Gas_Chromatography/27.03%3A_Gas_Chromatographic_Columns_and_Stationary_Phases](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Instrumental_Analysis_(LibreTexts)/27%3A_Gas_Chromatography/27.03%3A_Gas_Chromatographic_Columns_and_Stationary_Phases)).

2.5.1.5. Gasna hromatografija sa masenom spektrometrijom u detekciji PAU

Postoji više vrsta detektora koji se koriste u gasnoj hromatografiji. Najčešće primenjivani detektori su plameno jonizacioni detektor (eng. *Flame Ionization Detector*, FID) i termalno provodljivi detektor (eng. *Thermal Conductivity Detector*, TCD). Termalno provodljivi detektori detektuju većinu jedinjenja čija je termalna provodljivost veća od provodljivosti nosećeg gasa na datoj temperaturi. Plameno jonizacioni detektori imaju veću osetljivost na ugljovodonična jedinjenja i ne detektuju vodu. Prednost TCD detektora nad FID detektorom ogleda se u činjenici da ne uništavaju ispitivana jedinjenja, dok ih plameno jonizacioni detektor sagoreva (Nikolić, 2018).

Međutim, danas se sve više, kao detektor u GC koristi maseni spektrometar koji se praktično postavlja na izlazu iz kolone gasnog hromatografa (Slika 24.).

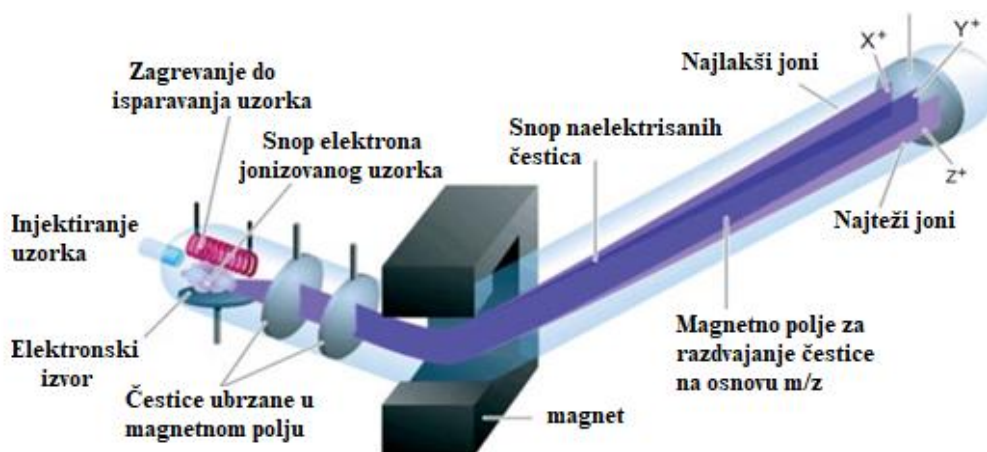


Slika 24. Gasni hromatograf povezan sa masenim spektrometrom (Hussain i Maqbool, 2014)

Na ovaj način, dobija se kombinovani uređaj sa izuzetnim mogućnostima, koji je nezamenljiv u analizi i detekciji kontaminanata koji utiču na zagađenje životne sredine. Ova metoda je u literaturi poznata kao GC/MS. Maseni spektrometar kao detektor je danas zauzeo vodeće mesto zbog svoje osetljivosti, brzine i granice detekcije. To je analitički instrument koji pretvara ispitivani uzorak u jonski snop i razdvaja taj snop u sastavne komponente na bazi njihovih odnosa: masa - naelektrisanje (m/z); praktično, on razdvaja naelektrisane čestice u magnetnom polju, prema odnosima m/z (Hussain i Maqbool, 2014).

Ova tehnika se često primenjuje u istraživačke svrhe. Njena najvažnija primena je za tačno određivanje molekulske mase uzorka. Koristi se u farmaciji, izučavanju novih lekova, proučavanju metabolizma lekova, farmakokinetici, kliničkom dijagnostifikovanju prisutnosti droga, steroida u ljudskom organizmu, analizi hemoglobina, kvaliteta vode i hrane, za proučavanje ponašanja jona u vakuumu, analizi proteina, peptida, polimera, mase jona itd. (Cvijović, 2013).

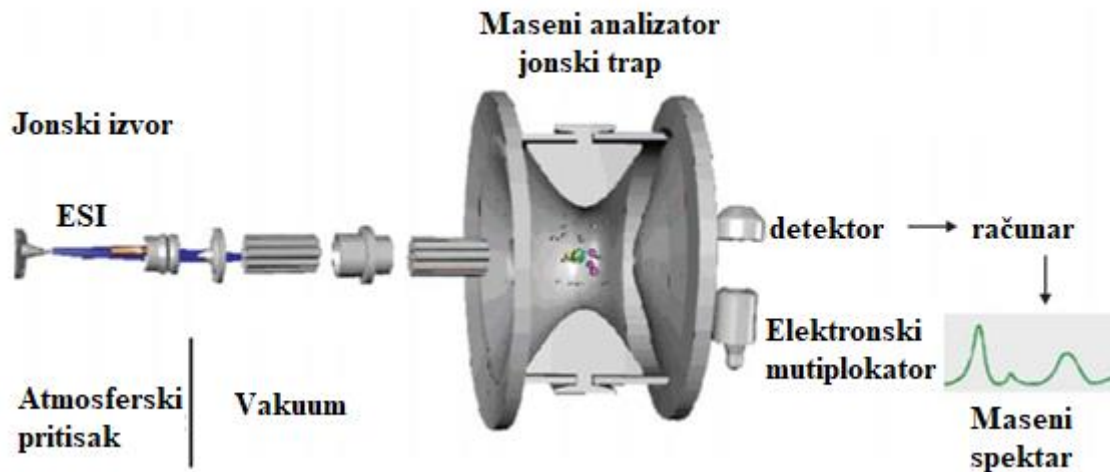
MS se zasniva na tome da se analizirani uzorak (neorgansko, ili organsko jedinjenje) prevede u stanje jonizovanog gasa (primenom električnog polja, termalnom metodom, ili bombardovanjem ubrzanim e^- , jonima, ili fotonima pri čemu nastaje snop jednakih energija, različitog odnosa mase i naelektrisanja). Kretanjem naelektrisanih čestica tj. jona u električnom, ili magnetnom polju, polazni snop jona se razlaže na osnovu razlike u odnosu mase i naelektrisanja jona (Slika 25.) (Cvijović, 2013).



Slika 25. Kretanje jona u masenom spektrometru (Cvijović, 2013)

Nastali joni mogu biti jednostruko jonizovani atomi, klasteri, molekuli, ili njihovi fragmenti. Oni se provode kroz deo koji se naziva maseni analizator, koji razdvaja jone u prostoru i/ili vremenu. Iz analizatora, joni idu do detektora gde daju električni signal koji se beleži na računaru. Kvalitativna i kvantitativna analiza vrše se na osnovu vrednosti m/z i relativne zastupljenosti vrsta (Cvijović, 2013).

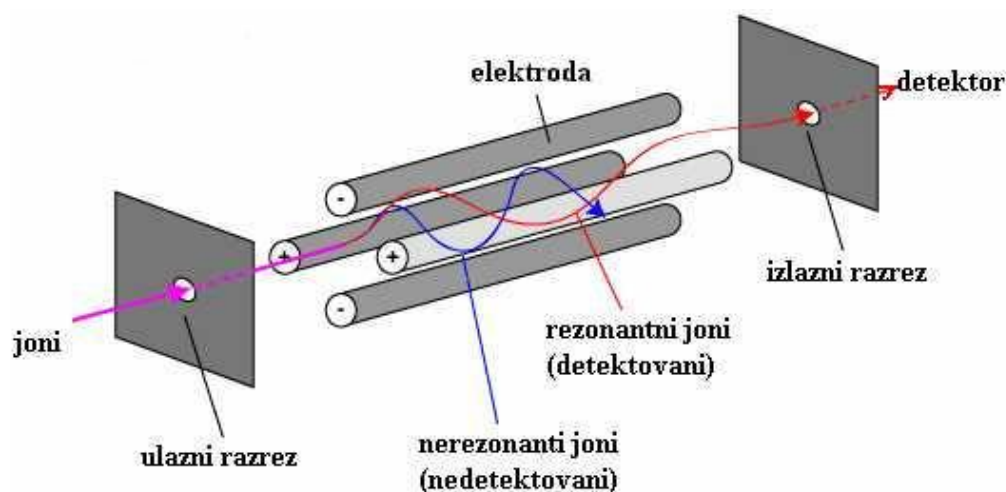
Osnovni delovi masenog spektrometra, prikazani su na Slici 26., a svaki MS aparat sastoji se iz (Cvijović, 2013; Nikolić, 2018): sistema za uvođenje uzorka (eng. *inlet*); jonskog izvora koji iz ispitivanog uzorka proizvodi jonski snop; jonske optike koja sprovodi jone do masenog analizatora; masenog analizatora koji razlaže jone prema njihovom odnosu masa i naelektrisanja; vakuum sistema koji obezbeđuje visoki vakuum; detekcionog sistema koji detektuje razložene jone i meri njihov intenzitet; računara koji obrađuje podatke.



Slika 26. Osnovni delovi masenog spektrometra (Cvijović, 2013)

Jonski izvor je jedan od najvažnijih delova masenog spektrometra u kome nastaju joni analiziranih molekula (kao posledica izbijanja elektrona, zahvata elektrona, protonovanja, deprotonovanja, ili građenja adukata). Razlikuju se sledeći tipovi jonizacije u zavisnosti od vrste izvora energije za jonizaciju (Nikolić, 2018): EI (eng. *Electron Impact* - elektronski udar); CI (eng. *Chemical Ionization* - hemijska jonizacija); FAB (eng. *Fast Atom Bombardment* - bombardovanje brzim atomima); MALDI (eng. *Matrix Assisted Laser Desorption* - laserska desorpcija sa matriksa); FD&FI (eng. *Field Desorption/ionization* - desorpcija/ionizacija u jakom polju) i ESI (eng. *Electrospray Ionization* - jonizacija elektrosprejom).

Maseni analizator kao najvažniji deo masenog spektrometra, razdvaja jone na osnovu odnosa mase i naelektrisanja (m/z). Praktično, on ne samo da razdvaja pojedine mase iz jonizovanog uzorka, već i omogućava merenje njihovih količina (prvo razdvaja jone bliskih masa, a zatim i fokusira izdvojeni snop jona). U zavisnosti od toga da li koriste statičko, ili dinamičko, električno, ili magnetno polje, ili njihovu kombinaciju, postoji više vrsta masenih analizatora; mogu se podeliti na: kontinualne, kvadrupolne, pulsne, magnetne, jon-trap analizatore (jonska zamka), analizatore na bazi vremena preleta (eng. *Time-of-Flight*, TOF) i analizatore sa jednostrukim, ali i dvostrukim fokusiranjem. Danas, u analizi PAU, najčešće korišćeni analizator je analizator na bazi kvadrupola (Slika 27.) (Nikolić, 2018).

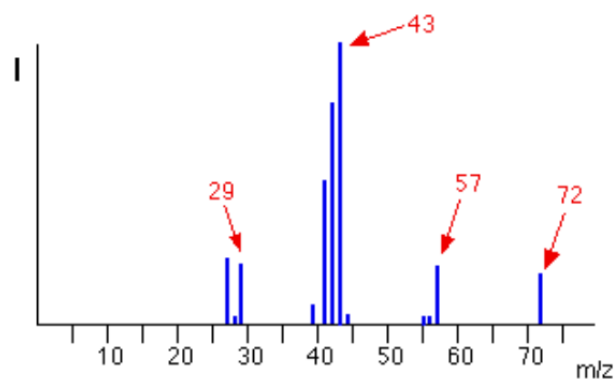


Slika 27. Shema masenog analizatora na bazi kvadrupola (Nikolić, 2018)

U ovom slučaju, nakon ubrizgavanja, joni različitih masa smeštaju se između četiri elektrode, na koje je priključen izvor naizmenične struje, gde pri promeni napona dolazi do odvajanja jona na osnovu njihovih masa. Posle razdvajanja, joni bivaju usmereni u detektor koji ih konvertuje u električni signal koji se dalje može beležiti na pisaču, računaru, ili nekom drugom uređaju. Električni signali se detektuju kao tzv. maseni spektri (Nikolić, 2018).

Primer masenog spektra (za *n*-pentan) koji je prikazan na Slici 28., dobijen je kao intenzitet struje različitih jonskih vrsta (u zavisnosti od njihovih odnosa *m/z*). Jasno je da se masenim spektrometrom identifikacija komponenti vrši na osnovu specifičnog načina fragmentacije molekula određene komponente, pa zato u ovom slučaju, nije neophodno poznavati retenciona vremena, t_R , komponenti.

Snimanje masenih spektara može se vršiti na dva načina: u tzv. SCAN- (kada se snima kompletan maseni spektar), ali i SIM-modu (eng. *Selected Ion Monitoring*, kada se prate samo odabrani joni). SCAN obuhvata skeniranje mase u zadatom opsegu uz simultano praćenje t_R , čime se omogućava identifikacija analita. Zadati maseni opseg i brzina skeniranja hromatograma određuju i vreme praćenja određene mase (eng. *dwell time*). SIM tehnika je potrebna u kvantitativnim određivanjima, ali kako bi se postigli optimalni uslovi, pre nje se mora izvesti SCAN-analiza. SIM-analizom se detektuju *m/z* vrednosti jedino reprezentativnih jona posmatranog molekula (Milosavljević, 1994).



Slika 28. Maseni spektar *n*-pentana, C_5H_{12} (Ristić, 2019)

U GC/MS, karakteristični joni, kao i vreme početka snimanja (eng. *Start time*) i vreme praćenja jona (eng. *dwell time*) se biraju na bazi podataka iz SCAN-analize; hromatogram se dobija kao ukupna jonska struja tokom analize u zavisnosti od vremena, a pruža podatke o kvalitetu (t_R) i kvantitetu (površina pika) komponenti.

Na kraju, treba istaći da postoji više modela interfejsa koji povezuju dva instrumenta tj., gasni hromatograf i maseni spektrometar. U diskontinualnom postupku, komponente se prvo razdvajaju pomoću GC, zatim se kondenzacijom u kapilarnoj cevi na izlazu izdvajaju, pa se potom svaki uzorak unosi zasebno u maseni spektrometar. Mnogo je jednostavniji kontinualni postupak, kada se maseni spektrometar direktno vezuje za gasni hromatograf (Slika 24.); u tom slučaju, postoji problem u razlici pritisaka. Naime, na izlazu iz GC, pritisak iznosi obično oko 1 bar, dok MS radi u uslovima visokog vakuuma (pritisci od 10^{-4} - 10^{-6} mbar-a), ali se ovaj problem prevazilazi na taj način što se GC kolone povezuju sa jonskim izvorom MS, preko tzv. separatora. U svakom slučaju, kod ove kombinacije, uloga GC svodi se na razdvajanje, a uloga MS na identifikaciju komponenti smese (Milosavljević, 1994).

2.5.1.6. Postupak dokazivanja da analitička metoda ispunjava određene uslove za široku primenu – validacija metode

Osnovni cilj svake metode u organskoj analitici, počev od najjednostavnijih tehnika ekstrakcije, pa sve do metoda detekcije jedinjenja, jeste ostvarenje brzih, preciznih i pouzdanih rezultata, što se postiže postupkom validacije metode. Generalno se može reći da ne postoje nikakvi oficijelni protokoli za validaciju određene metode, ali da se validacija može odnositi kako na razvoj i uvođenje potpuno nove metode, tako i na promene ma kojeg dela neke već validovane metode (na primer: poboljšanje već postojeće metode, izmena parametara i preko opsega postojeće metode, upotreba metode na različitom instrumentu, ili laboratoriji). Pri tome, ovde je najvažnije da se eksperiment izvodi sa uzorcima i standardima koji su slični upravo onim uzorcima za čiju analizu je metoda i namenjena i takođe je veoma važno definisati i obezbediti: svrhu i opseg primene metode; parametre izvođenja, kao i granice njihovih prihvatljivosti, eksperimente validacije; svojstva instrumentalne opreme i kvalitet upotrebljenih hemikalija; sve detalje same metode za primenu iste; kao i dokumentaciju validacionih eksperimenata (Nikolić, 2018).

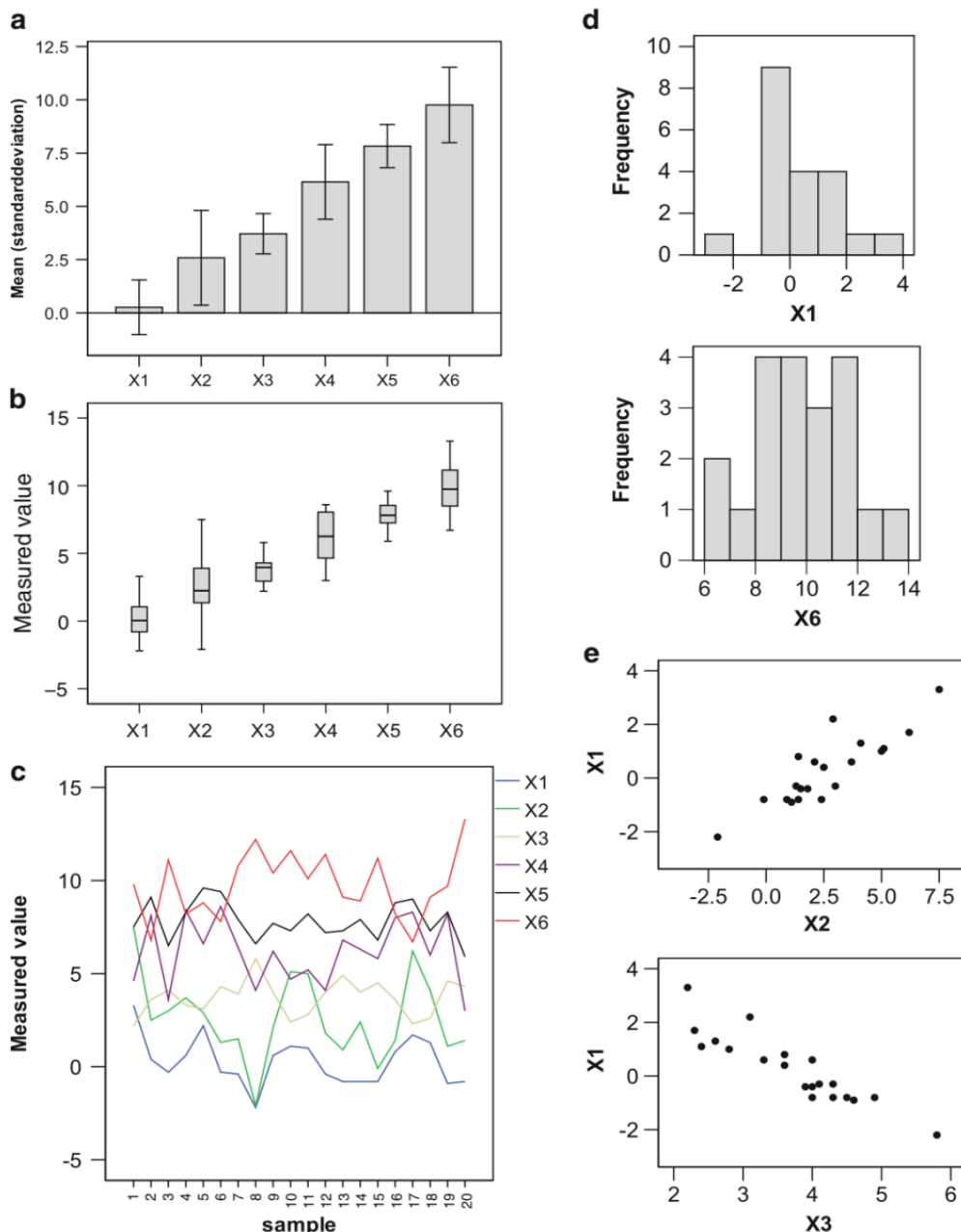
U praksi, validacija metode odvija se putem optimizacije metode koja podrazumeva uspostavljanje i određivanje: stabilnosti (procena stabilnosti analita i unutrašnjih standarda prema uslovima metode), selektivnosti (analiza 20-tak uzoraka koji ne sadrže analit, a zatim se analiziraju uzorci sa komponentama koje mogu dati sličan analitički signal kao i analit), linearnosti (analiza serije uzoraka sa analitom u definisanom opsegu koncentracija, u najmanje 2 ponavljanja), analitičkog opsega, tj., radnog područja, preciznosti (analiza uzoraka sa analitom u najmanje 3 koncentracije, u 5, ili 10 ponavljanja radi utvrđivanja ponovljivosti i reproduktivnosti), tačnosti, tj., efikasnosti (analiza standardnog referentnog materijala, ili obogaćenog, takozvanog "spajkovanog" uzorka), limita detekcije (LOD) i limita kvantifikacije (LOQ) (analiza kalibracionih standarda najnižih koncentracija), robusnosti (biranje parametra metode koji je od najvećeg uticaja na samu metodu i ukoliko je potrebno, vrši se njegovala mala korekcija), efekta matrice i merne nesigurnosti (Nikolić, 2018).

2.5.2. Statističke metode kao deo hemometrijske karakterizacije i analize PAU u biljnim i zemljišnim uzorcima

Za odabir adekvatne statističke metode u procesuiranju rezultata određenih analiza prvi i najvažniji korak je prepoznavanje osnovnih tipova podataka (Miller i Miller, 2005). Upravo, u ogromnoj većini slučajeva, statistička tačka gledanja problema koji treba razrešiti i jeste postojanje dva osnovna tipa podataka, a to su - numerički i kategorijski. Kategorijski podaci su ona zapažanja koja se mogu grupisati u kategorije; ovi podaci se dalje mogu podeliti u tri glavne grupe – nominalu, ordinalnu i binarnu. Zapažanja koja se pak mogu izmeriti na odgovarajućoj skali su praktično - numerički podaci. Prepoznavanje tipa podataka dalje određuje adekvatnu metodu statističke analize, kao i testova koje treba aplikovati.

Na samom početku, za opis ulaznih podataka kod svake od statističkih metoda, koristi se jednostavna deskriptivna analiza u kojoj se mogu iskoristiti i razne vrste ilustrativnih deskriptivnih plotova (Slika 29.) (Pripp, 2013).

Rezultujuća varijabla od interesa (eng. *Outcome variable*) poznata je kao zavisna varijabla, dok su opisne, takozvane objašnjavajuće varijable (mogu predvideti rezultat), poznate kao nezavisne (Pripp, 2013).



Slika 29. Najčešće korišćeni deskriptivni plotovi: a) bar čart, b) boks plot, c) linijski plot, d) histogram i e) skaterplot (Pripp, 2013)

2.5.2.1. Pregled najprimenjivanih statističkih metoda

Ho (2006), predlaže da se klasične statističke metode podele u dve osnovne kategorije:

- 1) one koje se primenjuju u istraživanjima odnosa uticaja (korelacija) između ispitivanih varijabli i
- 2) one koje se primenjuju za utvrđivanje statistički značajnih razlika između grupa.

1) Istraživanje odnosa uticaja među ispitivanim varijablama

Ove vrste analiza primenjuju se na odnose između kontinualnih varijabli.

- Korelacije: dve vrste korelacija se mogu koristiti kada treba ispitati jačinu odnosa između dve kontinualne varijable, a to su: Spearman-ova i Pearson-ova. Ove korelacije obezbeđuju indicaciju o oba pravca odnosa (pozitivnog i negativnog), ali i o jačini međuodnosa. Pozitivna korelacija

ukazuje da ako jedna varijabla raste, raste i druga (tj. ona koja je upoređena sa prvom), dok negativna korelacija pokazuje da kako jedna varijabla raste, tako druga opada. Vrednosti koeficijenta (r) koji se izračunavaju prilikom ovih analiza, odnosno, jačine korelacionih veza mogu biti niske, odnosno veze mogu biti slabe ($r = 0,10 - 0,29$), srednje ($r = 0,30 - 0,49$) i visoke, tj., snažne ($r = 0,50 - 1,0$). Međutim, odlučujući faktor tokom sagledavanja obračunatih korelacija jeste nivo njihove statističke značajnosti: dvosmerno, odnosno dvostrano testirano (eng., *Sig. 2 tailed: $p < 0,05$ i $p < 0,001$*). Ove značajnosti nisu indikacija jačine veze, već njihove pouzdanosti, posmatrano sa statističke tačke gledišta (praktično, sa koliko poverenja treba prihvatiti izračunate vrednosti koeficijenta) (Pallant, 2009).

- Pearson-ova korelacija ima i svoju ekstenziju koja obezbeđuje kontrolu mogućeg uticaja druge sumnjive varijable (takozvana, Parcijalna korelacija). Ona omogućava precizniju analizu i uklanja efekat sumnjive varijable.

- Multipla regresija je još sofisticiranija ekstenzija korelacione analize i upotrebljava se onda kada je potrebno ispitivanje prediktivne sposobnosti celog seta nezavisnih varijabli na jedno kontinualno zavisno merenje.

- Kondenzacija širokog seta varijabli u jedan manji, sa manje operativnih brojeva dimenzija, ili faktora, postiže se takozvanom Faktorijalnom analizom.

2) Ispitivanje razlika među grupama

- Ova metoda statistike primenjuje se onda kada je potrebno utvrditi statistički značajne razlike između određenog broja ispitivanih grupa. Tu se uračunavaju i parametarske verzije ovih testova, koje su primenjive kada se radi o merljivim podacima sa normalnom distribucijom rezultata, ali i pojedine neparametarske alternativne mogućnosti.

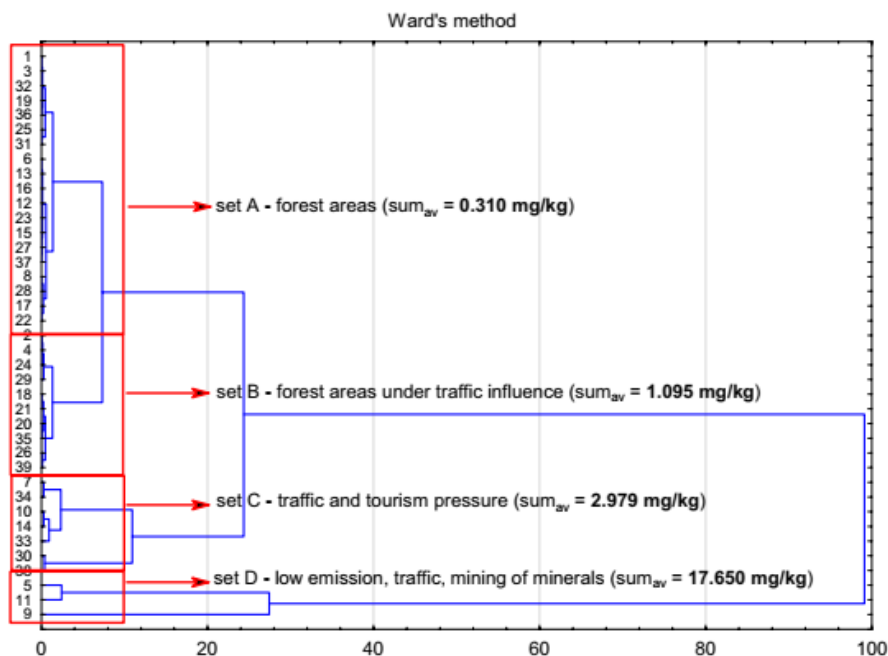
- T-testovi se upotrebljavaju kada postoje dve grupe, ili dva seta podataka i kada je potrebno uporediti srednju vrednost rezultata na nekoj kontinualnoj varijabli. Ovde se mogu koristiti dve vrste testova: t-test uparenog uzorka (za ispitivanje promena rezultata za participante testirane u Vreme 1 i kasnije, u Vreme 2) i t-tests nezavisnog uzorka (kada se posmatraju dve različite, nezavisne, grupe participanata i kada se upoređuju njihovi rezultati).

- Veoma slična t-testu je jednosmerna analiza varijanse (eng. *One-way Analysis of Variance*, ANOVA), ali ona se aplikuje kada postoje dve, ili više grupa i kada je potrebno poređenje njihovih srednjih rezultata na kontinualnoj varijabli. Dobila je ime po tome što se prati uticaj samo jedne nezavisne varijable na posmatranu zavisnu varijablu. Ovom prilikom se može primeniti i takozvani post-hoc-test, odnosno određena poređenja radi pronalaženja grupa koje se značajno razlikuju među sobom.

- Dvosmernom analizom varijanse (eng. *Two-way Analysis of Variance*) izvodi se testiranje uticaja dve nezavisne na jednu zavisnu varijablu, tj. kada je efekat jedne nezavisne varijable pod uticajem neke druge.

Pripp (2013), kao i Inobeme i sar. (2022), daju i podelu statističkih analitičkih metoda na univarijantne i multivarijantne. Multivarijantne metode podrazumevaju simultanu analizu više od jedne zavisne varijable i uključuju metode kao što su faktorijalna analiza (eng. *Factorial analysis*, FA), analiza glavnih komponenti (eng. *Principal Component Analysis*, PCA), klaster analiza (eng. *Cluster analysis*, CA), i dr. Po preciznoj statističkoj terminologiji, multivarijantne metode se razlikuje od univarijantnih po tome što uključuju istovremenu analizu više od jedne zavisne (*outcome*) varijable. Termini kao što su: klasifikacija, klasterisanje i prepoznavanje obrazaca (modela) jesu različiti, ali istovremeno i bliski vezano za statističke procese. Oni se koriste zbog specifikacije uzoraka u jedan set kategorija.

Ovo je definisano još jednostavnije od strane [Gad-a i sar. \(2013\)](#) i to kao povezivanje objekata po datom kriterijumu. Najčešće korišćena tehnika u tom smislu je hijerarhijska klaster analiza, HCA. Tehnike hijerarhijskog klasterisanja su zasnovane na kreaciji razgranatih struktura (takozvanih dendrograma), koje imaju kvalitativnu prirodu i pružaju vizualizaciju grupa, tj. klastera i korelacija između ispitivanih uzoraka (Slika 30.).

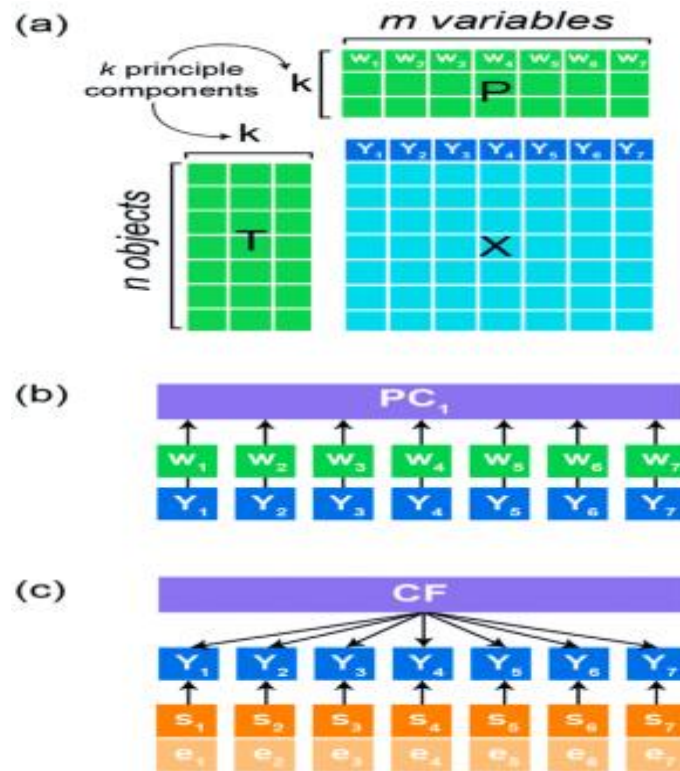


Slika 30. Primer klasifikovanja izvora zagađenja PAU na bazi hijerarhijskog dendrograma za ispitivane uzorke zemljišta sa selektovanih lokacija (objekata, tj. slučajeva, $n = 39$) na osnovu merenih varijabli, tj. PAU koncentracija, u radu [Kicińska i Dmytrowski \(2023\)](#)

Hijerarhijska klaster analiza obično koristi dve osnovne tehnike za poređenje uzoraka. Kod takozvane aglomeracione tehnike, svako posmatranje kreće u njegovom sopstvenom, individualnom klasteru i dalje se spaja sa drugim klasterima pomerajući se ka naviše, tj. po rastućoj hijerarhiji. Međutim, razdvajajuća tehnika kreće od svih uzoraka u jednom klasteru, koji se dalje razdvaja po opadajućoj hijerarhiji. Odluka o tome koju metodu bi trebalo primeniti (tehnika spajanja, ili tehnika razdvajanja klastera), mora biti bazirana na ispravno izabranoj metodi merenja sličnosti/razlika između uzoraka, ali i na bazi kriterijuma povezivanja koji specifikuju, odnosno, karakterišu sličnosti/razlike između klastera.

[Gad i sar. \(2013\)](#) zaključuju da, u suštini, HCA prikazuje podatke kao kvalitativne klasterne i to u vidu obrazaca, tj. matrica u jednom dvodimenzionalnom prostoru. Po ovim autorima, forma multivarijantnih podataka je jednostavna pravougaona tabela, odnosno, matrica, koja se sadrži n -redova i m -kolona, a svaka ćelija ima numeričku vrednost. Svaki od redova odgovara nekom objektu (na primer uzorku), a svaka kolona odgovara određenoj osobini tog objekta. Podaci se prikazuju kao promenljive (multivarijantni podaci) ucrtane u istom onom broju dimenzija koliko ima i promenljivih (Slika 31.).

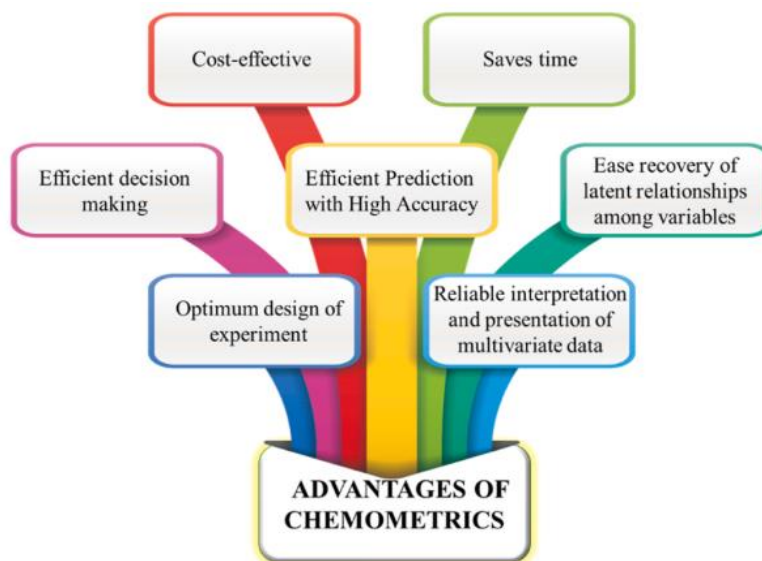
Na sličan način, [Inobeme i sar. \(2022\)](#) objašnjavaju i multivarijantnu ne-parametrijsku PCA metodu. Ona se koristi da bi se ekstrahovali najesencijalniji podaci (takozvani "loading"-faktori) iz seta baze podataka na osnovu njihovih razlika i afiniteta. Ova tehnika takođe pomaže u smanjenju dimezionalnosti i kompresiji multivarijantnih podataka. Praktično, ona smanjuje broj varijabli prisutnih u procesu, ističući one koje su najuticajnije (Slika 31.).



Slika 31. Ilustracija PCA, a) u kojoj Y vrednosti, izmerene kao w_n , doprinose komponenti PC_1 , b) i faktor analize, gde kombinacija latentnog faktora (CF) i jedinstvene varijanse iz specifične (s_n) varijanse i greške varijanse (e_n) doprinose Y vrednostima, c) (Inobeme i sar., 2022)

Na Slici 31., jasno se vidi da je matiks podataka X insertovan između dve matrice, P i T . Praktično, PCA grupiše originalne varijable u nove ortogonalne varijable, koje predstavljaju linearnu kombinaciju originalnih podataka (takozvana "varimax" metoda).

Konačno, prednosti hemometrijskog pristupa neuporedive su u odnosu na zastarele, manualne metode, kada su se izračunavali takozvani dijagnostički odnosi između određenih jedinjenja PAU (Lourenço i sar., 2023). Inobeme i sar. (2022) su ih predstavili na Slici 32.:



Slika 32. Prednosti hemometrijskog pristupa (Inobeme i sar., 2022)

2.5.3. Primeri studija sa hemometrijskim pristupom u analizi i karakterizaciji PAU prisutnim u zemljišnim i biljnim uzorcima

Primeri korišćenja različitih metoda izolovanja, detekcije i dalje analize PAU, kao supstanci koje su u uzorcima zemljišta i biljaka uobičajeno prisutne u veoma malim, tj. mikro-količinama, su mnogobrojni, a njihove kombinacije su, sa razvojem tehnologije, postajale sve originalnije. Razvoj različitih procedura dobio je na zamahu poslednjih decenija XX veka, a naročito u cilju praćenja prisustva ovih opasnih mikro-polutanata u neposrednom okruženju čoveka, kao i u različitim fitoremedijacionim primenama, ali i procenama rizika vezano za PAU.

Tako na primer, na samom kraju prošlog veka, Kipopoulou i sar. (1999) primenjuju metodu HPLC sa fluorescentnim detektorom, za određivanje sadržaja PAU u jestivim biljnim delovima, nekoliko različitih vrsta: kupus (var. *Brassica oleracea capitata*), šargarepa (*Daucus carota*), zelena salata (*Lactuca sativa*), praziluk (*Allium porrum*) i endivija (*Chichorium endivia*), a koje su rasle na industrijskom području grada Soluna, severna Grčka. PAU su ekstrahovani iz suvih uzoraka biljaka, ali i odgovarajućeg zemljišta, u Soxhlet-aparaturi, koristeći rastvarače kao što su dihlormetan (za biljke) i cikloheksan (za zemljište). Za prečišćavanje uzoraka tj, za razdvajanje PAU od koekstrahovanih polarnih jedinjenja (poput hlorofila i sličnih) bila je upotrebljena SPE i to koristeći florisil-vlakna. Ova vlakna su obično mikro-kolone od silika gela koji sadrži i anhidrovani natrijum-sulfat (i uobičajeno se kondicioniraju n-heksanom). Rezultati su pokazali da su ispitivane atmosfere čestice bile bogatije PAU jedinjenjima od zemljišta. Statistička metoda, PCA, primenjena na podatke koje su činile koncentracije PAU u ispitivanim uzorcima povrća, zemljišta, čestica u vazduhu, kao i aerosola, pokazala je da je mešavina PAU u spoljašnjim tkivima povrća bila veoma slična onoj u aerosolu, ukazujući na taj način da je depozicija gasovite faze bila osnovni put akumulacije PAU u ovim biljkama.

Nekoliko godina kasnije, Tao i sar. (2004) ispitivali su sadržaj 16 prioriternih PAU metodom GC/MS u poljoprivrednom zemljištu i biljkama na području grada Tianjina u Kini. Ispitivano je osam biljnih vrsti uključujući kineski kupus (*Brassica rapa*), spanać (*Spinacia oleracea*), celer (*Apium graveolens*), korijander (*Coriandrum sativum*), karfiol (var. *Brassica oleracea*), repa (*Brassica rapa*), šargarepa (*Daucus carota*) i kineska slačica (*Brassica juncea*). Za ekstrakciju PAU iz uzoraka zemljišta korišćena je ASE, uz mešavinu rastvarača dihlormetan/acetone (1:1, v/v). Prečišćavanje je vršeno jednostavno, na koloni silika gela (sa anhidrovanim natrijum-sulfatom i dihlormetanom). Rastvarači koji su bili korišćeni u različitim fazama procedure su: cikloheksan, n-heksan i pentan/dihlormetan. Što se tiče biljnih uzoraka, korišćene su slične metode ekstrakcije i prečišćavanja, s tim što je kod prečišćavanja bio uključen i korak sulfonovanja (kako bi se uklonili lipidi i ostale ko-ekstrahovane supstance koje bi mogle da kompromituju analizu PAU). Ovi istraživači koristili su rank korelacionu analizu sa Kendall-ovim koeficijentom korelacije (τ) kako bi utvrdili različite korelacije između ispitivanih varijabli.

Par godina kasnije, Tao i sar. (2006) su ispitivali sadržaj 16 PAU u uzorcima zemljišta i različitim organima pirinča (*Oryza sativa*) sakupljenim na području istog grada Tianjina (Kina), koristeći istu GC-MS metodu i iste tehnike ekstrakcije, prečišćavanja, detekcije i statističke analize. Ova procedura omogućila je izvođenje nekih važnih zaključaka vezanih za nivo akumulacije PAU u biljnim organima pirinča kao glavnog prehrambenog proizvoda u posmatranom regionu Kine.

U toku 2006., Ratola i sar. (2006) su sakupili i iskoristili igličasto lišće *Pinus pinea* L., zimzelenog četinara iz roda borova sa područja Barselone (Španija), za analizu 16 prioriternih PAU, metodom GC/MS. Oni su takođe iskoristili ovu mogućnost za poređenje i razvoj tri tehnike

ekstrakcije: po Soxhlet-u, ultrazvučnu i tečnu ekstrakciju pod pritiskom (koristeći uvek istu mešavinu rastvarača: heksan/dihlormetan (1:1, v/v)), ali je testirano i nekoliko postupaka prečišćavanja ekstrakcijom na čvrstoj fazi (florisil, silicijum-dioksid i aluminijum-oksidi i to kao adsorbensi za prečišćavanje u kertridžima, ili u tipičnoj staklenoj hromatografskoj koloni) sa mešavinom heksan/dihlormetan (1:1, v/v). Zaključili su da se najbolji prinosi PAU dobijaju primenom kombinacije: ultrazvučna ekstrakcija – prečišćavanje na kertridžima sa aluminijum-oksidiom. Godinu dana kasnije, ovaj isti način izolovanja i detekcije PAU, [Ratola i sar. \(2010\)](#) su proširili i na *Pinus pinaster* Ait. sa istih lokacija i napravili poređenje i među ispitivanim biljnim vrstama i među ispitivanim godinama. Za ova poređenja (celog seta podataka), koristili su nekoliko univarijantnih i multivarijantnih statističkih metoda: F-test za analizu varijanse, nezavisan dvostruki t-test za neujednačne veličine uzoraka i neujednačenu varijansu, zavisani t-test za uparene uzorke i PCA. PCA je potvrdila razlike ne samo među ispitivanim vremenskim sezonama, već i među iglicima dve različite vrste bora (u korist *P. pinea*). Sezonske varijacije pokazale su najveće koncentracije tokom zimskih meseci.

[Sojinu i sar. \(2010\)](#) su koristili metodu GC/MS za detekciju i biomonitoring 28 PAU u uzorcima lišća 11 vrsta biljaka prisutnih na području Olomoro, Nigerija, koje je poznato po brojnim naftnim bušotinama. Za ekstrakciju je korišćena aparatura po Soxhlet-u, uz dodatak dihlormetana kao rastvarača (koji je kod uparavanja zamenjen heksanom). Prečišćavanje uzoraka vršeno je u staklenoj koloni pakovanoj sa silicijum-dioksidiom i aluminijum-oksidiom u odnosu 2:1 i eluiranjem rastvaračima: čist heksan i mešavina heksan/dihlormetan. Osim toga, gel-permeabilna hromatografija je bila korišćena za uklanjanje steroidnih jedinjenja. Ovi istraživači su za predstavljanje svojih rezultata iskoristili metode deskriptivne statistike, kao i brojne deskriptivne plotove.

Već 2010. godine, [Liao i sar. \(2010\)](#) su za detekciju PAU u uzorcima površinskog zemljišta koristili GC/MS aparat unapređen sa tripl kvadrupolom, dok su za izolaciju jedinjenja upotreбили MAE; prečišćavanje je bilo urađeno uz SPE. Kao rastvarači u proceduri, korišćeni su dihlormetan/n-heksan i aceton. Od statističkih metoda korišćene su takođe, samo pojedine, deskriptivne i to vezano za dobijene analitičke podatke.

[Smith i sar. \(2011\)](#) su iskoristili metodu HPLC sa UV diodnim detektorom za analizu 16 PAU u uzorcima ne samo različitih tipova zemljišta, već i 5 vrsti biljaka, a u svrhe ispitivanja njihovih fitoremedijacionih potencijala. Analizirane su tri vrste trava i dve mahunarke: *Festuca arundinacea* (visoki vijuk), *Festuca rubra* (crveni vijuk), *Lolium perenne* (ljulj), *Trifolium pratense* (crvena detelina) i *Trifolium repens* (bela detelina). Ekstrakcija je vršena Soxhlet-ovom metodom korišćenjem mešavine rastvarača dihlormetan/aceton (1:1, v/v). Poređenja biljnih vrsta urađena su koristeći One-Way ANOVA za svako PAU jedinjenje. Koncentracije PAU su poređene u odnosu na inicijalne vrednosti ne samo u biljkama, već i zemljištima. Rezultati su pokazali da je forma PAU dodatih u zemljište, uticala na njihovu sklonost ka disipaciji. Studija je takođe pokazala da je stepen gubitka u zemljištima sveže kontaminiranim čistim PAU, kao i ugljem, mnogo veći nego kod istorijski kontaminiranih zemljišta. Zbog toga, može se smatrati da istraživanja sa sveže kontaminiranim zemljištima, ne mogu pružiti ispravnu informaciju o vremenu degradacije PAU u istorijski kontaminiranim zemljištima. U sveže zagađenim zemljištima, nije bilo dokaza o fitoremedijaciji. U zemljištima sveže zagađenim ugljenom prašinom, postojala je evidentna degradacija PAU sa 3, ili 4 prstena. Međutim, u istorijski kontaminiranim zemljištima, fitoremedijacija je zabeležena u beznačajnom stepenu. Postojala je i jasna razlika u gubicima PAU, zavisno od veličine prstenova. Iz ovog razloga, predikcija degradacije PAU ispitivanih u

laboratorijskim uslovima ne odražava situaciju koja bi mogla da se odvija na terenu, tj. u realnim uslovima nekog polja koje se ispituje.

Wang i sar. (2012), ispitivali su uticaj reciklaže e-otpada u Guangdong Provinciji (južna Kina) na sadržaj PAU u okolnom zemljištu (različitog tipa) i vegetaciji, ali i uticaj na zdravlje ljudi. Za izolovanje PAU iz zemljišta korišćena je ekstrakcija po Soxhlet-u sa dihlormetanom kao rastvaračem, dok je iz biljnih uzoraka ekstrakcija vršena korišćenjem smese dihlormetan/acetona (3:1, v/v). Obe vrste ekstrakata su posle uparavanja rastvorene heksanom. Prečišćavanje ekstrakata vršeno je na koloni punjenoj višeslojnom kombinacijom silika-gel/aluminijum-oksida (uz anhidrovani Na_2SO_4) sa eluentom heksan/dihlormetan (1:1, v/v). Kako bi se eliminisali lipidi, dobijeni ekstrakti iz biljnih uzoraka su još jednom prečišćeni gel-permeabilnom hromatografijom. PAU su bili određeni pomoću GC-EI-MS. Ukupne koncentracije PAU u ispitivanim zemljištima i biljkama bile su u rasponu od 127 do 10600 i od 199 do 2420 ng/g, respektivno. Najviše PAU koncentracije bile su nađene u neposrednoj blizini reciklažnog postrojenja. Koncentracije u biljkama varirale su u zavisnosti od vrste, a najveća je bila zabeležena u zelenoj salati. Nisko-molekularni PAU, kao što je Phe, bili su predominantni u zemljištu, dok su VM PAU, poput Flt, Pyr i BaA, bili obilniji u ispitivanim biljkama. Različiti profili PAU u zemljištima i odgovarajućoj vegetaciji, ukazali su da je biljno usvajanje PAU bilo selektivno. Analiza izvora, izvedena korišćenjem PCA, pokazala je da je kontaminacija PAU jedinjenjima poticala pre svega od otvorenog sagorevanja e-otpada.

Banach-Szott i sar. (2015) određivali su sadržaj odabranih PAU (fluoren, antracen, piren i hrizen) u uzorcima zemljišta koje se koristi u poljoprivredne svrhe. Zemljište je uzorkovano u regionima Kujawy i Pomorze (Poljska). Za detekciju PAU korišćena je HPLC sa fluorescentnim detektorom, dok su PAU ekstrahovani standardno, koristeći Soxhlet-ovu aparaturu i cikloheksan kao rastvarač u odnosu 1:25 (w/v). Ekstrakti su upareni do suva, a ostatak je bio rastvoren u acetonitrilu. Klaster analizu iskoristili su kao statističku metodu za utvrđivanje sličnosti među ispitivanim objektima, dok su relacije između ispitivanih osobina bile detektovane pomoću koeficijenta korelacije.

U cilju utvrđivanja uticaja specijacije PAU u industrijskom zemljištu na njihovo kasnije usvajanje od strane biljaka (praktično, kineski kupus, *B. chinensis*), **Zhang i Fan (2016)** su koristili metodu GC/MS i ekstrakciju pomoću ASE - PFE sa dihlormetanom kao rastvaračem u početnom koraku. Ona se kasnije odvijala i sa drugim kombinacijama rastvarača, naizmenično, upravo radi utvrđivanja specijacije PAU u uzorcima zemljišta i biljke. Ekstrakti su prečišćeni na koloni aluminijum-oksida i silika-gela i eluiranjem mešavinom dihlormetan/n-heksan (2:1, v/v) (nepoželjni alifatični ugljovodonici eluirani su n-heksanom). Upotrebljene statističke metode bile su analiza varijanse (ANOVA), Fisher-ov test poslednje značajne razlike (LSD), Pearson-ova korelaciona analiza, regresiona analiza i PCA da bi se ispitali odnosi između osobina zemljišta i različite specijacije PAU u ispitivanim uzorcima zemljišta.

Shi i sar. (2017) ispitivali su varijacije u koncentracijama PAU kod listova 6 varijeteta ozime pšenice. U tom cilju, odabrani varijeteti tretirani su trima različitim koncentracijama (0; 0,25 i 1,5 mg/L) sledeće mešavine PAU: Phe, Ant, Pyr, BaA, BaP i BghiP. Posle 10 dana aplikacije, 6 odabranih PAU u lisnom tkivu bili su ekstrahovani smesom acetona i DCM u Soxhlet-aparaturi i određeni pomoću HPLC-FLD. Najveća detektovana koncentracija $\Sigma 6$ PAU bila je dva puta veća od najniže. Razlike u biljnoj biomasi, kao i PAU koncentracije među varijetetima bile su ustanovljene koristeći Fisher-ovu zaštićenu poslednju značajnu razliku posle izvedenog ANOVA-testa. $\Sigma 6$ PAU u voskovima kutikule bila je značajno veća od one u samoj srži lisnog tkiva, što ukazuje da oni

igraju važnu ulogu u lisnom usvajanju PAU. Rezultati su takođe pokazali da su koncentracije PAU u lišću bile u pozitivnoj korelaciji sa njihovom hidrosolubilnošću.

Sari i sar. (2019), koristili su grančice i iglice bora kako bi ustanovili atmosfersko zagađenje PAU u gradu Bursi (Turska) i to tokom 12 meseci. Ekstrakcija i prečišćavanje PAU bili su izvršeni pomoću različitih rastvarača uz ultrazvučnu ekstrakciju. Detekcija PAU urađena je GC/MS analizom, pri čemu je ustanovljeno da su se koncentracije PAU menjale u zavisnosti od karakteristika ispitivanih zona. Najniža koncentracija bila je zabeležena u delimično seoskom naselju, dok je najviša bila pored postrojenja za preradu otpadnih voda. U iglicama bora, koncentracije su bile u opsegu od 24 do 2565 ng/g suve mase, dok su u grančicama bile od 163 do 2871 ng/g SM za 16 PAU. Najzastupljenija jedinjenja u obe vrste ispitivanih biljnih delova bila su: Nap, Phe, Flr i Flt. Između ostalih metoda, pri identifikaciji izvora PAU, ovi autori koristili su i PCA i Pearson-ovu korelacionu analizu, kao metode sa najmanje nedostataka u ovom postupku. U skladu sa dobijenim rezultatima, PAU su uglavnom poticali iz sagorevanja biomase i uglja, zatim od saobraćaja, ali i mešovityh izvora. Takođe, koncentracije PAU bile su veće tokom zimskih meseci, a i glavni izvori PAU bili su veoma slični. Dobijeni rezultati pokazali su da se ispitivani biljni delovi, kao i primenjene metode, mogu uspešno koristiti u monitoringu stanja životne sredine u odnosu na PAU.

Jia i sar. (2018) ispitivali su sadržaj 16 prioritetyh PAU u šest vrsta povrća: kineskom kupusu (var. *Brassica rapa*), šangajskom zelenom kupusu (var. *Brassica chinensis*), spanaću (var. *Spinacia oleracea*), rotkvici (*Raphanus sativus* L.), bobu (*Vicia faba* L.) i zelenoj salati (*Lactuca sativa* L.), koje su bile uzgajane na poljoprivrednom zemljištu u blizini industrijskog kompleksa u Šangaju (Kina). Za ekstrakciju PAU korišćena je ASE, dok je analiza vršena pomoću GC/MS. Koncentracije u povrću kretala se u opsegu od 65,7 do 458,0 ng/g po sledećem redosledu: lisnato povrće (spanać, kineski kupus i šangajski zeleni kupus) > zelena salata > bob > rotkvice. Na osnovu PCA, utvrđeno je da PAU u povrću vode poreklo uglavnom od sagorevanja uglja i biomase, kao i da su ovi izvori različito uticali na PAU koncentracije u različitom povrću. Rezultati istraživanja su još pokazali da gajenje povrća u blizini industrijskih kompleksa može predstavljati potencijalni rizik od raka za ljude koji konzumiraju kontaminirano povrće.

Godinu dana kasnije, Jia i sar. (2019) ispitivali su sadržaj 16 atmosferskih PAU u lisnatom povrću (spanaću, kineskom kupusu, šangajskom zelenom kupusu i primorskom zelenom spanaću) i zemljištu iz staklene bašte na području okruga Pudong u Šangaju. Prosečna koncentracija za $\Sigma 16$ PAU u listovima povrća iznosila je 117,6 ng/g (45,0–263,5 ng/g); u korenju povrća iznosila je 51,4 ng/g (23,3–106,0 ng/g). Prosečne koncentracije u zemljištu bile su u opsegu od 72,6–366,7 ng/g (172,8 ng/g) u površinskom sloju, preko 194,72 ng/g (118,94–607,02 ng/g), u srednjem sloju i 115,87–274,21 ng/g i (150,16 ng/g) u donjem sloju. U prašini, koncentracije PAU su bile u opsegu od 7809,9–12509,8 ng/g (10581,3 ng/g). Srednja koncentracija u gasnoj fazi iznosila je od 2,6 do 73,3 ng/m³ (36,5 ng/m³) i u čestičnoj fazi od 3,0 do 140,7 ng/m³ (25,2 ng/m³). Metode ekstrakcije i detekcije bile su iste kao i u prethodnom istraživanju Jia i sar. (2018). Ovi istraživači su zaključili da se u lisnatom povrću, PAU uglavnom povezuju sa depozicijom iz vazduha, pri čemu čak 90,6% ukupne apsorpcije dolazi upravo iz tog izvora, dok put zemlja-koren čini svega 9,4%. Zemljište je bilo značajno zagađeno, a istraživanja su pokazala da zagađujuće materije poput PAU dospevaju u povrće pre svega putem vazduha, a tek zatim kroz kontakt sa zemljištem. Zbog njihove perzistentnosti i hidrofobnosti, koncentracije PAU bile su veće u listovima povrća u poređenju sa korenom. Dobijeni rezultati su ukazali su da je povrće akumuliralo više PAU preko listova, iz

vazduha, nego kroz koren iz zemljišta, što je bilo nađeno i u više drugih istraživanja i tako podržalo pretpostavku da je glavni put za akumulaciju PAU u lisnatom povrću - taloženje iz vazduha.

Nakon tri godine [Jia i sar. \(2021\)](#) ispitivali su sadržaj 16 PAU u četiri iste vrste lokalnog povrća kao što je: primorski zeleni spanać (var. *Spinacia oleracea*), običan spanać (*Spinacia oleracea* L.), šangajski zeleni kupus (var. *Brassica chinensis*) i kineski kupus (var. *Brassica rapa*), koje se gajilo u kontrolisanim uslovima, u staklenoj bašti, na istoj lokaciji u blizini Šangaja, ali je ovog puta bilo posađeno u zemljištu pomešanim sa otpadnim muljem. Uzorci sve četiri biljne vrste bili su posađeni u tri grupe potova i to kao: referentni uzorci, umereno zagađeni i jako zagađeni. Metode ekstrakcije i detekcije bile su iste kao u prethodno pomenutim istraživanjima [Jia i sar. \(2018 i 2019\)](#). Cilj poslednjeg istraživanja bio je da se ispita usvajanje i translokacija PAU u sistemu zemljište-vazduh-povrće. Prosečna koncentracija za ukupnih 16 PAU u zemljištu iznosila je 204,7 ng/g (130,1-359,3 ng/g), u listovima 93,9 ng/g (32,6-151,3 ng/g), u korenu 83,0 ng/g (31,7-186,6 ng/g) i mulju 765,0 ng/g (687,5-842,6 ng/g). Povećane koncentracije PAU u korenu povrća u ovom istraživanju uglavnom je bila posledica kontaminacije zemljišta otpadnim muljem koja je povećala apsorpciju i akumulaciju PAU u korenu povrća u odnosu na ranije rezultate. Rezultati su takođe pokazali da su prosečne koncentracije PAU u korenu i listovima referentnog zemljišta, umereno kontaminiranog zemljišta i jako zagađenog zemljišta porasle. Rezultati Pearson-ove korelacije i PCA ukazali su da ispitivane biljke imaju sposobnost da ekstrahuju i akumuliraju PAU i iz zagađenog zemljišta, a ne samo iz vazduha. Stoga se može zaključiti da hidrofobni PAU jesu teško prenosivi iz korena u nadzemne delove povrća, ali ukoliko su u pitanju biljke koje rastu na zagađenom tlu, očigledno je da će neke supstance olakšati njihovo usvajanje, akumulaciju, pa čak i translokaciju u nadzemne delove biljaka.

[Deelaman i sar. \(2020\)](#) određivali su sadržaj 15 PAU u zemljištu 28 lokacija u tri grada Čilea uz pomoć GC/MS. Za ekstrakciju PAU iz uzoraka zemljišta korišćena je ekstrakcija po Soxhlet-u sa dihlor-metanom kao rastvaračem. Ukupne koncentracije dvanaest verovatno kancerogenih PAU, definisane su kao zbir Phe, Ant, Flt, Pyr, BaA, CHR, BbF, BkF, BaP, IcP, DhA i BgP i one su se bile od 0,0215 do 4,37 µg/g. Koncentracije ovih PAU su klasifikovane kao umerene do visoke u poređenju sa svetskim zemljištima. U svim uzorcima dominirali su VM PAU sa četiri (39,1%) i pet prstenova (29,6%). Hijerarhijska klaster analiza i PCA identifikovale su pirogene izvore - sagorevanje kao glavni izvor emisije kontaminacije PAU u ispitivanom zemljištu.

[Sushkova i sar. \(2020\)](#) posmatrali su distribuciju i nivo 16 prioriternih PAU u zemljišnim i biljnim (koren i nadzemna tkiva) uzorcima *Phragmites australis* u gradu Kamensk-Shakhtinskyi (južna Rusija, Region Rostova). Ekstrakcija PAU obavljena je metodom saponifikacije, a njihova detekcija metodom HPLC. Koncentracije 16 PAHs u zemljišnim uzorcima varirale su od 499,0 do 7177,9 µg/kg. Srednje koncentracije Σ16 PAHs bile su 363,0 µg/kg za koren i 239,8 µg/kg za nadzemna tkiva. Dobijeni rezultati obrađeni su metodom Oneway ANOVA (uz Tukey-test kao statističku komparaciju između srednjih vrednosti; sve razlike bile su na značajnom nivou, $p \leq 0,05$). Istraživači su zaključili da su antropogene aktivnosti bile glavni izvori PAU. Maksimalna akumulacija bila je nađena u slučaju Phe, u većini sličajeva. Korenje je sadržalo više PAU. Dodatno, BCF i TF vrednosti NM PAU, bile su veće nego kod VM PAU.

[Ilić i sar. \(2021a\)](#) određivali su sadržaj PAU u industrijskoj zoni, u blizini centra Banja Luke i reke Vrbas (Republika Srpska, Bosna i Hercegovina). Istraživanje je bilo obavljeno na lokaciji bivše fabrike celuloze "Incel" na čijem se mestu sada nalazi industrijski kompleks, na 3 km od centra grada. Istraživanjem je bilo obuhvaćeno 35 uzoraka zemljišta (0 - 20 cm dubine, gornji sloj). Detektovanje PAU vršeno je uz pomoć GC/MS. Ukupna koncentracija PAU na ispitivanom

području kretala se u rasponu od 0,356 do 11,49 mg/kg, sa srednjim vrednostima od 1,99 mg/kg, koja je pokazala da je zemljište jako kontaminirano (maksimalna granica: 1 mg/kg) i zagađeno zagađujućim materijama III klase, gde se koncentracije kreću u opsegu od 1 do 5 mg/kg. Cilj istraživanja bio je da se odrede koncentracije PAU u zemljištu i izvori koji su odgovorni za kontaminaciju zemljišta. Rezultati HCA i PCA podržali su rezultate koji su bili dobijeni na osnovu različitih dijagnostičkih odnosa među određenim detektovanim jedinjenjima, gde se poreklo PAU u zemljištu povezuje sa pirogenim, ili petrogenim izvorima zagađenja. Tako je pokazano da je glavni izvor zagađenja zemljišta - sagorevanje uglja (pirogeno poreklo). Takođe, emisija iz vozila i nepotpuno sagorevanje značajno doprinose povećanim koncentracijama PAU u zemljištu i drugim medijima, što se i pokazalo zajedničkim grupisanjem sa sagorevanjem uglja u okviru PCA. Pirogeno poreklo PAU u zemljištu ispitivanog područja imala su sledeća jedinjenja: Ace, Ant, BaA, BaP, BbF, BgP, BkF, CHR, DhA, Flr, Flt, IcP i Phe, dok su petrogenog porekla bili: Acy, Nap i Pyr, čije se prisustvo u zemljištu povezuje sa izlivanjem nafte i nelegalnim odlaganjem otpada na ispitivanoj lokaciji.

Istraživači Ilić i sar. (2021b) su na istom području odeđivali i sadržaj 16 PAU ne samo u uzorcima zemljišta, već i površinskih voda. Ukupno je prikupljeno 16 uzoraka zemljišta i 4 uzorka vode sa svih četiri selektovanih lokacija. Zemljište je uzorkovano na dubini od 30, 100, 200, 300 i 400 cm). Iz uzoraka zemljišta, PAU su ekstrahovani korišćenjem ultrazvučne ekstrakcije po USEPA 3550C-metodi, dok je detekcija vršena na GC/MS-u. Za identifikaciju izvora PAU korišćena je PCA analiza, kao i različiti dijagnostički odnosi. Bilo je uvrđeno da su izvori PAU mešoviti, sa dominacijom pirogenih izvora.

Al Nasir i sar. (2022) određivali su koncentracije 16 PAU u četiri vrste jestivog povrća (paradajz, tikvica, plavi patlidžan i krastavac), vodi za navodnjavanje i poljoprivrednom zemljištu, gde su uzorci prikupljeni iz doline reke Jordan, Jordan. Za ekstrakciju PAU iz biljnog i zemljišnog materijala korišćena je ekstrakcija čvrsto-tečno, dok je za ekstrakciju PAU iz vode korišćena ekstrakcija čvrstom fazom. Za analizu je korišćena HPLC metoda sa fluorescentnim detektorom. Prosečne koncentracije za 16 ukupnih PAU bile su u rasponu od 10,649 do 21,774 µg/kg u povrću, 28,72 µg/kg u zemljištu i 0,218 µg/L u uzorcima vode. Najveće koncentracije bile su u uzorcima paradajza, dok su najniže bile u uzorcima tikvice. Generalno, VM PAU sa četiri i više benzenovih prstenova, bili su dominantni u ispitivanim uzorcima. Na osnovu PCA, primarni izvori kontaminacije PAU u zemljištu i povrću uglavnom su bili pirogenog porekla, iz saobraćaja i sagorevanja biomase.

U svom istraživanju, Zhao i sar. (2022) ispitivali su sadržaj 16 PAU u 9 uzoraka zemljišta i 44 uzorka biljaka prikupljenih u blizini glavnih jezera (jezero Hongze, jezero Luoma, jezero Chaohu, jezero Changhu, rezervoar Danjiangkou, istočno jezero Vuhan, jezero Longgan, jezero Kiandao i jezero Liangzi) u istočnoj Kini. Za ekstrakciju PAU korišćena je mikrotalasna ekstrakcija uz analizu GC/MS-om. Koncentracije ukupnih PAU u zemljištu varirale su se od 99,17 do 552,10 ng/g sa prosečnom koncentracijom od 190,35 ng/g, a ukupan sadržaj PAU u biljkama bio je od 122,93 do 743,44 ng/g, sa prosečnom koncentracijom od 274,66 ng/g. U zemljištu su dominirali PAU srednje i niske molekularne mase, dok su u biljkama dominirali nisko-molekularni PAU. U biljnom i zemljišnom materijalu, najobilniji je bio Phe. Analiza glavnih komponenti je identifikovala sagorevanje kao glavni izvor PAU u zemljištu i biljkama (pirogeno poreklo). Značajne korelacije između biljnih i zemljišnih PAU, bile su nađene u sledećim slučajevima: Acy, Ant, BkF, BbF, and DhA. Na osnovu vrednosti BCF zaključeno je da *Bidens pilosa* L. i *Gaillardia*

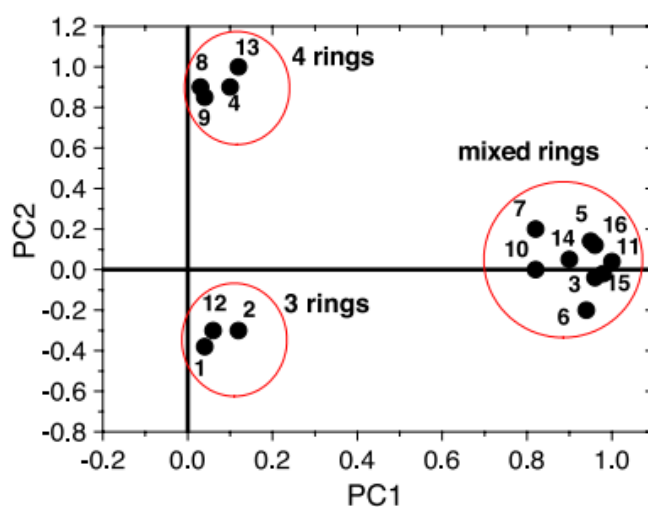
pulchella Foug iz porodice glavočike (*Compositae*) i kukuruz iz porodice trava (*Poaceae*) imaju dobru akumulaciju PAU, što ukazuje na njihov dobar potencijal u fitoremedijaciji.

Kicińska i Dmytrowski (2023) su određivali sadržaj PAU u uzorcima površinskog zemljišta (ukupno 39) u Małopolska regionu u zaštićenoj oblasti južne Poljske. Koncentracije PAU bile su određene nakon dvostruke tečno-čvrste ekstrakcije koristeći *n*-heksan i primenom GC/MS tehnike. Koncentracije individualnih PAU varirale su od < 0,005 do 6,34 mg/kg. One su prelazile dozvoljene koncentracije u 23% analiziranih uzoraka, dok su u 26% uzoraka bile povećane. Statističke razlike među srednjim vrednostima ispitivane su ANOVA metodom sa Tukey HSD testom, dok su izvori PAU detektovani pomoću HCA.

Li i sar. (2025) ispitivali su sadržaj i distribuciju 16 PAU u 177 uzoraka zemljišta sa odabranih plantaža čajeva u Kini. Rezultati GC/MS analize uz prethodnu ultrazvučnu ekstrakciju pokazali su da su se koncentracije 16 ukupnih PAU u 177 uzoraka bile su u opsegu od 6,21 do 4068,91 ng/g, sa prosečnom koncentracijom od 257,00 ng/g. Većina PAU u zemljištu plantaža čajeva pretežno su bili sa 5–6 prstenova, a najveći sadržaj bio je za IcP, 23% i BbF, 16%. Pored toga, 10,16% uzoraka zemljišta sa plantaža čajeva sadržale su PAU koji u svom molekulu imaju od 2-3 prstena, pri čemu je najveća koncentracija bila za Nap. Kako bi se identifikovali mogući izvori PAU u zemljištu korišćena je PCA, koja je pokazala da su izvori PAU uglavnom bili mešoviti: sagorevanje, kao što je nepotpuno sagorevanje biomase, sagorevanje nafte, sagorevanje uglja i sagorevanje drveta. Na distribuciju PAU uglavnom je uticala prisutna industrija, geografski položaj plantaže čaja, klimatski uslovi, svojstva zemljišta i drugi faktori u različitim regionima.

Treba napomenuti da su i neki retki istraživači iz Srbije koristili hemometrijsku metodu, kako bi ispitali i razrešili različite problematike vezane za PAU.

Tako na primer, već 2004. god., Golobočanin i sar. (2004) primenili su hemometrijske metode: PCA i HCA, kako bi se razjasnili opšti obrasci distribucije, ili sličnosti pojedinačnih PAU jedinjenja koja se javljaju u zemljištu prikupljenom sa različitih lokacija, sa različitim doprinosom potencijalnih izvora (veliki skup podataka), ali i doprinelo poboljšanju ekološke metodologije za procenu stepena zagađenja. Rezultati istraživanja su pokazali da distribucija PAU u životnoj sredini ima prilično neujednačen obrazac. Utvrđeno je da su jedinjenja PAU, u područjima sa velikim stepenom kontaminacije, bila raspoređena u tri grupe, uglavnom prema broju prstenova u njihovoj strukturi; nasuprot tome, u područjima sa uobičajenom kontaminacijom, pojedinačna PAU jedinjenja su bila nasumično raspoređena (Tabela 4., Slike 33. i 34.).

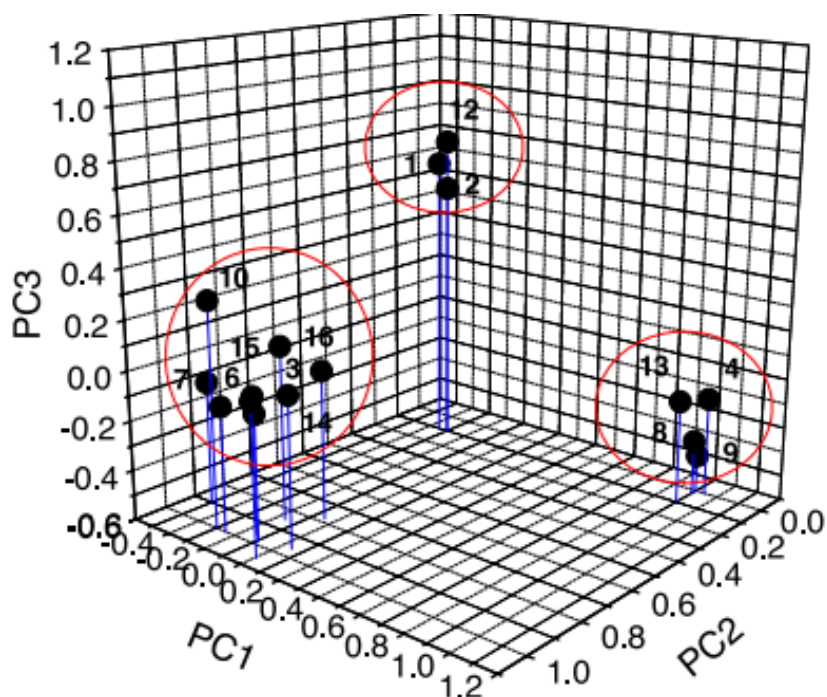


Slika 33. Odnos plota PC1 prema PC2 koji ilustruje distribuciju individualnih PAU jedinjenja u ispitivanim zagađenim zemljištima. Identifikacioni brojevi PAU nalaze se u Tabeli 4. (Golobočanin i sar., 2004)

Tabela 4. "Loading"-faktori* (normalizovani varimax-metodom) za tri glavne komponente, PCn, za nekontaminirano i značajno kontaminirano zemljište u radu [Golobočanina i sar. \(2004\)](#)

Br.	Pojedinačno PAU jedinjenje	Zemljište bez kontaminacije			Kontaminirano zemljište		
		PC1	PC2	PC3	PC1	PC2	PC3
1.	Acenaften	0,04	0,99	-0,04	0,06	-0,34	0,93
2.	Acenaftilen	0,03	0,61	0,12	0,11	-0,28	0,79
3.	Antracen	0,67	-0,02	0,49	0,99	-0,07	0,04
4.	Benzo(a)antracen	0,90	0,34	0,05	0,06	0,95	-0,14
5.	Benzo(a)piren	0,91	-0,04	0,36	0,97	0,12	-0,01
6.	Benzo(b)fluoranten	-0,02	-0,21	0,95	0,97	-0,12	0,07
7.	Benzo(g,h,i)perilen	0,37	0,11	0,88	0,85	0,18	0,11
8.	Benzo(k)fluoranten	0,99	-0,00	0,07	0,02	0,95	-0,30
9.	Hrizen	0,97	0,16	0,06	0,02	0,90	-0,33
10.	Dibenzo(a,h)antracen	0,19	0,21	0,74	0,83	0,01	0,18
11.	Fluoranten	0,69	0,03	0,71	0,99	0,04	0,05
12.	Fluoren	0,22	0,97	-0,02	0,07	-0,28	0,94
13.	Indeno(1,2,3-cd)piren	0,89	0,36	0,04	0,08	0,98	-0,16
14.	Naftalen	0,16	-0,05	0,46	0,91	0,06	-0,02
15.	Fenantren	0,68	-0,00	0,59	0,99	0,00	0,05
16.	Piren	0,90	-0,33	0,42	0,97	0,14	0,01
Standardna devijacija %		42,59	16,74	24,28	50,34	24,55	16,91

* - obeleženi "loading"-faktori su > 0,70



Slika 34. PCA-loading 3-D plot (PC1 vs. PC2 vs. PC3) za 16 individualnih PAU u radu [Golobočanina i sar. \(2004\)](#)

U radu [Jovčić i sar. \(2013\)](#), prikazane su i analizirane rezidualne koncentracije PAU u atmosferskim česticama u blizini industrijske zone Novog Sada (Srbija), sa ciljem utvrđivanja kako sezonskih (letnjih i zimskih), tako i prostornih varijacija i konačno – utvrđivanja mogućih izvora emisije čestične faze PAU. Ukupno 84 uzorka vazduha bilo je sakupljeno korišćenjem visoko-zapreminskog uzorkivača sa protokom vazduha: 350–500 m³/dan. Uzorkovanje je realizovano u ciklusima od po 24 časa (za svaki uzorak). Za uzorkovanje suspendovanih čestica u vazduhu iskorišćeni su jednoslojni filteri napravljeni od staklenih vlakana, r = 150 mm. Analiza uzoraka je obavljena primenom GC/MS-metode. Rezultati dijagnostičkih analiza ukazali su na emisiju PAU

sagorevanjem dizel goriva i benzina, ali i iz industrije. Analiza glavnih komponenti, podržala je činjenicu da je saobraćaj predominantni izvor čestične faze PAU u blizini gradske industrijske zone. Primenom ove metode na podatke iz zimskog uzorkovanja, otkrivena je i emisija PAU iz stacionarnih izvora, kao što su: termoelektana sa toplanom, individualna ložišta i rafinerija nafte.

Na kraju i pojedini istraživači iz Bora takođe su ukazali na vrednost primene hemometrije u svrhe određivanja PAU, kao i njihove fitoremedijacije i biomonitoringa. Tako na primer, u studijama o mogućnostima primene divlje kupine za navedene namene [Alagić i sar. \(2016\)](#) i [Alagić i sar. \(2017\)](#), došlo se do zaključka da kombinacija savremenih hemijskih metoda sa statističkim metodama kao što su: Pearson-ova korelaciona studija i HCA, obezbeđuje izuzetno precizne i korisne podatke za identifikaciju autentičnih biljnih remedijacionih- i monitoring-potencijala. Pomenute studije sa primenjenim metodama dokazale su mogućnost aplikacije divlje kupine u fitostabilizaciji, kao metodi fitoremedijacije, ali i u par različitih biomonitoring-metoda.

U istraživanju [Alagić i sar. \(2016\)](#) ispitivan je sadržaj 6 VM PAU: BbF, BkF, BaP, DhA, BgP i IcP u korenu i zemljištu divlje kupine iz najugroženijih zona Borskog regiona (obuhvaćene su i urbano-industrijske i ruralne lokacije). Ekstrakcija i prečišćavanje VM PAU bili su izvršeni QuEACHERS tehnikom, dok je sama detekcija sprovedena GC/MS metodom. Rezultati GC/MS analize pokazali su da VM PAU kao što su DhA, BgP i IcP, nisu bili detektovani u uzorcima zemljišta i korena (osim BgP na jednoj od lokacija). Najzastupljenija jedinjenja u uzorcima korena divlje kupine sa svih ispitivanih lokacija bila su: BaP, BbF i BkF. Njihove koncentracije u zemljištu bile su značajno niže u poređenju sa korenom.

Naime, na pojedinim lokacijama nekoliko jedinjenja kao što su: BbF, BkF i BgP, detektovani su u korenu, ali ne i u zemljištu, na osnovu čega se može zaključiti da divlja kupina ima odličan potencijal za akumulaciju PAU u korenu. Međutim, na nekim drugim ispitivanim lokacijama, koncentracije BbF i BkF u korenu bile su veoma niske, dok su koncentracije u korenu za: DhA, BgP i IcP bile ispod granice detekcije, tako da su izračunati BCF ukazivali na veoma niske stope akumulacije. Samo u slučaju BaP-a može se reći da je divlja kupina pokazala afinitet za njegovu značajnu ekstrakciju iz zemljišta i akumulaciju u korenu (BCF vrednosti su bile veće od 1 na nekoliko lokacija). Na osnovu rezultata dobijenih Pearson-ovom korelacionom analizom, pokazalo se da je BaP bio u negativnoj korelaciji sa zemljišnim pH. Ostali parametri zemljišta, kao što su sadržaj OM i EC nisu imali uticaj na usvajanje BaP-a, ali i drugih ispitivanih PAU. Dobijeni rezultati ukazivali su da ispitivana biljna vrsta, divlja kupina ima presudni uticaj na usvajanje PAU, uljučujući i moguće sinergističko delovanje sa mikroorganizmima u zemljištu. Kod pojedinih PAU u uzorcima sa nekih ispitivanih lokacija došlo je do rizodegradacije, dok su kod drugih bili dominantni mehanizmi fitostabilizacije, ili fitoekstrakcije, što je verovatno bilo regulisano odbrambenim mehanizmom divlje kupine. Rezultati ovog istraživanja ukazuju na mogućnost postojanja, ili koegzistencije različitih mehanizama tolerancije, što dalje ukazuje na to da se divlja kupina može smatrati pogodnom biljkom za fitostabilizaciju zagađenog zemljišta kontaminiranog PAU jedinjenjima, a posebno BaP. Analizom zemljišta detektovane koncentracije BaP-a u svim uzorcima prelazile su RSL vrednosti, što svakako predstavlja rizik po zdravlje stanovnika sa ispitivane teritorije, dok je HCA analiza grupisala ispitivane lokacije na osnovu njihove sličnosti u koncentracijama BaP; HCA analizom pokazalo se i da koren ne odražava tačnu situaciju sa BaP u zemljištu, pa je bilo zaključeno da se on ne može koristiti kao pouzdan alat u biomonitoringu zemljišta ([Alagić i sar., 2016](#)).

Godinu dana kasnije, [Alagić i sar. \(2017\)](#) objavili su i sadržaj NM (Nap, Ace, Flr, Phe i Ant) i SM (Flt, Pyr, CHR i BaA) jedinjenja PAU u istim uzorcima divlje kupine (koren i zemljište) iz

regiona Bora, primenjujući isti hemometrijski pristup.

Pearson-ova korelaciona analiza pokazala je da su koncentracije Nap i Flt u zemljištu bile u negativnoj korelaciji sa udaljenošću od industrijskog kompleksa, na osnovu čega se može doći do zaključka da se samo koncentracije Nap i Flt mogu povezati sa gasovima koji se emituju iz dimnjaka u industrijskoj zoni, dok se poreklo za ostale ispitivane PAU može povezati sa saobraćajem, povremenim požarima i individualnim ložištima. HCA analiza pokazala je kategorizaciju ispitivanih lokacija na osnovu koncentracija NM i SM PAU u zemljištu, ali i korenu; i ovog puta se pokazalo da koren ne odražava tačnu situaciju u zemljištu i da nije preporučljiv za biomonitoring zemljišta (Alagić i sar., 2017).

Konačno, radi pojednostavljenog i preglednog prikaza opisanih studija, a pre svega upotrebljenih hemijskih i statističkih metoda, sumarna Tabela 5. data je na kraju ovog poglavlja.

Tabela 5. Literaturni pregled radova sa hemometrijskim pristupom primenjenim za različite potrebe, a pre svega u svrhe fitoremedijacije i biomonitoringa

Uzorkovani materijal	Tehnika prečišćavanja i ekstrakcije	Metoda detekcije i kvantifikacije	Statističke metode za obradu podataka	Svrha ispitivanja	Literatura
Biljni (povrtarski) i zemljišni materijal u poljoprivredi	Ekstrakcija - Soxhlet uz dihlormetan (za biljke) i cikloheksan (za zemljište) Prečišćavanje - SPE na florisil-vlaknima	HPLC sa fluorescentnim detektorom	PCA	Praćenje zagađenja poljoprivrednog zemljišta i biljaka u blizini industrijske zone	Kipopoulou i sar. (1999)
Poljoprivredno zemljište i povrtarske biljke	Ekstrakcija - ASE, uz mešavinu dihlormetan/acetona (1:1, v/v). Prečišćavanje - na koloni silika gela (sa anhidrovanim natrijum-sulfatom i dihlormetanom) uz eluiranje različitim rastvaračima	GC/MS	Rank-korelaciona analiza sa Kendall-ovim koeficijentom korelacije (τ)	Praćenje zagađenja poljoprivrednog zemljišta i biljaka	Tao i sar. (2004)
Pirinač i zemljište				Akumulacija i distribucija PAU u pirinču	Tao i sar. (2006)
Iglice bora, <i>Pinus pinea</i> L.	Ekstrakcija - Soxhlet, ultrazvučna i tečna ekstrakcija pod pritiskom.	GC/MS	Deskriptivna analiza	Određivanje sadržaja PAU u iglicama zimzelenog bora	Ratola i sar. (2006)
Iglice bora, <i>Pinus pinaster</i> Ait.	Ekstrakcija - na čvrstoj fazi (florisil, silicijum-dioksid i aluminijum-oksidi)		F-test, nezavisan dvostruki t-test, zavisani t-test, PCA	Biomonitoring	Ratola i sar. (2010)
Biljni materijal – uzorci različitog lišća	Ekstrakcija - Soxhlet uz dihlormetan. Prečišćavanje - u staklenoj koloni sa silicijum-dioksidom i aluminijum-oksidi u odnosu 2:1 i eluiranjem rastvaračima: čist heksan i mešavina heksan/dihlormetan	GC/MS	Metode deskriptivne statistike, deskriptivni plotovi	Biomonitoring	Sojinu i sar. (2010)
Površinsko zemljište	MAE, SPE uz dihlormetan/n-heksan i acetona.	GC/MS sa tripl kvadrupolom	Deskriptivne statističke metode	Potvrda sadržaja PAU u zemljištu	Liao i sar. (2010)
Biljni i zemljišni materijal	Ekstrakcija - Soxhlet korišćenjem mešavine dihlormetan/acetona (1:1, v/v)	HPLC sa UV diodnim detektorom	One-Way ANOVA	Fitoremedijacija	Smith i sar. (2011)
Biljni i zemljišni materijal	Ekstrakcija - Soxhlet sa dihlormetanom (za zemljište) i mešavinom dihlormetan/acetona (3:1, v/v) (za biljke). Prečišćavanje - u koloni sa višeslojnim punjenjem silika-gel/aluminijum-oksidi	GC-EI-MS	PCA	Uticaj reciklaže e-otpada na sadržaj PAU u zemljištu i vegetaciji	Wang i sar. (2012)
Zemljišni uzorci	Ekstrakcija – Soxhlet uz cikloheksan kao rastvarač u odnosu 1:25 (w/v), Ekstrakti - upareni do suvog ostatka koji je bio rastvoren u acetonitrilu	HPLC sa fluorescentnim detektorom	Klaster analiza	Sadržaj PAU u različitim vrstama zemljišta	Banach-Szott i sar. (2015)
Biljni i zemljišni materijal	ASE - PFE ekstrakcija dihlormetanom. Prečišćavanje - na koloni aluminijum-oksidi i silika gel i eluiranjem mešavinom dihlormetan/n-heksan (2:1, v/v)	GC/MS	ANOVA test, Fisher-ov test, Pearson-ova korelaciona analiza, Regresivna analiza, PCA	Biomonitoring i fitoremedijacija	Zhang i Fan (2016)
Lišće ozime pšenice	Ekstrakcija - Soxhlet uz mešavinu acetona i DCM	HPLC-FLD	Fisher, ANOVA test	Biomonitoring	Shi i sar. (2017)
Graničice i iglice bora	Ultrazvučna ekstrakcija uz različite rastvarače	GC/MS	PCA, Pearson-ova korelaciona analiza	Biomonitoring	Sari i sar. (2019)

Nastavak Tabele 5.					
Uzorkovani materijal	Tehnika prečišćavanja i ekstrakcije	Metoda detekcije i kvantifikacije	Statističke metode za obradu podataka	Svrha ispitivanja	Literatura
Biljni materijal	ASE	GC/MS	PCA	Uticaj PAU na zdravlje ljudi	Jia i sar. (2018)
Biljni i zemljišni materijal				Fitoremedijacija i biomonitoring	Jia i sar. (2019)
Biljni i zemljišni materijal			Pearson-ova korelacija, PCA	Fitoremedijacija i biomonitoring	Jia i sar. (2021)
Uzorci zemljišta	Ekstrakcija - Soxhlet sa dihlor-metanom	GC/MS	HCA, PCA	Identifikacija izvora zagađenja zemljišta PAU	Deelaman i sar. (2020)
Biljni i zemljišni uzorci	Ekstrakcija -saponifikacija	HPLC	ANOVA test	Ponašanje PAU u sistemu zemljište-biljka	Sushkova i sar. (2020)
Zemljišni uzorci	/	GC/MS	PCA, HCA	Izvori zagađenja PAU	Ilić i sar. (2021a)
Uzorci zemljišta i površinskih voda	Ultrazvučna ekstrakcija	GC/MS	PCA	Izvori zagađenja PAU	Ilić i sar. (2021b)
Povrće, voda za navodnjavanje i poljoprivredno zemljište	Ekstrakcija – čvrsto-tečno za biljni i zemljišni materijal, ekstrakcija čvrstom fazom za uzorke vode	HPLC sa fluorescentnim detektorom	PCA	Zagađenje različitih vrsta povrća	Al Nasir i sar. (2022)
Biljni i zemljišni materijal	Mikrotalasna ekstrakcija	GC/MS	PCA	Fitoremedijacija	Zhao i sar. (2022)
Površinsko zemljište	Dvostruka ekstrakcija tečno-čvrsto uz <i>n</i> -heksan	GC/MS	ANOVA sa Tukey HSD testom, HCA	Dokazi o antropogenom poreklu PAU u zemljištu	Kicińska i Dmytrowski (2023)
Zemljište plantaže čajeva	Ultrazvučna ekstrakcija	GC/MS	PCA	Prostorna distribucija PAU u zemljištu	Li i sar. (2025)
Zemljište	/	/	PCA, HCA	Zagađenje zemljišta	Golobočanina i sar. (2004)
Suspendovane čestice u vazduhu	Uzorkovanje suspendovanih čestica - na jednoslojnim filterima od staklenih vlakana, $r = 150$ mm	GC/MS	PCA	Identifikacija izvora PAU u industrijskoj zoni	Jovčić i sar. (2013)
Koren divlje kupine i zemljište	QuEChERS tehnika	GC/MS	Pearson-ova korelaciona analiza, HCA	Fitoremedijacija i biomonitoring	Alagić i sar. (2016, 2017)

3. Osnovne polazne hipoteze i cilj rada

Posmatrano u širem smislu, predmet i cilj ove doktorske disertacije, odnosi se na aplikaciju hemometrijskog pristupa u ispitivanju prirodnih, tj., autentičnih i pre svega praktičnih potencijala lokalnih biljnih vrsta iz grada Bora (istočna Srbija) i okoline, u odnosu na usvajanje i akumulaciju PAU. Istraživanja su preduzeta u cilju procene mogućnosti primene odabranih vrsta u svrhe fitomonitoringa i fitoremedijacije, dve poznate, ekološki prihvatljive tehnologije u zaštiti, kontroli i regeneraciji okoline od gore pomenutih mikro-polutanata, za koje je davno pokazano da i u tako malim, tj. mikro-količinama predstavljaju veliki rizik ne samo po neposrednu, a i širu okolinu, već i sav živi svet. Osim ovog, glavnog cilja, u okviru samog hemometrijskog pristupa, postavljen je još jedan, ne manje važan cilj, vezan za eksperimentalno izolovanje PAU, a koji se odnosi na uvođenje izvesnih modifikacija u okviru QuEChERS tehnike, uz istovremeno izvođenje postupka validacije, tj. optimizacije iste. Naime, prvi put, za prečišćavanje biljnog materijala (u fazi prečišćavanja ekstrakcijom disperznom čvrstom fazom) primenjena je dijatomejska zemlja, jer ona predstavlja jeftin sorbent sa velikom specifičnom površinom, što pozitivno utiče ne samo na proces prečišćavanja dobijenih ekstrakata (i biljnih i zemljišnih), već i na troškove analize.

Što se tiče osnovnog cilja, tj. procene primenjivosti lokalnih biljnih vrsta u fitomonitoringu i fitoremedijaciji, uočeno je da bi ovo bilo od koristi ne samo za Bor i njegovu okolinu, već i šire, za sve ugrožene ekosisteme širom planete. Naime, dobro je poznata činjenica da je, od početka industrijske revolucije i uopšte, sa razvojem ljudske civilizacije, tj. tehnike i tehnologije, zagađenje PAU jedinjenjima postalo problem na svetskom nivou. Izvori PAU postaju sve mnogobrojniji (naročito antropogeni) i vezani su za sve oblike sagorevanja organske materije, pre svega u uslovima pirolize. PAU se emituju i formiraju ne samo tokom različitih industrijskih aktivnosti, rada gradskih toplana, već i u saobraćaju, ali i u individualnim domaćinstvima, itd.

Mnogi regioni u svetu, trpe ozbiljne posledice višegodišnjeg zagađenja PAU, koje se ogleda ne samo u oštećenjima samog lokalnog biotopa, već i na prisutnim biocenoza i što je najvažnije, na ljudskoj populaciji. Situacija u Boru i okolini je još komplikovanija, jer se prilikom osnovnih privrednih delatnosti - iskopavanja i prerade rude bakra, oslobađaju pre svega različiti teški metali u različitim formama i štetni gasovi poput sumpor-dioksida i dr. Iz ovih razloga i menadžment pojedinih kontaminiranih sfera životne sredine postaje od sve većeg značaja, a posebno vezano za zemljište koje je na opštem nivou prihvaćeno kao veoma važan, ali u isto vreme teško obnovljivi (skoro neobnovljivi) prirodni resurs za koji se zna da poseduje osobine koje ga čine glavnim rezervoarom najrazličitijih zagađujućih materija. Kako je dokumentovano u literaturi, među brojnim metodama remedijacije (hemijske, fizičke, biološke, termalne, ili čak i hibridne metode), u sve većoj meri se izdvaja i jedna relativno mlada i ekološki prihvatljiva metoda - fitoremedijacija. Iako dužeg trajanja, ona se može primeniti relativno jednostavno i bezbedno ne samo na kontaminirano zemljište, već i na vazduh i vodu, uz prihvatljive troškove izvođenja. Naime, mnogobrojne novije studije pokazale su da je fitoremedijacija bazirana na prirodnim i specifičnim biljnim sposobnostima da tolerišu različite zagađujuće materije, pa tako i PAU, zahvaljujući kojim se kontaminanti mogu potpuno eliminisati, ili imobilisati u određenom matriksu, a oni koji su organske prirode, mogu se i razoriti do jedinjenja sa manje komplikovanom strukturom (i koja su

uobičajeno i manje toksična). Ovo je posebno pogodno i efektivno u slučajevima prostranih kontaminiranih zemljišnih površina, gde se istovremeno popravljaju i njihove fizičke, hemijske i biološke osobine.

Dodatno, pošto biljke mogu usvajati PAU ne samo iz zemljišta, preko korena, već i putem listova (iz istaložene prašine), ova pojava se može iskoristiti ne samo za značajno uklanjanje PAU iz vazduha, već i u različito osmišljenim procedurama fitomonitoringa, koji predstavlja još jednu ekološku metodu u kontroli i zaštiti životne sredine, sa niskim troškovima i jednostavnim izvođenjem. Osim detektovanja prave bioakumulacije u lišću, ali i drugim nadzemnim organima (koristeći ih u analizi kao oprane), u svrhe praćenja aero-zagađenja, mogu se upotrebiti i neoprani nadzemni delovi biljaka. Naime, pošto se na njihovim površinama mogu zadržati i značajne količine neusvojenih porcija atmosferskih taloga, to se analizom neopranih delova mogu dobiti tačniji profili trenutne kontaminacije.

Iz ovih razloga, kao glavni cilj predmetne doktorske disertacije postavilo se - istraživanje prirodnih, praktičnih potencijala raspoloživih, do sada neispitanih, lokalnih biljnih vrsta sa teritorije opštine Bor u odnosu na usvajanje i akumulaciju 16 prioriternih PAU u njihovom korenju, kao i sadržaja u odgovarajućem zemljištu iz korenske zone, kako bi se utvrdila njihova eventualna primenljivost u fitoremedijaciji, ali i fitomonitoringu zemljišta. U svrhe ispitivanja primenljivosti u monitoringu vazduha, odabrani su odgovarajući nadzemni biljni organi i oni su analizirani kao neoprani delovi. Nađene koncentracije 16 prioriternih PAU u ispitivanim organima, a naročito u korenju, upoređene su među odabranim biljnim vrstama. Poređenja su vršena neposredno, kao i posredno (preko odgovarajućih BCF vrednosti), kako bi se uočila upravo ona koja ima efektivniju akumulaciju, a kod nadzemnih organa - i atmosfersku depoziciju. Dobijeni rezultati su dodatno upoređeni sa podacima iz relevantne/odgovarajuće literature, kao i sa važećim preporukama i zakonskim propisima. Najčešće su korišćena ograničenja koncentracija PAU u zemljištu, kako bi se stekao potpuniji uvid u nivoe kontaminacije i povezane rizike. Takođe, detektovane zemljišne koncentracije su diskutovane i u odnosu na one iz ranijeg perioda, nađene na istim lokacijama. Ispitani su i uticaji udaljenosti (U) određene lokacije od industrijske zone grada Bora na korenske i zemljišne koncentracije PAU, a zatim i važnih zemljišnih parametara poput pH, OM i EC, kao i koncentracija različitih zemljišnih PAU na sadržaj PAU u uzorkovanom (oprano) korenju i takodje je izvršena procena mogućeg porekla zemljišnih PAU (tj. atmosfersko, ili dijagenetičko, eventualno biogeno). Ispitana je i zavisnost sadržaja PAU u neopranim nadzemnim delovima u odnosu na parametar U i na jedan indirektan način, izvršena je i procena preovlađujućeg doprinosa prave bioakumulacije, ili atmosferske depozicije u tom sadržaju. Detekcija PAU i kasnije procesuiranje rezultata izvršeni su najsavremenijim hemometrijskim pristupom, tj. kombinacijom najaktuelnijih hemijskih metoda (pre svega GC/MS, uz asistenciju modifikovane QuEChERS tehnike), sa statističkim metodama poput Pearson-ove korelacione studije (PCS) i HCA. Radi utvrđivanja stope akumulacije za svako pojedinačno PAU jedinjenje u korenju svake ispitivane biljne vrste, sa svake lokacije, primenjeno je i izračunavanje odgovarajućeg biokoncentracionog faktora (BCF). Na kraju same doktorske disertacije, ukazano je i na značaj odabranog hemometrijskog pristupa, kao i izračunavanja odgovarajućih faktora bioakumulacije, u proceni fitomonitoring i fitoremedijacijskih potencijala različitih vrsta biljaka.

Praktično, može se reći da je ova doktorska disertacija, bazirana na više osnovnih hipoteza:

1) da grad Bor sa rudarsko-metalurškim kompleksom i gradskom toplanom u svom industrijskom centru, kao i njegova šira okolina, predstavljaju izrazito adekvatan teren za istraživanje, jer je činjenica da je tokom prošlog, XX veka, on neprestano bio izložen snažnom negativnom uticaju ne

samo neorganskih, već i organskih zagađujućih materija, među kojima se izdvajaju jedinjenja PAU; posebno su interesantne one lokacije koje su pozicionirane na pravcima dominantnih vetrova u celom regionu, pa su kao takve bile i najizloženije dugogodišnjoj kontaminaciji zagađujućim materijama (i neorganskog i organskog porekla); sve ovo se najčešće sreće kod totalno urušenih i opustošenih mesta pokraj teško zagađenih vodotokova, često bez ikakve vegetacije;

2) međutim, bez obzira na ovako narušeno stanje kvaliteta same životne sredine, očigledno je da postoje mnoge biljne vrste koje opstaju na teritoriji grada Bora i okoline, te je pretpostavljeno i da bi neke od tih lokalnih vrsta mogle poslužiti kao dobri kandidati za testiranje njihovih prirodnih fitoremedijacionih i fitomonitoring potencijala; naime, ukoliko bi se na više odabranih, kritičnih mesta, pronašli zdravi primerci izvesnih, otpornih biljnih vrsta, koje bez ikakve sumnje, opstaju u agresivnim uslovima, onda bi sprovođenje jednog interdisciplinarnog istraživanja u navedene svrhe bilo ne samo moguće, već nesumnjivo i potpuno smisleno; dodatno, ovo istraživanje bi moglo da ukaže i da li te vrste mogu biti aplikovane i u revegetaciji i sprečavanju erozije najugroženijih mesta;

3) naredna i ujedno, najznačajnija pretpostavka je da je sasvim moguća detekcija, tj., identifikacija, a zatim i analiza izvesnih, do sada neispitanih biljnih vrsta sa dobrim kapacitetima za akumulaciju, ali i depoziciju PAU (posmatrajući po različitim organima), što bi bio značajan doprinos u njihovoj fitoremedijaciji i fitomonitoringu, kao dve relativno mlade i pre svega - obećavajuće metode tehnoloških nauka;

4) očekuje se i da će izbor metoda istraživanja u okviru najsavremenijeg hemometrijskog pristupa, kao i uz izvršenu modifikaciju i optimizaciju QuEChERS tehnike, dovesti do dobijanja pouzdanih i tačnih podataka koji će, u konačnom, obezbediti formulisanje i što pouzdanijih zaključaka.

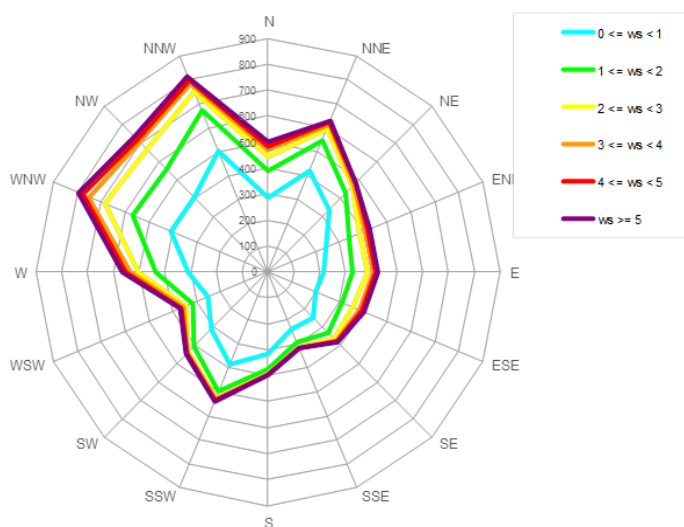
Odgovori na početne hipoteze i zadate ciljeve ove doktorske disertacije, sadržani su u rezultatima i diskusiji izloženim u poglavljima koja slede. Preciznije rečeno, tri višegodišnje, vaskularne, biljne vrste: jorgovan (*Syringa vulgaris* L.), smokva (*Ficus carica* L.) sorta crna Petrovača i bršljan (*Hedera helix* L.), koje su bile primećene na svim lokacijama od interesa, bile su i odabrane kao test-biljke za procenu i diskusiju njihovih prirodnih, praktičnih potencijala za fitomonitoring i fitoremedijaciju, a posebno zato što se pregledom dostupne naučne literature, pokazalo da ove vrste nikada ranije nisu bile ispitivane u ovom, konkretnom pogledu. Postupak i rezultati validacije QuEChERS tehnike takođe su izloženi u narednim poglavljima.

4. Eksperimentalni deo

4.1. Opis mesta istraživanja

Grad Bor (geografske koordinate: 44°25' i 22°06') i njegova šira okolina nalaze se na istoku Srbije, u regionu Timočke krajine i od davnina su poznati po svojim rudarskim i metalurškim aktivnostima vezanim za proizvodnju važnog obojenog metala, bakra. Površina Opštine Bor, zauzima značajan prostor od oko 856 km², jer pored samog grada Bora, još 12 manjih naselja (seoskih i turističkih) doprinosi njenoj celini. U seoskim (ruralnim, R) sredinama razvijene su i pojedine poljoprivredne aktivnosti, ali slabijeg obima, kao što su gajenje domaće stoke i živine, sadnja voća i povrća, gajenje pojedinih vrsta žitarica i slično. Blizina Borskog jezera, Brestovačke banje i Lazarevog kanjona kao spomenika prirode Republike Srbije, pružila je priliku i za razvoj nekih aktivnosti turističke prirode, pre svega rekreativne, ali i zdravstvene i kulturno-obrazovne.

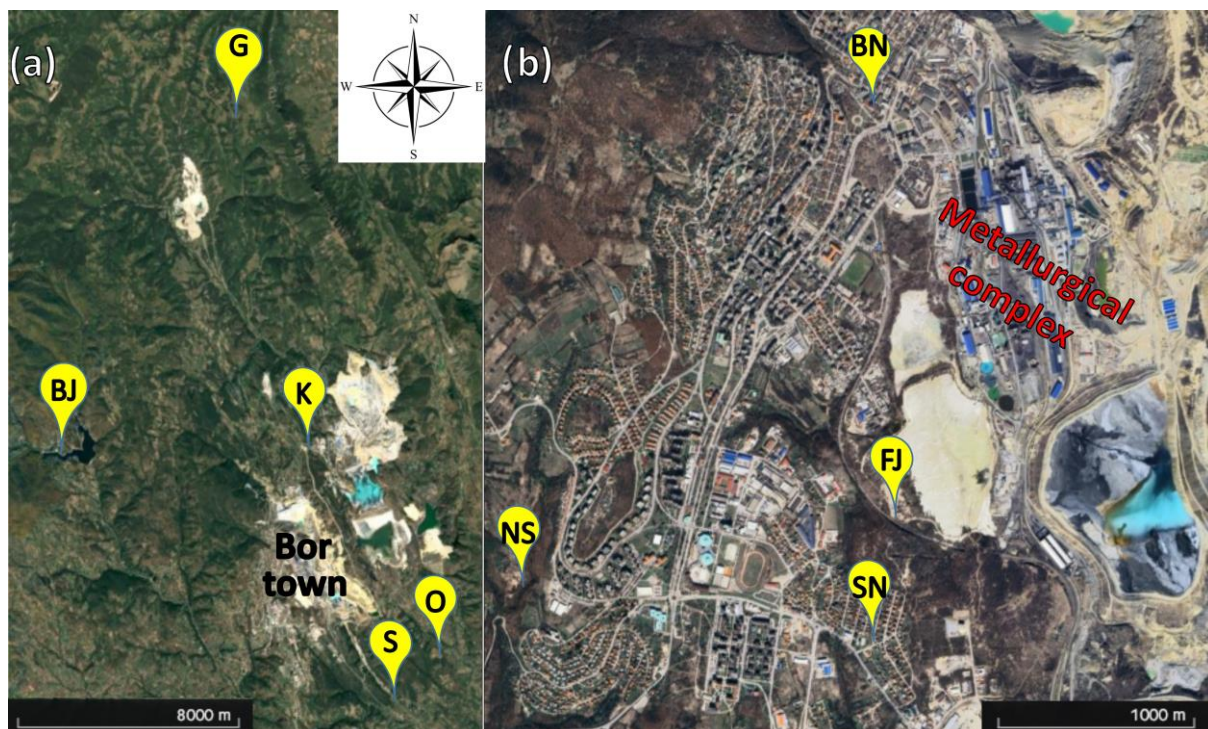
Zbog okruženosti planinama bogatim listopadnim i crnogoričnim šumama, vlažnost vazduha u Borskom regionu, često prelazi 70%, dok je nivo prosečnih godišnjih padavina oko 688 mm/m². Višegodišnji prosek godišnjih temperatura je 10,2°C, a tip klime je umereno kontinentalni (Alagić, 2022), iako je takođe neformalno primećeno da se polako pomera čak prema sredozemnom tipu, najverovatnije, zbog vladajućih globalnih klimatskih promena. U godini uzorkovanja (2020-ta), osnovni meteorološki parametri, prema godišnjem Izveštaju o ispitivanju kvaliteta ambijentalnog vazduha u Boru iznosili su: padavine – 17,14 mm/m²; srednja temperatura – 11,87°C; relativna vlažnost – 70,878% i atmosferski pritisak – 971,9 mbar. U toku meseca septembra, kada je uzorkovanje biljnog i zemljišnog materijala bilo sprovedeno, ovi parametri iznosili su kao što sledi: padavine – 2,6 mm/m²; srednja temperatura – 19,05°C; relativna vlažnost – 60,54% i atmosferski pritisak – 972,32 mbar (https://bor.rs/wp-content/uploads/2021/02/Izv.-o-kvalitetu-vazduha-u-Boru_GODISNJI_2020.pdf). Vetrovi koji su najčešći u Boru su: severo-zapadni (NW), zapadno-severo-zapadni (WNW) i zapadni (W) (Alagić, 2022), a grafički prikaz raspodele pravaca vetrova (takozvana ruža vetrova), koji su tokom 2020. godine, bili zastupljeni, dat je na Slici 35.



Slika 35. Grafički prikaz raspodele pravaca vetrova tokom 2020. godine (https://bor.rs/wp-content/uploads/2021/02/Izv.-o-kvalitetu-vazduha-u-Boru_GODISNJI_2020.pdf)

Nabrojani vetrovi raznose sve emitovane otpadne gasove, kao i prašinu sa otvorenih, površinskih kopova, ali i sa mesta odlaganja različitog otpada u odgovarajućim pravcima. Osim toga, odavno je uočeno da je, najznačajniji izvor zagađenja antropogenog porekla u celom borskom regionu ustvari rudarsko/metalurški kompleks iz industrijske zone na severoistočnoj ivici grada Bora i to pre svega u pogledu teških metala (Alagić i sar., 2019; Alagić, 2022).

Međutim, istraživači naučne zajednice grada Bora su poslednjih godina ukazali da osim zagađenja teškim metalima, ovaj kompleks može da bude izvor i nekih opasnih organskih zagađujućih materija, poput PAU i to zajedno sa gradskom toplanom koja se nalazi u njegovoj neposrednoj blizini i koja emituje sopstvene otpadne gasove zapravo udruženo sa otpadnim gasovima iz rudarsko/metalurških postrojenja (Alagić i sar., 2016, 2017). Ovo je logična posledica dugogodišnjih praksi pomenutih različitih tehnologija, uključujući i godinu uzorkovanja za konkretno ispitivanje, posebno zato što je tada toplana još uvek koristila ugalj različitog, često i lošijeg kvaliteta. Takođe, može se pretpostaviti da su drugi mogući izvori PAU u Boru i okolini sledeći: individualna kućna ložišta u samom gradu, ali i okolnim selima, a koja koriste drva, ugalj, a ponekad i lož-ulje. Takođe, tokom jeseni, u poljoprivrednim poljima R zone, kontrolisano spaljivanje strništa nije neuobičajeno. U turističkim oblastima, na pomenutim izletištim, roštiljanje je često zastupljeno tokom letnjih meseci, a takođe, tokom dugih, vrelih leta, neadekvatno odlaganje različitih vrsta otpada na gradskoj deponiji u samom Boru, često izaziva spontane, tinjajuće, masovne požare, koji zagađuju značajan deo istraživanog područja; tokom vrelih leta, nisu retki ni spontani šumski požari na teritoriji celokupne opštine. Dodatno, saobraćaj u ovoj opštini je u stalnom porastu, tako da i izduvni gasovi automobila mogu činiti značajan deo PAU emisija. Shodno navedenim činjenicama, zone (Z) od interesa u ovom ispitivanju bile su: ruralna (R), urbano/industrijska (UI) i turistička (T), a odabrane lokacije bile su na pozicijama različito udaljenim od industrijske zone (Slika 36.).



Slika 36. Mapa područja grada Bora i njegove okoline sa obeleženim ispitivanim lokacijama (Papludis i sar., 2025)

Urbano/industrijska, UI, zona obuhvatala je nekoliko delova grada Bora i oni su dalje nabrojani zajedno sa njihovim dodeljenim oznakama, kao i udaljenostima od kompleksa: 1) Flotacijsko jalovište, FJ, staro flotacijsko jalovište, danas van upotrebe – 0,7 km; 2) Bolničko naselje, BN, centralni deo grada Bora, u blizini gradske bolnice – 1,3 km; 3) Slatinsko naselje, SN, predgrađe grada, u čijoj se blizini, na lokalnom putu do seoskog naselja Oštrej, O, nalazi gradska deponija – 3,2 km; 4) Naselje Sunce, NS, stambeni deo na periferiji grada Bora – 3,6 km. Ruralna zona obuhvatala je četiri seoska lokaliteta i jedan turistički lokalitet: 5) Oštrej, O – 4,5 km; 6) Slatina, S – 6,5 km; 7) Borsko jezero, BJ, turistički lokalitet – 7 km; 8) Krivelj, K – 8 km; 9) Gornjane, G – 19 km (Slika 36.). Tačne GPS-koordinate odabranih mesta uzorkovanja ispitivanih biljnih vrsta, njihova pripadnost zoni ispitivanja, kao i udaljenost od rudarsko/metalurškog kompleksa u Boru dati su u Tabeli 6.

Tabela 6. GPS-koordinate mesta uzorkovanja ispitivanih biljnih vrsta, pripadnost zoni ispitivanja i udaljenost od rudarsko/metalurškog kompleksa u Boru

Mesto uzorkovanja / Oznaka	Udaljenost od industrijske zone (km)	Zona ispitivanja	GPS kordinate
Flotacijsko jalovište / FJ	0,7	UI	44°04'34.0"N; 22°06'19.6"E ^{a,b,c}
Bolničko naselje / BN	1,3	UI	44°04'55.3"N; 22°05'49.9"E ^{a,c} 44°04'55.4"N; 22°05'48.8"E ^b
Slatinsko naselje / SN	3,2	UI	44°03'36.4"N; 22°06'41.0"E ^{a,b} 44°03'34.3"N 22°06'41.2"E ^c
Naselje Sunce / NS	3,6	UI	44°03'24.1"N; 22°04'56.4"E ^{a,b} 44°03'28.7"N 22°05'11.0"E ^c
Oštrej / O	4,5	R	44°04'13.4"N; 22°08'52.9"E ^a 44°04'05.9"N; 22°09'40.4"E ^b 44°04'12.7"N 22°09'23.5"E ^c
Slatina / S	6,5	R	44°02'19.6"N; 22°10'18.7"E ^{a,b} 44°02'32.9"N 22°09'20.8"E ^c
Borsko jezero / BJ	7	T	44°05'30.1"N; 21°59'50.2"E ^a 44°05'30.5"N; 21°59'49.6"E ^b 44°05'31.9"N 21°59'50.1"E ^c
Krivelj / K	8	R	44°08'19.0"N; 22°05'27.2"E ^a 44°08'20.0"N; 22°05'27.7"E ^b 44°07'43.0"N 22°05'44.2"E ^c
Gornjane / G	19	R	44°12'57.1"N; 22°03'58.4"E ^a 44°13'12.1"N; 22°03'30.8"E ^b 44°14'33.3"N 22°02'02.6"E ^c

^a - jorgovan; ^b - smokva; ^c – bršljan; UI – urbano-industrijska zona; R – ruralna zona; T – turistička zona

S obzirom na složenu situaciju zagađenja u Boru i okolini i radi što kvalitetnijeg rešavanja nagomilanih, dugogodišnjih ekoloških problema, Opština Bor i rudarsko-metalurški kompleks su od 2009. godine, preduzeli prve značajne korake u zameni zastarele, pirometalurške metodologije prerade ruda bakra, najmodernijim procesom takozvanog brzog autogenog topljenja (eng. *flash smelting technology*), tako da je već 2016. godine stara tehnologija bila zamenjena novom, "flash" tehnologijom topljenja (u okolnoj životnoj sredini prouzrokuje samo minimalne negativne efekte). Poslednjih godina radilo se i na uvođenju dodatnih unapređenja vezanih za bezbednost ove tehnologije, tako da, među lokalnom populacijom, postoji očekivanje da će ova unapređenja obezbediti mnogo bolji kvalitet života i pokazati se kao najadekvatnije solucije za konkretne ekološke probleme, pre svega vezane za zagađenja teškim metalima (Alagić i sar., 2019; Alagić, 2022). Međutim, kada su u pitanju PAU, kao opasni mikro-polutanti, jedini značajniji pomak u ispitivanom području postignut je promenom goriva u gradskoj toplani (prirodni gas umesto uglja), dok se za ostale nabrojane izvore ne može reći da su pretrpeli neke veće i korisne promene.

Za monitoring kvaliteta vazduha u Boru i okolini, koji se godinama izvodi i stacionarnim i mobilnim mernim stanicama tj. sistemima, zvanično je zadužena Opština Bor i Institut za rudarstvo i metalurgiju u Boru i pre svega se odnosi na praćenje koncentracija sumpor-dioksida, čađi, suspendovanih čestica i taložnih materija (sa teškim metalima sadržanim u njima), dok se koncentracije PAU prate samo kroz prisustvo BaP-a (kao glavnog indikatora zagađenja vazduha) u suspendovanim česticama (PM₁₀) i to samo na jednom mernom mestu: Jugopetrol (benzinska stanica u centru grada) (https://bor.rs/wp-content/uploads/2021/02/Izv.-o-kvalitetu-vazduha-u-Boru_GODISNJI_2020.pdf). Nažalost, mesto Jugopetrol nije moglo biti sagledano kroz ovu doktorsku disertaciju iz jednostavnog razloga što na ovoj lokaciji nije bio pronađen nijedan primerak odabranih biljnih vrsta. Inače, prema Izveštaju o kvalitetu ambijentalnog vazduha na borskom području za 2020-tu godinu, srednja godišnja vrednost koncentracije za BaP u suspendovanim česticama PM₁₀, na mernom mestu Jugopetrol, iznosila je 0,44 ng/m³ (https://bor.rs/wp-content/uploads/2021/02/Izv.-o-kvalitetu-vazduha-u-Boru_GODISNJI_2020.pdf), što je vrednost koja ne prelazi maksimalno dozvoljene koncentracije za BaP u vazduhu (1 ng/m³, Alagić i sar., 2015).

Sve ove okolnosti su, tokom decenija rudarenja i prerade bakra, uticale na kvalitet životne sredine i živog sveta Borskog regiona. Kvalitet zemljišta, vode i vazduha ove sredine je ozbiljno degradiran, a naročito je ugrožen opstanak živog sveta. Ipak, s obzirom da svi živi organizmi, pa čak i biljke poseduju brojne mehanizme detoksifikacije u odnosu na neorganske, ali i organske zagađujuće materije, raznovrsni predstavnici lokalne vegetacije i dalje preživljavaju i opstaju u agresivnim uslovima. Među njima, jorgovan (SV), smokva (FC) i bršljan (HH) bili su uočeni na više mesta u Boru i okolini, kao male populacije od svega nekoliko primeraka po lokaciji, ali sa zdravim spoljašnjim izgledom i bez ikakvih vidljivih fitotoksičnih simptoma.

Upravo ove uočene karakteristike sve tri biljne vrste predstavljale su prve signale njihovih finih, prirodnih, potencijala za uspešnu adaptaciju na prisutno neprijateljsko okruženje, što je u suštini predstavljalo i obećavajući početak za dalja istraživanja njihovih autentičnih, praktičnih, fitomonitoring i fitoremedijacionih potencijala, ali i njihovu eventualnu opštu primenu u obnavljanju zelenila, ne samo na konkretnom lokalnom, već i na generalnom nivou.

4.2. Opis ispitivanih biljnih vrsta

Kao što je već istaknuto, tri višegodišnje biljne vrste, pripadajuće različitim familijama (Tabela 7.): jorgovan (*Syringa vulgaris* L.), smokva (*Ficus carica* L.) sorta crna Petrovača i bršljan (*Hedera helix* L.), koje su bile pronađene na svim opisanim lokacijama, iskorišćene su u svrhe određivanja njihovih autentičnih fitomonitoring i fitoremedijacionih potencijala vezanih za PAU, a posebno iz razloga što je pregled stručne i naučne literature pokazao da su odabrane vrste potpuno neistražene u ovom pogledu.

Tabela 7. Taksonomska pripadnost odabranih biljnih vrsta

Taksonomija (Sistematika) / Biljna vrsta	Jorgovan ^a	Smokva ^b	Bršljan ^c
Carstvo	Plantae	Plantae	Plantae
Red	Lamiales	Rosales	Apiales
Porodica (Familija)	Oleaceae	Moraceae	Araliaceae
Rod	<i>Syringa</i>	<i>Ficus</i>	<i>Hedera</i>
Vrsta	<i>Syringa vulgaris</i>	<i>Ficus carica</i>	<i>Hedera helix</i>

a - <https://www.plantea.com.hr/jorgovan/>; b - <https://www.plantea.com.hr/smokva/>; c - <https://www.plantea.com.hr/brsljan/>

Bršljan (*Hedera helix* L.) (Slika 37a) i 37b)) je zimzelena puzavica iz porodice istog imena, tj., bršljana (Araliaceae). U našoj zemlji je dosta rasprostranjena. Gaji se u saksijama, kao i u vrtovima. Često se može naći u šumama, kao prirodno rastuća. Prečnik drvenstog stabla može dostići debljinu od 15-20 cm, a visinu i do 30 m. Bršljan može da se penje po stablima, stenama i zidovima zahvaljujući svom adventivnom - vazdušnom korenju. Pomoću mnogobrojnog sitnog korenja bršljan se pričvršćuje za stabla i objekte. Ima plitak i razgranat korenov sistem. Mladi korenčići su dlakavi, kasnije ogole. Listovi su spiralno (naizmenično) raspoređeni. Na licu su tamnozeleni i sjajni sa belim izraženim žilama, dok su na naličju bledozeleni do žućkastozeleni. Kod bršljana postoje dve vrste listova. Na priljubljenim izdancima listovi su petokraki, a na uspravnim koji nose cvetove i plodove, oni su jajastog oblika. Cvetovi su sitni, dvopolni, žućkastozeleni, skupljeni u štitaste cvasti. Plod je okrugla bobica tamnoplave boje, prečnika 5 mm, koja sadrži 3-4 semenke. Sazrevanje plodova obično se odvija od marta do aprila (ponekad do juna). Ova vrsta raste sporo, ali je dugovečna. Obično cveta u jesen, a period cvetanja traje od septembra do oktobra-novembra. Ova biljka je za ljude blago otrovna (<https://www.enciklopedija.hr/clanak/brsljan>; <https://www.plantea.com.hr/brsljan>; <https://srpskaenciklopedija.rs/books/slovo-b/page/brsljan>; <https://onlineherbar.bio.bg.ac.rs/081.html>).



a) <https://www.agroTV.net/brsljan-hedera-helix/>



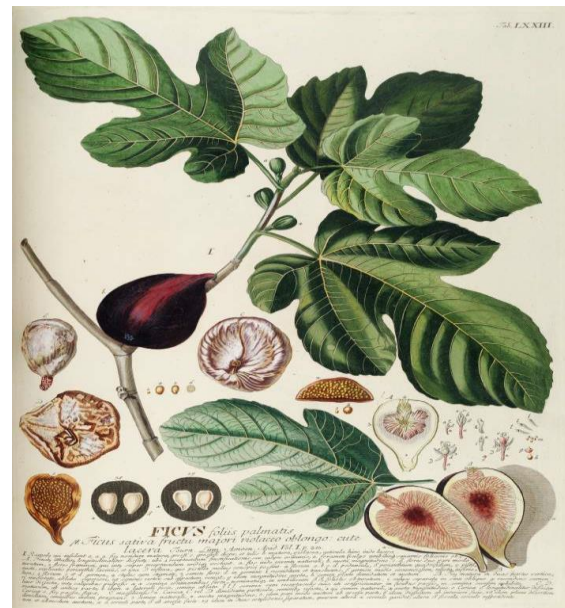
b) <https://www.alphaHerbalConcept.com/brsljan/>

Slika 37. Bršljan (*Hedera helix* L.), fotografija, a) i slika iz botaničkog atlasa, b)

Smokva (*Ficus carica* L.) (Slika 38a) i 38b)) je biljna vrsta iz porodice dudova (Moraceae), nisko drvo visine do 10 m, koje se može gajiti i kao ukrasna biljka, ali je prvenstveno poznato kao gajena sorta sa jestivim plodovima. Iz mlečnog soka nekih vrsta iz ove porodice, dobija se gumasta materija. Takođe, mlečni sok smokava sadrži ficin, najstariji poznati enzim koji se koristi u proizvodnji sira. Plodovi smokve jedu se sveži i sušeni, a mogu se preraditi i u džem, rakiju i zamenu za kafu. Imaju laksativno dejstvo. Prema boji plodova, sorte smokvi se mogu podeliti na bele i crne (<https://www.enciklopedija.hr/clanak/smokva>). U ovom istraživanju, ispitivana je smokva tamnog (crnog) ploda, poznata kao „crna Petrovača“.



a) https://vivaimdb.it/products/ficus-carica-fico-da-frutto-vaso-18-cm?srsId=AfmBOoobmw2k7bu5SnSMNTm1uLOhstl_rfI3fuNjRk1JNHPBcT0lwix



b) <https://sr.wikipedia.org/el/%D0%A1%D0%BC%D0%BE%D0%BA%D0%B2%D0%B0#>

Slika 38. Smokva (*Ficus carica* L.), sorta crna Petrovača, fotografija, a) i slika iz botaničkog atlasa, b)

Jorgovan (*Syringa vulgaris* L.) (Slika 39a) i 39b)), pripada grupi žbunova, ili manjih stabala iz porodice maslina (Oleaceae), koji se uglavnom gaje kao ukrasni žbunovi. S obzirom na to da svi njihovi delovi imaju gorak ukus, plodovi i kora su se često koristili u tradicionalnoj medicini za lečenje malarije i različitih oboljenja organa za varenje; ova vrsta se odlikuje celovitim listovima i ljubičastim, crvenim, ili belim mirisnim cvetovima raspoređenim u grozdovima (<https://www.enciklopedija.hr/clanak/jorgovan>). U ovom istraživanju uzorkovane su samo biljke sa ljubičastim cvetovima.



a) <https://www.plantea.com.hr/jorgovan/>



b)

https://hr.wikipedia.org/wiki/Obi%C4%8Dni_jorgovan#/media/Datoteka:Syringa_vulgaris1.jpg

Slika 39. Jorgovan (*Syringa vulgaris* L.), fotografija, a) i slika iz botaničkog atlasa, b)

4.3. Uzorkovanje i preliminarna priprema biljnog i zemljišnog materijala

Uzorkovanje nadzemnih delova, korenja, kao i odgovarajućeg zemljišta (iz korenskih zona) odabranih biljnih vrsta: SV, FC i HH, obavljeno je u svim ispitivanim zonama borskog regiona: UIZ, RZ, i TZ, gde su vrste SV i FC bile nađene kao zasađene u privatnim dvorištima. Jedino su u slučaju lokacije FJ, pomenute vrste nađene kao spontano rastuće. Kao spontano rastuća biljka, bio je nađen i bršljan i to na svim odabranim lokacijama. Uzorci biljnog i zemljišnog materijala SV, FC i HH (oko 1 kg od svakog biljnog dela, kao i zemljišta) prikupljeni su tokom septembra 2020. godine. Korenje i zemljište (iz odgovarajućih korenskih zona, na dubini od oko 30 cm), uzorkovani su korišćenjem alata od nerđajućeg čelika. Na svakoj lokaciji, uzorci biljnog i zemljišnog materijala uzeti su sa po 5 pojedinačnih biljaka od svake ispitivane biljne vrste, osim na lokaciji FJ gde je bilo pronađeno po 3 primerka od svake biljne vrste. Inicijalno prikupljeni biljni i zemljišni materijal sa pojedinačnih primeraka svake vrste je kasnije spojen na odgovarajući način, kako bi se dobio reprezentativni uzorak za svaki ispitivani biljni deo ili zemljište, sa svake odabrane lokacije. Prikupljeni uzorci stavljeni su u aluminijumske kese i transportovani u laboratoriju radi dalju obrade. Uzorci korenja su prvo bili razdvojeni na bazno (krupno) i fino korenje koje je bilo odbačeno, tj., nije bilo podvrgnuto analizi. Krupno korenje je zatim pažljivo očišćeno uklanjanjem čestica zemlje sa njegove površine, a zatim i dodatnim šmirglanjem finim abrazivnim papirom; na kraju, korenje je isprano vodom sa česme i destilovanom vodom, sve u cilju omogućavanja detekcije jedne istinske bioakumulacije PAU unutar korenskog tkiva. Istovremeno, u cilju dobijanja najtačnijeg profila atmosferskog PAU zagađenja, nadzemni delovi, tj. uzorkovano lišće i grančice (dužine 20-30 cm) SV i FC, a lišće i puzeće stablo HH (iste dužine od 20-30 cm), ostavljeni su za dalju analizu kao neoprani. Svi uzorci biljnih delova, ali i zemljišta, osušeni su na vazduhu, u toku različitih vremenskih perioda, za svaku vrstu uzorkovanog materijala, ali svakako do postizanja konstantne mase. Sušenje je bilo obavljeno u izolovanoj, tamnoj i hladnoj prostoriji, kako bi uzorci bili zaštićeni od neželjenog gubitka/isparavanja PAU i takođe, od bilo kakve dodatne kontaminacije. Nakon sušenja, biljni uzorci su homogenizovani u vibracionom mlinu sa diskovima (Retch Vibratory Disc Mills RS 200), dok su uzorci zemljišta bili prosejani kroz sito od nerđajućeg čelika (2 mm). Pre narednih koraka: ekstrakcije, prečišćavanja i analize GC/MS metodom, svi ispitani uzorci su stavljeni u zatvorene papirne kese i čuvani u frižideru, na 4°C.

4.3.1. Mereni zemljišni parametri

Svi izmereni parametri zemljišta (pH vrednost; sadržaj organske materije i električna provodljivost) dati su u Tabeli 8. pH vrednost i EC ($\mu\text{S}/\text{cm}$) uzoraka zemljišta (u odnosu: čvrsta materija:destilovana voda = 1:2,5 w/v) mereni su pomoću pH metra CyberScan pH 510 Eutech (NL) i konduktometra 4510 Jenway (UK). Sadržaj organske materije u zemljištu određen je metodom gubitka tokom spaljivanja u laboratorijskoj peći, na 550°C (Jolivet i sar., 1998).

Na osnovu izvedenih merenja, ustanovljeno je da je većina uzoraka zemljišta bila sa neutralnim do slabo-alkalnim pH vrednostima, pri čemu je najniža vrednost od 5,36 bila zabeležena kod HH na mestu FJ (jako kiselo zemljište), a najviša kod FC, na mestu O: 7,77 (slabo-alkalno zemljište). Sadržaj OM kretao se od veoma niskih 4,27% kod HH na mestu S, do 14,28% na istom mestu, ali kod zemljišta biljke FC. Vrednosti EC, bile su u opsegu od 196 $\mu\text{S}/\text{cm}$ kod FC na mestu NS do visokih 3260 $\mu\text{S}/\text{cm}$ kod HH na mestu FJ.

Tabela 8. Mereni zemljišni parametri

Lokacija	Parametri zemljišta za HH			Parametri zemljišta za SV*			Parametri zemljišta za FC*		
	pH vrednost	EC ($\mu\text{S/cm}$)	OM (%)	pH vrednost	EC ($\mu\text{S/cm}$)	OM (%)	pH vrednost	EC ($\mu\text{S/cm}$)	OM (%)
FJ	5,36	3260	8,96	7,02	566	7,04	7,12	824	8,00
BN	7,38	797	9,28	7,37	850	8,27	7,53	588	7,07
SN	7,58	439	8,99	7,45	386	7,94	7,27	504	8,30
NS	7,49	409	6,94	7,45	549	8,28	7,39	196	9,29
O	7,45	423	7,31	7,08	351	7,00	7,77	362	5,98
S	6,47	428	4,27	6,46	267	8,73	7,45	982	14,28
BJ	7,26	347	6,08	7,37	508	9,45	7,06	284	10,56
K	7,46	819	9,63	7,39	518	5,78	7,67	378	7,57
G	7,14	694	10,19	6,55	240	5,42	7,05	392	6,87

* - Papludis i sar. (2025)

4.4. Izolovanje i instrumentalna analiza PAU iz biljnog i zemljišnog materijala sa obezbeđenjem i kontrolom kvaliteta

4.4.1. Korišćeni reagensi

U radu su korišćeni sledeći reagensi i hemikalije: 1) PAH Kit 601-N koji sadrži Ace, Acy, Ant, BaA, BaP, BbF, BkF, BgP, CHR, DhA, Flt, Flr, IcP, Nap, Phe i Pyr kao čvrste supstance (Supelco, Bellefonte, Pensilvanija), 2) Unutrašnji standardi acenaften d_{10} i perilen d_{12} (Supelco, Bellefonte, Pensilvanija), 3) Surogat standard koji sadrži 2-fluorobifenil, p-terfenil- d_{14} i 2,4,6-tribromfenol (Supelco, Bellefonte, Pensilvanija), 4) Acetonitril, HPLC čistoće (Sigma Aldrich, Nemačka), 5) n-Heksan, HPLC čistoće (VWR International S.A.S, Francuska), 6) Cikloheksan, HPLC čistoće (Sigma Aldrich, Nemačka), 7) Dihlor-metan, HPLC čistoće (Sigma Aldrich, Nemačka), 8) Aceton, HPLC čistoće (Merck, Darmstadt, Nemačka), 9) Primarni-sekundarni amin, PSA (United Chemical Technologies UCT, Horsham, Pensilvanija), 10) Dijatomejska zemlja (Sigma Aldrich, Nemačka), 11) MgSO_4 (Sigma Aldrich, Nemačka), 12) NaCl (Sigma Aldrich, Nemačka) i 13) Dejonizovana voda specifične provodljivosti $0,05 \mu\text{S/cm}$.

4.4.2. Procedura pripremanja standardnih rastvora PAU

Standardni rastvori unutrašnjih standarda koji sadrže: perilen d_{12} ($80 \mu\text{g/mL}$) i acenaften d_{10} ($80 \mu\text{g/mL}$), kao i rastvor surogat standarda (2-fluorobifenil, p-terfenil- d_{14} i 2,4,6-tribromfenol, svaki u koncentraciji od $100 \mu\text{g/mL}$) su pripremljeni u dihlor-metanu. Unutrašnji standardi se dodaju u uzorke kako bi na osnovu poređenja površina njihovih pikova i pikova analita mogla odrediti koncentracija pojedinih analita u uzorku, dok se surogat standard dodaje u uzorke kako bi se pratila efikasnost ekstrakcije.

Standardni rastvor koji sadrži 16 policikličnih aromatičnih ugljovodonika u koncentraciji $100 \mu\text{g/L}$ za svaku komponentu, pripremljen je rastvaranjem čvrstih supstanci u smesi cikloheksan/acetona (1:1, v/v). Nakon toga ovaj rastvor je razblažen tako da je koncentracija svakog od PAU iznosila $25 \mu\text{g/L}$. Ovako pripremljeni rastvori korišćeni su za konstruisanje kalibracione prave. Za izradu kalibracionih prava, pripremljena je serija rastvora (razblaživanjem standardnog rastvora) u opsegu od $0,0167$ do $16,6667 \mu\text{g/mL}$ za svako PAU jedinjenje. U Tabeli 9. dati su i podaci za pripremu serije rastvora PAU, kao i koncentracije pojedinačnih PAU koji su korišćeni za konstruisanje kalibracione prave.

Tabela 9. Podaci za pripremu serije rastvora PAU, kao i koncentracije pojedinačnih PAU koji su korišćeni za konstruisanje kalibracione prave

Redni broj kalibracionog standarda	Zapremina rastvora 16 PAU (μL)	Zapremina smese rastvarača cikloheksan/acetona (μL)	Pojedinačna koncentracija PAU u viali ($\mu\text{g/mL}$)
1	1	999	0,0167
2	5	995	0,0833
3	10	990	0,1667
4	25	975	0,4167
5	50	950	0,8333
6	100	900	1,6667
7	200	800	3,3333
8	500	500	8,3333
9	750	250	12,5000
10	1000	0	16,6667

Svi korišćeni standardi čuvani su u frižideru, na 4°C, u tamnim staklenim bocama sa šlifovanim zatvaračima, u propisanom vremenskom periodu.

4.4.3. Modifikacija i optimizacija postupka QuEChERS tehnike za izolovanje PAU

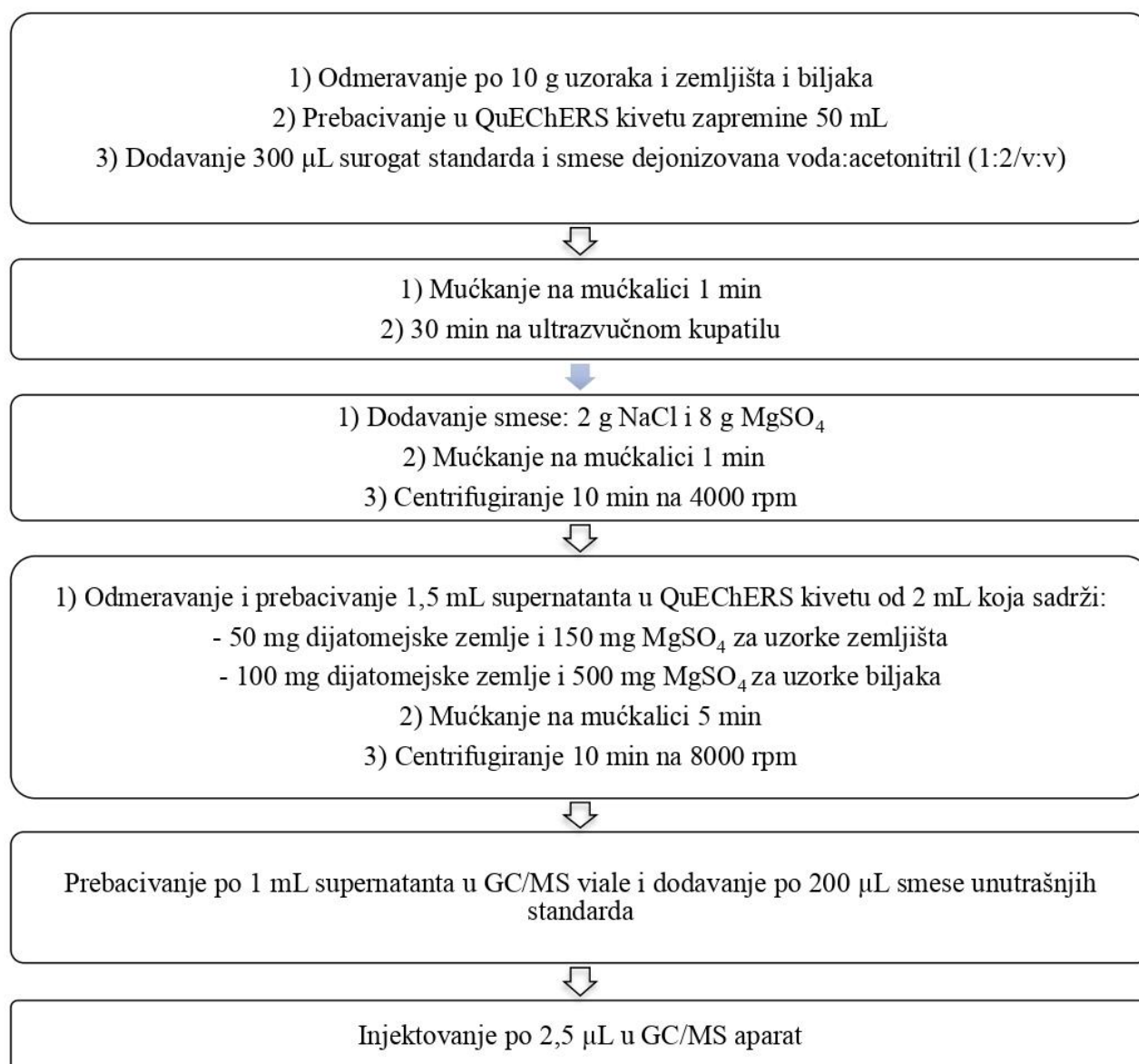
Ekstrakcija PAU iz prikupljenih uzoraka zemljišta i biljnih delova, sprovedena je korišćenjem QuEChERS tehnike kao relativno nove metode u analizi PAU. Njena efikasnost potvrđena je u brojnim studijama životne sredine, uključujući i ispitivanje fitoremedijacionih i fitomonitoring potencijala divlje kupine sa područja opštine Bor (Alagić i sar., 2016; 2017). Međutim, u odnosu na pomenute studije, u ovoj doktorskoj disertaciji, primenjene su izvesne modifikacije prethodnih verzija QuEChERS tehnike i one se odnose na različite količine korišćenih reagensa, ali najvažnije - umesto PSA (koji se obično koristi kao sorbent u drugom koraku, tj. u fazi prečišćavanja ekstrakcijom disperznom čvrstom fazom), korišćena je dijatomejska zemlja. Kao što je ranije naglašeno, u suštini, najvažniju modifikaciju u pomenutim izmenama, predstavlja prva upotreba dijatomejske zemlje u koraku prečišćavanju biljnog materijala tokom analize PAU.

Kako bi se izvršila validacija ovako modifikovane metode, uzorci zemljišta i biljaka sakupljeni u nezagađenom području, sa verifikovanim odsustvom PAU, obogaćeni su pripremljenim standardnim rastvorom PAU jedinjenja (takozvano "spajkovanje"). Uzorci su "spajkovani", tako da su koncentracije 16 prioriternih jedinjenja PAU iznosile su: 5,0; 0,5 i 0,05 $\mu\text{g/g}$ (i za uzorke zemljišta i za uzorke biljaka). Nakon dodatka standardnog rastvora PAU, uzorci su ostavljeni da odstoje 12 sati pre ekstrakcije.

Model uzorci zemljišta i biljnog materijala, po 10 g od svakog, bilo je odmereno u QuEChERS-kivete od 50 mL u koje je zatim bilo dodato 300 μL surogat standarda. Nakon toga, dodato je i 30 mL smese voda/acetoni-tril (u odnosu: 1:2, v/v). Mešanje u ovim kivetama sa uzorcima trajalo je 1 min, a ekstrakovanje u ultrazvučnom kupatilu - 30 min. Zatim je u svaku kivetu dodato i po 2 g NaCl i 8 g MgSO₄; mešanje novodobijenih smesa trajalo je oko 1 min, a zatim je sledilo centrifugiranje na 4000 obrtaja u minutu (rpm), tokom 10 min. U koraku prečišćavanja ekstrakcijom disperznom čvrstom fazom, za uzorke zemljišta, alikvot supernatanta (1,5 mL), bio je prebačen u kivete zapremine 2 mL, koje su sadržale 50 mg dijatomejske zemlje i 150 mg MgSO₄; za biljne uzorke, ovaj korak izveden je korišćenjem 100 mg dijatomejske zemlje i 500 mg MgSO₄. Nakon 5 min mućkanja, kivete su centrifugirane na 8000 rpm i to tokom 10 min. Supernatanti zapremine od po 1 mL bili su prebačeni u viala radi dalje analize.

Nakon dodatka 200 μL unutrašnjeg standarda (perilen d₁₂ i acenaften d₁₀ u koncentraciji: 80 $\mu\text{g/mL}$, svaki), pristupilo se izvođenju GC/MS analize, gde su svi uzorci bili pripremljeni u tri ponavljanja.

Priprema uzoraka zemljišta i biljaka (pre svega) za analizu PAU iz odabrane oblasti Bora i okoline, urađena je na isti način kao i za model uzorke, a prikazana je u shemi na Slici 40.



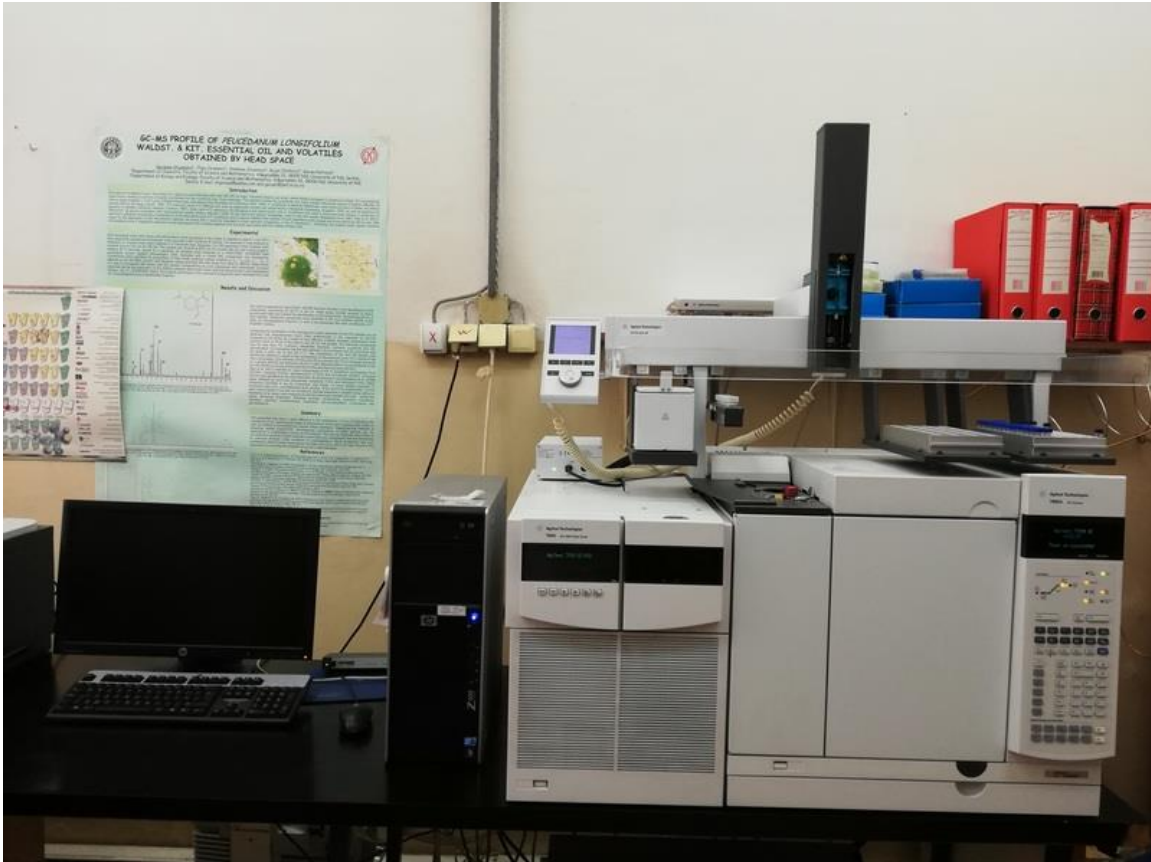
Slika 40. Shema modifikovane QuEChERS tehnike (Autor: Aleksandra Papludis, po uzoru na [Nikolić \(2018\)](#))

4.4.3.1. Procedura GC/MS analize

Svi pripremljeni ekstrakti analizirani su na 7890/7000B GC/MS/MS tripl-kvadrupol uređaju (Slika 41.), opremljenom Combi PAL automatskim uzorkivačem (Agilent Technologies, Santa Klara, Kalifornija, SAD) i HP-5MS kapilarnom kolonom (5% fenilmetil-siloksan, dimenzije: 30 m x 0,25 mm, debljina filma 0,25 µm).

Snimanje je prvo izvršeno u SCAN modu, sa ciljem određivanja retencionih vremena i karakterističnih jona, koji su bili upotrebljeni za analizu odgovarajućih jedinjenja. Temperaturni režim bio je sledeći: izotermiski na 75°C prva 3 min, a zatim linearni porast temperature do 280°C (gradijentom od 6°C/min), a zatim izotermiski na 280°C poslednjih 20 min. Injektovana zapremina

uzorka iznosila je 1 μL , u takozvanom "split" modu (10:1). Kao noseći gas korišćen je helijum sa protokom od 1,0 mL/min. Ionizacioni potencijal izvora bio je podešen na -70 eV sa masenim skeniranjem u rasponu 40-650 amu.



Slika 41. 7890/7000B GC/MS/MS tripl-kvadrupol uređaj u laboratoriji za organsku hemiju Prirodno-matematičkog fakulteta u Nišu (Autor: Aleksandra Papludis)

Nakon određivanja retencionih vremena eluiranih jedinjenja PAU i identifikacije jona pogodnih za kvantifikaciju, snimanje je nastavljeno u SIM (eng. *Single Ion Monitoring*) modu. Ovaj režim je bio primenjen jer je prinos (eng. *recovery*) fragmentacionih jona u režimu praćenja višestrukih reakcija (eng. *Multiple Reaction Monitoring*, MRM) generalno nizak zbog stabilnosti konjugovanog sistema analiziranih PAU. Temperaturni režim bio je sledeći: izotermiski na 75°C tokom prva 3 min, zatim linearno povećanje temperature sve do 300°C (gradijentom od 6°C/min) i na kraju izotermiski na 300°C tokom poslednjih 10 min. Ukupno vreme analize iznosilo je 50,5 min. Zapremina injektovanog uzorka bila je 2,5 μL i to u takozvanom "splitless" modu. Kao noseći gas korišćen je helijum sa brzinom protoka od 1,0 mL/min. Ionizacioni potencijal izvora bio je podešen na -70 eV.

Kvantitativne i kvalitativne analize izvršene su na osnovu odgovarajućih jona kvantifikatora, kao i retencionih vremena datih u Tabeli 10., korišćenjem softverskog programa za kvantitativnu analizu: Mass Hunter QQQ Quantitative Analysis B.05.02/Build 5.2.365.0 (Agilent Technologies, SAD). Primenjeni instrumentalni uslovi odabrani su u cilju obezbeđenja najboljeg razdvajanja svih ispitivanih jedinjenja; jedino kod BkF i BbF, razdvajanje nije bilo na odgovarajućem nivou, tako da su, u ovom slučaju, rezultati prikazani zbirno, kao: BkF+BbF.

Tabela 10. Retenciona vremena i korespondentni joni za analizirana jedinjenja PAU (Papludis i sar., 2025)

Jedinjenje	Rt (min)	Kvantifikacioni jon (m/z)
Nap	11,792	128,0
Acy	17,721	152,0
Ace	18,460	153,0
Flr	20,380	166,0
Phe	24,000	178,0
Ant	24,177	178,0
Flt	28,575	202,0
Pyr	29,383	202,0
CHR	34,072	228,0
BaA	34,238	228,0
BbF + BkF	38,103	253,0
BaP	39,039	253,0
IcP	42,760	277,0
DhA	42,878	279,0
BgP	43,637	276,0

Rt — retenciono vreme

4.5. Procesuiranje rezultata dobijenih hemijskom analizom

Radi proučavanja postojećih odnosa i uticaja između pojedinih ispitivanih varijabli, kao što su detektovani sadržaji 16 PAU u biljnim delovima i zemljištu SV, FC i HH, uključujući i izmerene parametre zemljišta: pH vrednost, EC i OM, primenjena je statistička metoda Pearson-ove korelacione analize, tj. studije (PCS). Ista metoda korišćena je za analizu sadržaja pojedinačnih jedinjenja PAU u odnosu na udaljenost odabranih lokacija od industrijsko/metalurškog kompleksa, u cilju identifikacije ovog kompleksa kao mogućeg glavnog izvora PAU zagađenja u region od interesa (Alagić i sar., 2016, 2017; Miler i Miler, 2005; Papludis i sar., 2025).

Hijerarhijska klaster analiza (HCA) sprovedena je u svrhe fitomonitoringa, tj. da bi se prikazala klasifikacija ispitivanih zagađenih lokacija prema njihovim sličnostima. U tom smislu, HCA je sprovedena korišćenjem Ward-ove metode povezivanja, sa kvadratom Euclidean-udaljenosti, kao mernim intervalom (Alagić i sar., 2016, 2017; Miler i Miler, 2005; Papludis i sar., 2025).

Za sve statističke metode korišćen je IBM SPSS Statistics 20 softver verzije 20 (SAD) (Papludis i sar., 2025).

Stope akumulacije pojedinačnih jedinjenja PAU u korenju SV, FC i HH, izražene su pomoću biokoncentracionog faktora (BCF), koji se uobičajeno koristi za prikaz odnosa koncentracije polutanta u određenom delu biljke u odnosu na njegovu koncentraciju u okolnom zemljištu (iz korenske zone). U ovom radu BCF se jednostavno računao korišćenjem sledećeg obrasca, tj. po formuli (1.): $BCF = C_{root}/C_{soil}$ (gde je: C_{root} - koncentracija jedinjenja u korenu, a C_{soil} - njegova koncentracija u zemljištu). Dobra sposobnost korena ispitivane biljke za akumulaciju pojedinačnih jedinjenja PAU karakteriše se vrednošću odgovarajućeg BCF većom od 1, što u osnovi ukazuje na njen dobar potencijal za primenu u fitoremedijaciji, preciznije – fitostabilizaciji (Alagić i sar., 2016, 2017; Papludis i sar., 2025).

5. Rezultati i diskusija

5.1. Rezultati optimizacije modifikovane QuEChERS tehnike za izolovanje PAU iz biljnih i zemljišnih uzoraka

Parametri validacije modifikovane QuEChERS tehnike, kao važni rezultati, ali i originalni doprinos ove doktorske disertacije u odnosu na obezbeđenje kvaliteta i tačnosti kvalitativne i kvantitativne detekcije jedinjenja PAU iz zemljišnih i biljnih (pre svega) uzoraka, prikazani su u Tabeli 11.

Tabela 11. Retenciona vremena, korespondentni joni i parametri validacije metode za analizirane PAU (Papludis i sar., 2025)

Jedinjenje	Rt* (min)	Kvantifikacioni jon** (m/z)	LOD (µg/kg)	LOQ (µg/kg)	Jednačina kalibracione prave	Koeficijent korelacije	Recovery _z (%)	Recovery _b (%)	RSD _z (%)	RSD _b (%)
Nap	11,792	128,0	0,78	2,60	y=0,0343x	0,99	113	102	10,8	5,6
Acy	17,721	152,0	0,29	0,96	y=0,0056x	0,99	100	99	6,37	4,17
Ace	18,460	153,0	0,19	0,65	y = 0,0627x	0,99	94	110	2,74	5,37
Flr	20,380	166,0	0,48	1,60	y = 0,004x	0,99	95	88	7,38	6,74
Phe	24,000	178,0	1,50	5,00	y = 0,298x	0,99	96	95	9,11	7,44
Ant	24,177	178,0	0,39	1,30	y = 0,109x	0,98	100	111	4,79	9,54
Flt	28,575	202,0	0,51	1,70	y = 0,069x	0,98	96	93	6,34	7,45
Pyr	29,383	202,0	0,60	2,00	y = 0,104x	0,99	96	89	4,76	6,54
CHR	34,072	228,0	1,02	3,40	y = 0,053x	0,98	116	106	4,97	5,42
BaA	34,238	228,0	0,50	1,67	y = 0,029x	0,99	112	95	7,98	8,42
BbF + BkF	38,103	253,0	0,05	0,18	y = 1,495x	0,99	91	98	3,87	2,97
BaP	39,039	253,0	0,60	2,00	y = 0,0225x	0,99	92	98	6,54	5,56
IcP	42,760	277,0	0,63	2,10	y = 0,076x	0,99	99	84	4,79	5,45
DhA	42,878	279,0	1,17	3,90	y = 0,0037x	0,99	90	107	7,86	5,87
BgP	43,637	276,0	0,90	2,00	y = 0,626x	0,99	96	100	8,93	6,87

Rt* — retenciona vremena iz Tabele 10.; Kvantifikacioni jon** - kvantifikacioni joni iz Tabele 10.; LOD — granica detekcije; LOQ — granica kvantifikacije; Recovery_z — prinos za uzorke zemljišta; Recovery_b — prinos za uzorke biljaka; RSD_z — relativna standardna devijacija za uzorke zemljišta; RSD_b — relativna standardna devijacija za uzorke biljaka

Kalibracione prave za 16 analiziranih komponenti konstruisane su snimanjem serija standardnih rastvora PAU jedinjenja u opsegu koncentracija od 0,017–16,667 µg/mL; one su bile konstruisane na bazi osam različitih koncentracija PAU. Linearna zavisnost između odnosa površina pikova i koncentracija PAU bila je primetna. U svim slučajevima, koeficijent korelacije iznosio je 0,99, osim za Ant, Flt i CHR kod kojih je iznosio 0,98.

Kako bi se izračunala koncentracija svakog pojedinačnog jedinjenja PAU (poređenjem površina pikova unutrašnjeg standarda i svakog PAU jedinjenja), pre GC/MS analize, rastvor unutrašnjih standarda (perilen d₁₂ i acenaften d₁₀) dodat je u svaku vialu. Takođe, radi praćenja efikasnosti samog procesa ekstrakcije, rastvor surogat standarda (2-fluorobifenil, p-terfenil-d₁₄ i 2,4,6-tribromofenol) dodat je svakom uzorku pre ekstrakcije. U eksperimentima optimizacije metode, uzorci zemljišta sa nezagađenog područja korišćeni su za pripremu slepih ("blank") i "spajkovanih" uzoraka. Pre "spajkovanja", odsustvo pojedinih PAU jedinjenja od interesa, bilo je verifikovano analizom uzorka zemljišta primenom standardne EAHO (2003) procedure.

Kako bi se sprečio efekat matriksa na pozicije pikova u hromatogramu, svi "spajkovani", kao i uzorci slepe probe bili su analizirani pod istim uslovima (Thompson i sar., 2002). GC/MS

analiza biljnih i zemljišnih uzoraka sa nezagađenog područja (slepe probe), prethodno tretiranih opisanom QuEChERS procedurom, pokazala je odsustvo bilo kakvih potencijalnih interferenci sa pikovima ciljanih analita, kao i sa pikovima surogat i unutrašnjih standarda u odgovarajućem hromatogramu.

Limit, tj., granica detekcije (LOD) izračunata je kao tri puta veća od nivoa šuma, dok je granica kvantifikacije (LOQ) bila deset puta veća od nivoa šuma. Preciznost metode je procenjena korišćenjem metode ponavljanja (takozvana "intra-day" metoda). Naime, ponavljanje je ispitivano u toku istog dana, na istom instrumentu, od strane istog operatera, korišćenjem tri "spajkovana" uzorka, a rezultati su bili izraženi kao relativna standardna devijacija ponovljivosti (RSDp), kako za uzorke zemljišta, tako i za uzorke biljaka. Najveća RSD vrednost za uzorke zemljišta dobijena je u slučaju Nap (10,8%), dok je za uzorke biljaka najveća vrednost bila za Ant (9,54%).

Tačnost je bila procenjena na tri različita nivoa "spajkovanja" i za uzorke zemljišta i za uzorke biljaka, a izražena je kao vrednost prinosa (Tabela 11.). Dobijeni prinosi u ovom ispitivanju bili su u skladu sa prihvatljivim vrednostima za jedinjenja PAU, tj. u opsegu od 70–120% (Thompson i sar., 2002).

5.2. Rezultati hemometrijske analize ispitivanih biljnih vrsta: Aspekti fitoremedijacije i fitomonitoringa

Rezultati izvedene GC/MS analize dati su u Tabelama 12-14. i 18-20., pri čemu treba naglasiti da su rezultati za bršljan, HH, kao biljku sa formom lijanje, tj. puzavice, u najvećem delu dati odvojeno (Tabele 14. i 20.) od rezultata za druge dve ispitivane biljne vrste, tj., za jorgovan, SV i smokvu, FC (Tabele 12., 13., 18. i 19.), jer se ove dve poslednje navedene vrste mogu svrstati u istu grupu biljaka, posmatrano po definisanim ekološkim formama, tj., radi se o biljnim vrstama koje imaju formu grmolikog niskog drveća. Osim toga, na terenu – ove dve biljne vrste rasle su u neposrednoj međusobnoj blizini, na svim lokacijama, dok je bršljan uvek bio nešto udaljeniji od njih. Na sličan način data je i diskusija dobijenih rezultata za zemljište i koren, s' tim što su u određenim delovima diskusije data i poređenja pomenutih rezultata za sve tri ispitivane biljne vrste. Takođe, rezultati dobijeni za sve tri biljne vrste, upoređeni su i sa rezultatima za divlju kupinu iz istog regiona, čije zemljište i korenje je bilo analizirano tokom ranijih godina (Alagić i sar., 2016, 2017), tako da su i dodatni korisni zaključci mogli biti izvedeni, a pre svega u odnosu na promenu koncentracija zemljišnih PAU u toku perioda od nepunih 10 godina. Rezultati divlje kupine poređeni su samo sa onima koji se poklapaju po (identičnim) lokacijama analiziranim u ovoj doktorskoj disertaciji. Konačno, rezultati i diskusija za nadzemne biljne organe, kao neoprane delove, dati su za svaku biljnu vrstu pojedinačno i to nakon diskusije za zemljišni i korenski materijal.

Rezultati GC/MS analize uzoraka zemljišta i korenja SV, FC i HH (Tabele 12-14.) ukazali su da PAU kao što su BgP i IcP uopšte nisu bili detektovani u svim ispitivanim uzorcima, što ukazuje da ova jedinjenja koja inače nose veliki rizik po zdravlje ljudi (pre svega IcP kao potencijalni kancerogen), ne mogu predstavljati opasnost za lokalnu životnu sredinu i najvažnije – za ljudsku populaciju. Dodatno, u uzorcima korenja ovih biljaka nisu bila detektovana ni potvrđena kancerogena jedinjenja: BaP i CHR (Tabele 13. i 14.), osim u jednom slučaju za CHR kod HH na lokaciji FJ (Tabela 14.). Istovremeno, većina ispitivanih zemljišnih PAU bila je prisutna na skoro svim lokacijama, a najobilnija jedinjenja u zemljišnim uzorcima svih ispitivanih biljaka bila su: Nap, Phe i Flt (kod HH čak i Pyr i BaA u UIZ) (Tabele 12-14.). U slučaju korenja ispitivanih

biljaka, rezultati su bili nesto drugačiji. Naime, kod biljaka SV i FC, jedino su NM PAU poput Nap, Ace i Flr bili prisutni na svim lokacijama i istovremeno su bili prisutni kao najobilnija jedinjenja (plus Phe u pojedinim slučajevima), dok su se kao najobilnija jedinjenja kod HH generalno pojavili Flr i Phe (NM PAU), ali pre svega VM PAU poput Flt i DhA (kao i BaA na pojedinim mestima). Kod HH korenja, osim BaP i CHR (i u velikoj meri Ant), većina jedinjenja bila je detektovana na svim lokacijama.

Ovakvo činjenično stanje, sa izvesnim sličnostima, ali i brojnim specifičnostima nije neočekivano. Naime, NM jedinjenja imaju relativno jednostavne molekulske strukture, kao i pogodne hemijske i fizičke osobine (optimalne vrednosti log Kow, log Koc, itd.), za jednu laku ekstrakciju korenom, dok se kod VM PAU, može pretpostaviti da je i uloga ekskretovanih korenskih izlučevina, sastav ćelijske membrane, kao i prisutni transmembranski proteini, bili veoma važni za posmatranu korensku ekstrakciju/akumulaciju. Ni uticaj važnih zemljišnih parametara ne može se isključiti u pomenutim, kao ni u ostalim ispitivanim slučajevima PAU (Alagić i sar., 2015; Balmer i sar., 2019; Banach-Szott i sar., 2015; Kicińska i Dmytrowski, 2023; Reichenauer i Germida, 2008; Reid i sar., 2000). Zbog toga, ovde treba istaći da se pre razmatranja izračunatih BCF, kao i Pearson-ovih korelacija (tj. koeficijenta) između moguće uticajnih faktora, ne mogu formulisati precizni i konačni zaključci vezani za razmatrane parametre korenske ekstrakcije/akumulacije kod SV, FC i HH. Preciznije rečeno, korenske koncentracije, same po sebi, ne mogu tačno izraziti prirodne bioakumulacione potencijale ovog biljnog organa i zbog toga, rezultati dobijeni izvedenim hemijskim analizama moraju biti dalje procesuirani gore navedenim metodama (Alagić i sar., 2016, 2017). Izvođenje neke od statističkih metoda analize za utvrđivanje statistički značajnih razlika između koncentracija u odgovarajućim biljnim delovima bi takođe bilo od koristi. Međutim, zbog velikog broja slučajeva kada su jedinjenja bila ispod limita detekcije (nd-jedinjenja), ovakve vrste analiza se nisu mogle sprovesti.

Kada se sagledaju rezultati iz Tabele 12., vidi se da su koncentracije ispitivanih PAU u odgovarajućem zemljištu SV i FC sa odabраниh lokacija, varirale od: nd za Ant (kod SV, mesta S, BJ, K i G i kod FC, mesta O, BJ i K), BaA (kod SV i FC, mesto K), CHR (kod SV i FC, mesto K i takođe kod SV, mesta O i G), BbF+BkF (kod SV, mesta NS, BJ, K i G i kod FC, mesta BN, S, K i G) i DhA (kod SV i FC, mesta SN, O, BJ, K i G i takođe kod FC, mesto BN) do maksimalnih 1504 µg/kg za Flt (kod SV, mesto BN). Najmanja merljiva zemljišna koncentracija bila je zabeležena na mestu FJ za Ant kod FC: 2,3 µg/kg.

Ono što je posebno važno, jeste činjenica da su sve detektovane zemljišne koncentracije kod SV i FC bile niže od odgovarajućih graničnih vrednosti (LV) definisanih za USEPA RSL (USEPA, 2024), osim u slučaju DhA kod FC: 128 µg/kg (boldovane cifre u Tabeli 12.) na mestu NS (na periferiji grada Bora) i to posmatrajući oba kriterijuma: 1) $TR = 1 \cdot 10^{-6}$ i $THQ = 1,0$ i 2) $TR = 1 \cdot 10^{-6}$ i $THQ = 0,1$, za rezidencijsko zemljište. Ovi nalazi predstavljaju potvrdu da bi, kada su u pitanju pojedinačna jedinjenja, jedino u odnosu na DhA (mogući kancerogen) u zemljištu FC na UI mestu NS, neke mere rehabilitacije mogle biti preduzete. Međutim, poređenje detektovanih zemljišnih koncentracija SV i FC sa odgovarajućim koncentracijama iz ranijeg perioda, tj., sa koncentracijama u zemljištu divlje kupine sa nekoliko istih (poklapajućih) lokacija u regionu Bora (Alagić i sar., 2016, 2017), pokazalo je da je, u većini slučajeva došlo do porasta sadržaja individualnih jedinjenja PAU, osim u slučaju BaP, čiji je zemljišni sadržaj značajno opao (Tabela 12.). Ovo uvećanje zemljišnih PAU koncentracija sugerise da bi i ekološku zabrinutost, kao i mere zaštite trebalo povećati i to u odnosu na lokalni ekosistem u celini. Na primer, filtere u dimnjacima gradske toplane i topionice bakra, trebalo bi modernizovati na način da redukuju emisije kancerogenih, ali i

svih ostalih PAU. Zatim, tipovi vozila u regionalnom saobraćaju trebali bi da budu sve više u korist novih tehničkih rešenja, kao što su električna, ili hibridna vozila. Takođe, brojne inovacije u organizaciji gradske deponije su neophodne kako bi ona funkcionisala u što ispravnijem i adekvatnijem režimu, itd.

Tabela 12. Koncentracije PAU ($\mu\text{g}/\text{kg}$, SM) u uzorcima zemljišta SV i FC (Papludis i sar., 2025)

Lokacija/Biljka		NM PAU						
		Nap	Acy	Ace	Flr	Ant	Phe	
FJ	SV	106 ± 14	12 ± 1	3,6 ± 0,6	11,9 ± 0,3	3,4 ± 0,7	49 ± 4	
	FC	149 ± 3	17,8 ± 0,5	4,3 ± 0,5	12,0 ± 0,1	2,3 ± 0,3	69 ± 4	
BN	SV	178 ± 4	52 ± 4	38 ± 5	36 ± 3	166 ± 6	395 ± 13	
	FC	68 ± 1	16,8 ± 0,8	5,8 ± 0,3	10,0 ± 0,8	14 ± 1	65 ± 8	
SN	SV	165 ± 3	31,0 ± 0,2	15,8 ± 0,7	24 ± 3	9,2 ± 0,6	154 ± 13	
	FC	158 ± 13	35 ± 3	16,4 ± 0,7	28 ± 2	8,0 ± 0,6	119 ± 15	
NS	SV	64 ± 2	32 ± 1	4,6 ± 0,1	10,1 ± 0,1	17 ± 2	96 ± 2	
	FC	165 ± 10	36 ± 2	10,2 ± 0,6	20 ± 2	11,5 ± 0,4	116 ± 8	
O	SV	187 ± 26	29 ± 4	16,1 ± 0,8	33 ± 1	4,7 ± 0,3	109 ± 17	
	FC	85 ± 6	14,6 ± 0,9	9,0 ± 0,2	26 ± 3	nd	102 ± 9	
S	SV	147 ± 8	18,4 ± 0,4	8,2 ± 0,6	33 ± 1	nd	189 ± 11	
	FC	111 ± 11	46 ± 1	24,3 ± 0,4	37 ± 2	53 ± 4	160 ± 4	
BJ	SV	106 ± 5	21 ± 1	37 ± 2	27 ± 3	nd	255 ± 18	
	FC	190 ± 17	35 ± 5	13 ± 1	20 ± 3	nd	86 ± 8	
K	SV	66 ± 5	6,2 ± 0,7	13,6 ± 0,4	11 ± 2	nd	221 ± 13	
	FC	86 ± 4	9 ± 1	7,5 ± 0,3	14 ± 2	nd	71 ± 3	
G	SV	108 ± 7	15 ± 1	9,4 ± 0,1	19,3 ± 0,9	nd	73 ± 5	
	FC	143 ± 8	22 ± 2	8,7 ± 0,3	15,5 ± 0,9	5,6 ± 0,9	96 ± 2	
USEPA RSL ^a (mg/kg)								
Rezidencijsko zemljište		2,0 ^{b,c}	ne ^{b,c}	3600 ^b /360 ^c	2400 ^b /240 ^c	18000 ^b /1800 ^c	ne ^{b,c}	
Industrijsko zemljište		8,6 ^{b,c}	ne ^{b,c}	45000 ^b /4500 ^c	30000 ^b /3000 ^c	230000 ^b /23000 ^c	ne ^{b,c}	
Lokacija/Biljka		VM PAU						
		Flt	Pyr	BaA	CHR	BaP	BbF+BkF	DhA
FJ	SV	67 ± 4	35,5 ± 0,3	83 ± 9	17 ± 2	8 ± 2	12 ± 1	30 ± 2
	FC	99 ± 4	52 ± 4	71 ± 5	14,6 ± 0,8	7,7 ± 0,9	10,0 ± 0,1	24,7 ± 0,7
BN	SV	1504 ± 70	831 ± 39	560 ± 41	270 ± 25	6,5 ± 0,5	5,0 ± 0,6	70 ± 7
	FC	199 ± 10	119 ± 13	107 ± 5	39 ± 4	5,8 ± 0,6	nd	Nd
SN	SV	232 ± 6	131 ± 2	165 ± 20	28 ± 5	9,4 ± 0,3	11,1 ± 0,3	Nd
	FC	147 ± 13	81 ± 4	61 ± 6	18 ± 1	9,5 ± 0,3	7,4 ± 0,5	Nd
NS	SV	256 ± 3	194 ± 3	108 ± 6	34 ± 2	7,0 ± 0,8	nd	Nd
	FC	307 ± 37	260 ± 20	248 ± 13	75 ± 3	9,7 ± 0,1	50 ± 4	128 ± 6
O	SV	68 ± 8	30 ± 2	59 ± 7	nd	9,3 ± 0,2	10,1 ± 0,3	nd
	FC	58 ± 5	23 ± 3	63 ± 5	6,3 ± 0,5	9,8 ± 0,4	13 ± 2	nd
S	SV	271 ± 12	132 ± 9	99 ± 9	42 ± 4	9,3 ± 0,7	8,2 ± 0,3	69 ± 5
	FC	401 ± 15	230 ± 6	309 ± 33	44 ± 3	9,4 ± 0,8	nd	109 ± 6
BJ	SV	38,5 ± 0,6	25 ± 3	42 ± 5	10,0 ± 0,5	10,7 ± 0,5	nd	nd
	FC	102 ± 14	65 ± 7	155 ± 8	14 ± 1	8,7 ± 0,6	8,7 ± 0,4	nd
K	SV	21 ± 2	12,8 ± 0,4	nd	nd	8,2 ± 0,7	nd	nd
	FC	19,5 ± 0,6	11,0 ± 0,6	nd	nd	9,3 ± 0,3	nd	nd
G	SV	24 ± 3	13,2 ± 0,4	38 ± 5	nd	9,0 ± 0,6	nd	nd
	FC	177 ± 1	117 ± 2	68 ± 17	28,6 ± 0,4	9,5 ± 0,6	nd	nd
USEPA RSL ^a (mg/kg)							BbF/BkF	
Rezidencijsko zemljište		2400 ^b /240 ^c	1800 ^b /180 ^c	1,1 ^{b,c}	110 ^{b,c}	0,11 ^{b,c}	1,1 ^{b,c} /11 ^{b,c}	0,11 ^{b,c}
Industrijsko zemljište		30000 ^b /3000 ^c	23000 ^b /2300 ^c	21,0 ^{b,c}	2100 ^{b,c}	2,1 ^{b,c}	21 ^{b,c} /210 ^{b,c}	2,1 ^{b,c}

SV - *Syringa vulgaris*; FC - *Ficus carica* (cma Petrovača); nd – jedinjenje nije detektovano; ne – kriterijum nije etabliran/ustanovljen;

a - USEPA regionalni nivoi skrininga (RSL) iz generičkih tabela koje definišu maksimalno dozvoljene koncentracije PAU u rezidencijskom i industrijskom zemljištu (USEPA, 2024); b - USEPA Sumarna Tabela bazirana na kriterijumu TR = $1 \cdot 10^{-6}$ i THQ = 1,0 (USEPA, 2024); c - USEPA Sumarna Tabela bazirana na kriterijumu TR = $1 \cdot 10^{-6}$ i THQ = 0,1 (USEPA, 2024)

Moglo bi se reći da su, u većini slučajeva, koncentracije pojedinih NM PAU bile veće u zemljišnim uzorcima SV, dok su koncentracije pojedinih VM PAU bile veće u zemljišnim uzorcima FC (Tabela 12.). Nije postojala mogućnost za definisanje sličnih pravila za analizirane uzorke korenja (Tabela 13.). Dodatno, nije bilo nikakvih pravila u odnosu na prisustvo pojedinih PAU u UIZ i RZ razmatrajući obe vrste ispitivanih materijala (Tabele 12. i 13.), što je predstavljalo i prvi znak o postojanju različitih generatora PAU u ispitivanom regionu.

Koncentracije pojedinih PAU u korenju SV i FC sa različitih lokacija, bile su u opsegu od: nd za Acy (kod SV i FC, mesta NS, S i K, kao i kod SV, mesta BJ i G), Ant (kod SV i FC, mesta BN, NS, O, S, BJ, K i G, kao i kod FC, mesto SN), Phe (kod SV, mesta S i K i FC, mesto BJ), Flt (kod FC, mesta BN, SN, NS, O, S, BJ, K i G), Pyr (kod FC, mesta BN, SN, NS, O, S, BJ, K i G), BaA (kod SV i FC na mestima O, K i G, kao i kod SV, mesta FJ, BN, NS, S i BJ), CHR i BaP (na svim mestima kod obe posmatrane biljke), BbF+BkF (kod obe biljke, mesta K i G, kao i kod SV, mesta SN i S i kod FC, mesta SN, NS, O i K) i DhA (kod SV, mesta FJ i SN i kod FC, mesto NS) do enormnih 5592 $\mu\text{g}/\text{kg}$, ili 4990 $\mu\text{g}/\text{kg}$ za Flr (kod SV, mesta K i G, respektivno) (Tabela 13.), što su iznosi koji značajno prevazilaze čak i najveću zabeleženu zemljišnu koncentraciju od 1504 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (za Flt, kod SV, mesto BN). Generalno posmatrano, uopšte nije bio redak slučaj da su korenske koncentracije pojedinih PAU, na odabranim lokacijama bile znatno više od odgovarajućih zemljišnih koncentracija, što će biti uočljivije kasnije, kod izračunatih vrednosti za odgovarajuće BCF. Takođe, sadržaj DhA kod obe biljke, na brojnim lokacijama (Tabela 13., boldovane cifre), bio je toliko visok da je čak bio iznad USEPA RSL vrednosti za rezidencijsko zemljište, po oba definisana kriterijuma (USEPA, 2024). Uočeno je i da su, u korenju FC, jedinjenja kao što su Ant, Flt i Pyr, bila detektovana samo na mestu FJ (Tabela 13.), a koje je najbliže industrijsko/metalurškom kompleksu sa gradskom toplanom u neposrednoj blizini. Najniža merljiva koncentracija u korenu uočena je na lokaciji G za Acy kod FC: 2,3 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

Tabela 13. Koncentracije PAU ($\mu\text{g}/\text{kg}$, SM) u uzorcima korenja SV i FC (Papludis i sar., 2025)

Lokacija/Biljka		NM PAU						
		Nap	Acy	Ace	Flr	Ant	Phe	
FJ	SV	32 ± 2	35 ± 6	60 ± 7	68 ± 8	21 ± 2	301 ± 34	
	FC	31 ± 1	25,7 ± 0,7	38 ± 3	143 ± 9	14 ± 1	269 ± 16	
BN	SV	23,4 ± 0,9	3,9 ± 0,1	94 ± 8	127 ± 6	nd	335 ± 12	
	FC	129 ± 3	185 ± 9	10,4 ± 0,4	51 ± 3	nd	138,4 ± 0,7	
SN	SV	25 ± 3	4,39 ± 0,05	10 ± 1	403 ± 24	19,68 ± 0,05	157 ± 8	
	FC	59 ± 2	30 ± 2	15,4 ± 0,1	131 ± 5	nd	133 ± 1	
NS	SV	27 ± 2	nd	10 ± 1	222 ± 4	nd	426 ± 19	
	FC	99 ± 5	nd	16 ± 2	85 ± 5	nd	145 ± 5	
O	SV	24 ± 3	183 ± 17	65 ± 1	331 ± 54	nd	52 ± 2	
	FC	29,6 ± 0,7	2,91 ± 0,05	21,2 ± 0,8	81,4 ± 0,8	nd	108,2 ± 0,4	
S	SV	52 ± 5	nd	29 ± 1	279 ± 40	nd	nd	
	FC	114 ± 7	nd	15 ± 2	300 ± 28	nd	101 ± 3	
BJ	SV	20 ± 3	nd	15,0 ± 0,7	627 ± 33	nd	16 ± 2	
	FC	89 ± 4	3,1 ± 0,2	5,2 ± 0,6	64 ± 5	nd	nd	
K	SV	18 ± 2	nd	111 ± 8	5592 ± 90	nd	nd	
	FC	82 ± 8	nd	9,4 ± 0,8	98 ± 8	nd	141 ± 4	
G	SV	15,0 ± 0,9	nd	55 ± 3	4990 ± 156	nd	79 ± 9	
	FC	79 ± 4	2,3 ± 0,3	7,7 ± 0,8	189,7 ± 0,5	nd	149 ± 8	
Lokacija/Biljka		VM PAU						
		Flt	Pyr	BaA	CHR	BaP	BbF+BkF	DhA
FJ	SV	36 ± 5	14 ± 1	nd	nd	nd	2,8 ± 0,5	nd
	FC	124 ± 4	12,5 ± 0,6	77 ± 3	nd	nd	4,5 ± 0,3	90 ± 2
BN	SV	14,2 ± 0,1	5,6 ± 0,4	nd	nd	nd	7,4 ± 0,4	58 ± 5
	FC	nd	nd	192 ± 4	nd	nd	20 ± 1	146 ± 33
SN	SV	385 ± 52	78 ± 13	50 ± 2	nd	nd	nd	nd
	FC	nd	nd	8 ± 1	nd	nd	nd	97 ± 6
NS	SV	36 ± 4	7,2 ± 0,2	nd	nd	nd	8,3 ± 0,2	901 ± 16
	FC	nd	nd	816 ± 52	nd	nd	nd	nd
O	SV	2,5 ± 0,3	2,6 ± 0,1	nd	nd	nd	4,7 ± 0,5	285 ± 26
	FC	nd	nd	nd	nd	nd	nd	172,8 ± 0,3
S	SV	7,1 ± 0,7	6,4 ± 0,8	nd	nd	nd	nd	220 ± 2
	FC	nd	nd	148 ± 27	nd	nd	9,7 ± 0,5	129 ± 3
BJ	SV	231 ± 4	39,5 ± 0,5	nd	nd	nd	8,3 ± 0,3	329 ± 42
	FC	nd	nd	47 ± 6	nd	nd	7,4 ± 0,4	29 ± 4
K	SV	20 ± 3	6,7 ± 0,5	nd	nd	nd	3,7 ± 0,2	191 ± 5
	FC	nd	nd	nd	nd	nd	nd	48,7 ± 0,9
G	SV	17 ± 4	4,3 ± 0,2	nd	nd	nd	2,6 ± 0,3	278 ± 27
	FC	nd	nd	nd	nd	nd	7,3 ± 0,4	55 ± 6

SV - *Syringa vulgaris*; FC - *Ficus carica* (crna Petrovača); nd – jedinjenje nije detektovano

Poredeći ove koncentracije sa poklapajućim koncentracijama u korenju divlje kupine sa istih selektovanih lokacija (Alagić i sar., 2016, 2017), uočeno je se da su sadržaji NM PAU kod SV i FC korenja bili veći nego kod divlje kupine, osim u slučaju Ant. Za VM PAU nije bilo moguće opisati bilo kakvo pravilo, osim u slučaju CHR, koji uopšte nije bio detektovan u korenju divlje kupine. Međutim, treba reći, da je u analiziranom korenju divlje kupine, BaP bio nađen, tj., absorbovan u značajnoj meri, dok u slučaju korenja SV i FC, ovo jedinjenje uopšte nije bilo detektovano, što još jednom ističe divlju kupinu kao izuzetno korisnu vrstu u korenskoj akumulaciji BaP, dobro poznatom kao dokazano kancerogeno jedinjenje za ljude (Balmer i sar., 2019; Fang i sar., 2002; Kicińska i Dmytrowski, 2023; Onyema i sar., 2017; USEPA, 2024).

Rezultati GC/MS analize za zemljišne i korenske uzorke kod HH dati su u Tabeli 14.

Tabela 14. Koncentracije PAU ($\mu\text{g}/\text{kg}$, SM) u uzorcima zemljišta i korenja HH (Papludis i sar., 2023a)

Lokacija/Matriks		NM PAU						
		Nap	Acy	Ace	Flr	Ant	Phe	
FJ	Z	192,3 ± 15,6	23 ± 0	5,0 ± 0,5	12,2 ± 0,3	nd	88,7 ± 6,6	
	KR	29,8 ± 2,9	nd	15,9 ± 0,9	218,8 ± 11,5	7,9 ± 0,1	237 ± 5	
BN	Z	91 ± 4	26,7 ± 2,6	9,3 ± 0,4	11,9 ± 0,7	35,5 ± 1,9	89,7 ± 3,6	
	KR	140 ± 16	30 ± 2	62,3 ± 7,5	405,2 ± 29,4	19,1 ± 1,7	53,1 ± 2,5	
SN	Z	188,3 ± 6,6	85 ± 5	22,5 ± 1,3	38 ± 3	54,9 ± 8,9	188,2 ± 14,1	
	KR	40,5 ± 0,7	3 ± 0	21 ± 2	349,2 ± 13,9	nd	nd	
NS	Z	119 ± 18	22 ± 1	9,7 ± 0,3	18,4 ± 1,3	7,6 ± 0,4	89,5 ± 5,1	
	KR	33 ± 5	nd	15 ± 1	442,5 ± 4,1	nd	69,1 ± 7,1	
O	Z	149,0 ± 10,8	54,8 ± 4,7	13 ± 1	27,5 ± 3,3	20,3 ± 0,8	205,9 ± 24,6	
	KR	23 ± 1	3,4 ± 0,6	16,1 ± 1,1	98,4 ± 8,6	3,1 ± 0,5	146,1 ± 9,4	
S*	Z	72,4 ± 1,3	9,78 ± 0,55	4,3 ± 0,6	19,54 ± 1,39	nd	98,88 ± 5,87	
	KR	30,77 ± 0,36	nd	75,60 ± 9,21	491,1 ± 45,6	16,4 ± 1,9	91,3 ± 5,7	
BJ	Z	84,3 ± 3,4	11,92 ± 1,89	9 ± 0	18,5 ± 0,6	nd	73,95 ± 7,38	
	KR	18,5 ± 1,5	19,1 ± 0,4	7,3 ± 0,2	115,1 ± 2,6	nd	52,8 ± 8,1	
K	Z	92,4 ± 7,9	169,9 ± 18,5	14,0 ± 0,1	27,1 ± 2,3	nd	91,2 ± 2,3	
	KR	24,5 ± 0,3	nd	22,7 ± 0,61	205,8 ± 4,4	nd	76,7 ± 6,6	
G	Z	88,3 ± 1,2	10 ± 1	7,7 ± 0,5	16,5 ± 0,8	nd	84,3 ± 7,8	
	KR	26,7 ± 5,7	nd	28,62 ± 2,59	388,8 ± 31,7	7,80 ± 0,05	nd	
USEPA RSL ^a (mg/kg)								
Rezidencijsko zemljište		2,0 ^{b,c}	ne ^{b,c}	3600 ^b /360 ^c	2400 ^b /240 ^c	18000 ^b /1800 ^c	ne ^{b,c}	
Industrijsko zemljište		8,6 ^{b,c}	ne ^{b,c}	45000 ^b /4500 ^c	30000 ^b /3000 ^c	230000 ^b /23,000 ^c	ne ^{b,c}	
Lokacija/Matriks		NM PAU						
		Flt	Pyr	BaA	CHR	BaP	BbF+BkF	DhA
FJ	Z	130,6 ± 7,5	68,1 ± 6,8	58,6 ± 3,5	12,6 ± 2,1	6,64 ± 0,36	nd	nd
	KR	212 ± 10	11,0 ± 0,9	87 ± 4	18,9 ± 1,3	nd	6,1 ± 0,2	105,9 ± 7,6
BN	Z	310,5 ± 31,3	169,0 ± 14,7	129 ± 7	47,2 ± 1,9	6,2 ± 0,4	nd	nd
	KR	585,0 ± 78,4	11,0 ± 0,8	nd	nd	nd	7,3 ± 0,1	110,5 ± 5,9
SN	Z	584,9 ± 29,7	304,0 ± 7,6	324,8 ± 32,1	56 ± 3	10,5 ± 0,9	8,3 ± 0,2	72,7 ± 4,9
	KR	nd	16,5 ± 0,3	62,5 ± 1,6	nd	nd	6,0 ± 0,3	207,1 ± 14,2
NS	Z	102,9 ± 7,7	69,4 ± 3,5	211,3 ± 9,5	16 ± 2	9,2 ± 0,8	nd	nd
	KR	272,60 ± 24,8	142,8 ± 4,8	628,5 ± 40,4	nd	nd	6,8 ± 0,5	137,5 ± 13,5
O	Z	541,5 ± 48,3	324,0 ± 19,6	145,9 ± 13,3	54 ± 4	8,7 ± 0,4	9,0 ± 0,2	nd
	KR	129,5 ± 6,3	71 ± 7	30 ± 5	nd	nd	nd	78,2 ± 4,5
S*	Z	36,96 ± 2,15	10,15 ± 0,89	32,2 ± 1,1	nd	10,1 ± 0,1	nd	nd
	KR	190,3 ± 19,2	83,97 ± 3,57	nd	nd	nd	1,74 ± 0,45	94,31 ± 3,79
BJ	Z	32,6 ± 0,4	17,6 ± 0,6	61 ± 5	8,6 ± 0,9	8,8 ± 0,3	nd	nd
	KR	199,9 ± 11,8	79,2 ± 5,4	19 ± 4	nd	nd	nd	97,9 ± 6,7
K	Z	118,6 ± 7,7	77 ± 9	83,1 ± 21,8	49,4 ± 5,7	6,9 ± 0,7	8,58 ± 0,19	106,9 ± 5,5
	KR	47,0 ± 2,5	9,18 ± 0,96	nd	nd	nd	3,9 ± 0,2	91,0 ± 8,3
G	Z	39,3 ± 1,2	24 ± 1	41 ± 1	nd	10,6 ± 0,5	9,5 ± 0,7	nd
	KR	16,4 ± 0,2	47 ± 5	nd	nd	nd	5,8 ± 0,4	168,9 ± 19,8
USEPA RSL ^a (mg/kg)							BbF/BkF	
Rezidencijsko zemljište		2400 ^b /240 ^c	1800 ^b /180 ^c	1,1 ^{b,c}	110 ^{b,c}	0,11 ^{b,c}	1,1 ^{b,c} /11 ^{b,c}	0,11 ^{b,c}
Industrijsko zemljište		30000 ^b /3000 ^c	23000 ^b /2300 ^c	21,0 ^{b,c}	2100 ^{b,c}	2,1 ^{b,c}	21 ^{b,c} /210 ^{b,c}	2,1 ^{b,c}

HH – *Hedera helix*; Z – zemljište; KR – koren; * - Rezultati za lokaciju S nisu prikazani u Papludis i sar. (2023a) (oni su dobijeni na potpuno identičan način kao i svi ostali); nd – jedinjenje nije detektovano; ne – kriterijum nije etabliaran/ustanovljen;

a - USEPA regionalni nivoi skrininga (RSL) iz generičkih tabela koje definišu maksimalno dozvoljene koncentracije PAU u rezidencijskom i industrijskom zemljištu (USEPA, 2024); b - USEPA Sumarna Tabela bazirana na kriterijumu TR = $1 \cdot 10^{-6}$ i THQ = 1,0 (USEPA, 2024); c - USEPA Sumarna Tabela bazirana na kriterijumu TR = $1 \cdot 10^{-6}$ i THQ = 0,1 (USEPA, 2024)

Na osnovu prezentovanih GC/MS rezultata (Tabela 14.), može se zaključiti da su kod HH, zemljišne koncentracije varirale u opsegu od: nd za Ant (mesta FJ, S, BJ, K i G), CHR (mesta S i G), BbF+BkF (mesta FJ, BN, NS, S i BJ) i DhA (mesta FJ, BN, NS, O, S, BJ i G) do 584,9 µg/kg za Flt na mestu SN. Slično, najviša zemljišna koncentracija kod SV i FC, takođe je bila zabeležena za Flt (1504 µg/kg), ali na mestu BN. Najniža merljiva zemljišna koncentracija kod HH bila je 4,3 µg/kg, na mestu S, za jedinjenje Ace. Najobilnija jedinjenja u različitim zemljišnim uzorcima HH bila su: Nap, Flt, Pyr i BaA (mada samo u UIZ), a nafrekventnija: Nap, Ace, Flr, Phe, Flt, Pyr, BaA i BaP.

Slično kao kod zemljišnih uzoraka SV i FC, sve detektovane zemljišne koncentracije bile su niže od odgovarajućih graničnih vrednosti (LV) definisanih za USEPA RSL (USEPA, 2024) i to čak i bez izuzetka za DhA. Pri tome, na gotovo svim lokacijama, ovo jedinjenje nije ni bilo detektovano. Ovo jedinjenje takođe nije bilo detektovano ni u zemljišnim uzorcima divlje kupine uzorkovane na nekoliko istih lokacija u regionu Bora (Alagić i sar., 2016, 2017). Za razliku od SV i FC, gde su koncentracije većine ispitivanih jedinjenja u zemljištu (Tabela 12.) bile povišene u odnosu na raniji period, tj., od koncentracija u zemljištu divlje kupine (Alagić i sar., 2016, 2017), kod HH (Tabela 14.) je bila primećena jedna vrsta neujednačenosti, odnosno, uočeno je da su pojedine koncentracije bile više, a pojedine niže od odgovarajućih koncentracija iz ranijeg perioda. Osim toga uočeno je i da su zemljišne koncentracije brojnih jedinjenja (Nap, Ant, Flt, Pyr i BaA) kod HH, u većini slučajeva, bile veće u UIZ, nego u RZ i TZ, što je takođe razlika u odnosu na SV i FC, gde se ovakvo pravilo nije moglo uočiti.

Uočeni detalji sugerišu da je, na nekim lokacijama, korenska ekstrakcija/akumulacija odgovarajućih PAU kod HH bila mnogo efikasnija nego kod SV i FC. Inače, nivoi koncentracija PAU u korenju HH (Tabela 14.) bili su uglavnom uporedivi sa onima kod SV i FC (Tabela 13.), mada, u većoj meri, bliži nivoima u FC. Ipak sadržaji Pyr, Phe i Ant isticali su se kao nešto veći kod HH, dok su sadržaji Nap bili nešto niži, a BaA i Flt su se češće nalazili ispod limita detekcije u poređenju sa SV i FC. Najobilnija jedinjenja u korenskim uzorcima HH bila su: Flr, Flt i ponekad DhA, a nafrekventnija: Nap, Ace, Flr, Flt, Pyr, BaA, DhA i delimično - Phe. Opseg korenskih koncentracija kod HH bio je od: nd za Acy (mesta FJ, NS, S, K i G), Ant (mesta SN, NS, BJ i K), Phe (mesta SN i G), Flt (mesto SN), BaA (mesta BN, S i K), CHR (na svim mestima osim FJ), BaP (na svim mestima) i BbF+BkF (mesta O i BJ) do 628.5 µg/kg na mestu NS za BaA, kao i za Flt, na mestu BN: 585,0 µg/kg (Tabela 14.). Najniža merljiva korenska koncentracija bila je uočena za BbF+BkF, na mestu S: 1,74 µg/kg. Kada je u pitanju BaP kod korena HH, situacija je bila potpuno drugačija u poređenju sa onom u korenju divlje kupine (Alagić i sar., 2016), što je pak slično kao i kod SV i FC korenja, a što u krajnjem definitivno ističe divlju kupinu kao dobar ekstraktor/akumulator ovog jedinjenja i istovremeno predstavlja prvi signal da je isto jedinjenje izuzetno opasno za sve biljne vrste ispitivane u ovoj disertaciji, tj. za SV, FC i HH (jer ga nijedna nije usvojila i akumulirala putem korena). Kod CHR, situacija je pak bila slična u smislu da je ovo jedinjenje bilo detektovano samo na jednoj ispitivanoj lokaciji i kod HH (mesto FJ) (Tabela 14.) i kod divlje kupine (mesto BJ) (Alagić i sar., 2016). Takođe, uočeno je da su, u većini slučajeva, koncentracije Flr, Flt, Pyr, BbF+BkF i DhA kod HH korenja bile mnogo veće nego kod korenja divlje kupine. Osim toga, slično kao i kod SV i FC, koncentracije DhA (Tabela 14.) su često bile na nivoima koji su bili veći čak i od odgovarajućeg USEPA RLS za DhA u rezidencijskom zemljištu, posmatrajući oba kriterijuma (USEPA, 2024).

U cilju dobijanja još realnije slike o stanju kontaminacije zemljišnih uzoraka ispitivanih

biljnih vrsta, osim razmatranja pojedinačnih jedinjenja PAU, razmatrane su i njihove sume, tj. zbirovi (Gu i sar., 2019; He i sar., 2019; Huang i sar., 2014; Liao i sar., 2012; Morillo i sar., 2007; Melnyk i sar., 2015; Patel i sar., 2020) i to na svakoj lokaciji, za svaku biljnu vrstu posebno (Tabela 15.). Takođe, na ovaj način su izračunate i sume 16 PAU za koren svake biljne vrste sa svake lokacije, kako bi se dobio uvid i u njihov potencijal za koncentrisanje ukupnih PAU (Tabela 15.).

Tabela 15. Sume 16 PAU ($\mu\text{g}/\text{kg}$, SM) u zemljišnim i korenskim uzorcima ispitivanih biljnih vrsta

Lokacija	$\Sigma 16$ PAU SV		$\Sigma 16$ PAU FC		$\Sigma 16$ PAU HH	
	Z	KR	Z	KR	Z*	KR
FJ	438,4	569,8	533,4	828,7	597,6	950,2
BN	4111,5	668,5	649,4	871,8	926,0	1423,5
SN	975,5	1132,1	688,3	473,4	1938,2	705,9
NS	822,7	1637,5	1436,3	1161,0	675,0	1747,8
O	555,3	949,7	409,6	416,0	1553,6	598,8
S	1026,1	593,5	1533,7	816,7	294,3	1075,4
BJ	572,2	1285,7	697,5	244,7	326,3	608,8
K	359,8	5942,4	227,3	379,1	845,2	480,7
G	308,8	5440,9	690,9	490,1	331,2	690,0

Z – zemlja; KR – koren; boldovane vrednosti – kategorija veoma zagađenih lokacija

* - Papludis i sar. (2023a)

Kod uzoraka zemljišta SV, prema objašnjenju klasifikaciji za sumu 16 PAU, 5 od 9 lokacija mogu se svrstati u kategoriju umereno zagađenih (FJ, O, BJ, K i G), 2 lokacije u kategoriju zagađenih (SN i NS), dok se 2 lokacije mogu klasifikovati kao veoma zagađene (S – 1026,1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i BN – 4111,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Kod FC, 3 lokacije su bile umereno zagađene (FJ, O i K), 4 zagađene (BN, SN, BJ i G) i 2 veoma zagađene (NS – 1436,3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i S – 1533,7 $\mu\text{g}/\text{kg}$). I kod HH 4 lokacije su bile umereno zagađene (FJ, S, BJ i G), 3 zagađene (BN, K i NS) i 2 veoma zagađene (SN – 1938,2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i O – 1553,6 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Nijedan uzorak zemljišta ispitivanih biljnih vrsta nije pripadao kategoriji nezagađenog zemljišta (Tabela 15.), na osnovu čega se može zaključiti da su zemljišta sa ispitivanih lokacija, prema datoj klasifikaciji, bila pod značajnim uticajem antropogenih aktivnosti i zato nije čudna ni pojava uvećanja koncentracija pojedinih PAU (osim BaP) u odnosu na raniji period, kako je i bilo uočeno poredeći koncentracije pojedinačnih PAU biljnih vrsta iz ove doktorske disertacije i koncentracija objavljenih za zemljište divlje kupine (Alagić i sar., 2016, 2017). Dobijeni rezultati dodatno ukazuju na potrebu za konstantnim praćenjem kvaliteta zemljišta i primenu adekvatnih mera remedijacije u cilju smanjenja nivoa zagađenja i očuvanja kvaliteta životne sredine. Pri tome, posebno bi trebalo obratiti pažnju na kvalitet zemljišta sa lokacija iz RZ gde se ljudi bave poljoprivredom i na ovom zemljištu gaje poljoprivredne kulture koje se koriste u ljudskoj ishrani.

Na osnovu izračunatih vrednosti $\Sigma 16$ PAU u korenju ispitivanih biljaka (SV, FC i HH), uočeno je variranje, kako između pojedinačnih lokacija za jednu biljnu vrstu, tako i između vrsta (Tabela 15.).

Koncentracije za $\Sigma 16$ PAU u korenju SV bile su u opsegu, od 569,8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ na lokaciji FJ do ekstremno visokih vrednosti na lokacijama K (5942,4 $\mu\text{g}/\text{kg}$) i G (5440,9 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Zbog izrazito nižih vrednosti za $\Sigma 16$ PAU u odgovarajućem zemljištu (359,8 $\mu\text{g}/\text{kg}$, K i 308,8 $\mu\text{g}/\text{kg}$, G) ove dve lokacije, ali i zbog nižih vrednosti na svim ostalim lokacijama (osim BN i S), može se reći da SV ima visok potencijal za akumulaciju PAU u korenu.

Korenje FC imalo je u globalu, niže vrednosti za $\Sigma 16$ PAU u poređenju sa SV i HH i one su se bile u opsegu od 244,7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (BJ) do 1161,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (NS). U slučaju 2 lokacije, S i BJ, koncentracije su bile dvostuko do trostruko veće u zemljištu nego u korenju, dok kod ostalih lokacija nije bilo tako ekstremnih razlika između suma 16 PAU u zemljištu i korenju.

$\Sigma 16$ PAU koncentracija u korenju HH varirale su u opsegu od 480,7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (K) do 1747,8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (NS). Na lokaciji S, suma koncentracija u korenju (1075,4 $\mu\text{g}/\text{kg}$) bila je četiri puta veća od sume koncentracija u zemljištu (294,3 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Suprotan trend bio je primećen na lokacijama SN i O, gde je suma koncentracija u zemljištu bila značajno viša u poređenju sa korenjom. U većini slučajeva koncentracije za $\Sigma 16$ PAU u korenju bile su više nego u zemljištu, a naročito na lokacijama BN, NS i S, gde su uočene višestruko veće vrednosti u korenju u odnosu na zemljište. Ovi detalji takođe ukazuju na mogućnost izražene akumulacije različitih jedinjenja PAU u korenju HH.

Istovremeno, rezultati iz Tabele 15. ukazuju da korenje biljaka predstavlja značajan rezervoar akumulacije PAU, pri čemu stepen akumulacije verovatno zavisi od više faktora, a pre svega od same biljne vrste. Iako su najveće sume koncentracija bile zabeležene u korenju SV, ukupni rezultati ukazuju na odličan potencijal svih biljnih vrsta za fitoremedijaciju, preciznije, za fitostabilizaciju područja koja su kontaminirana jedinjenjima PAU.

Sve ove činjenice podržavaju nalaze brojnih prethodnih studija, da svaka biljka ima svoj, specifičan kapacitet za usvajanje i akumulaciju PAU u korenu, a što se reflektovalo i kroz vrednosti BCF za pojedinačna jedinjenja kod svake biljne vrste ispitivane u ovoj doktorskoj disertaciji (Tabele 16. i 17.). U tom smislu, kako bi se dobio nešto određeniji uvid u kapacitete sve tri ispitivane biljke (SV, FC i HH) za usvajanje pojedinačnih PAU iz zemljišta i njihovu dalju akumulaciju u korenu, izvršeno je i poređenje njihovih izračunatih BCF vrednosti (za svako jedinjenje kod svake biljke, sa svake lokacije) (Tabele 16. i 17.).

Kada su u pitanju izračunati BCF za SV i FC (Tabela 16.), bilo je uočljivo da su najveće vrednosti bile zabeležene kod Flr u slučaju korena SV na mestima K (499,55) i G (281,51), kao i da su obe biljne vrste za ovo jedinjenje imale $\text{BCF} > 1$ i to na svim testiranim lokacijama (od 3,20 do 499,55). Na bazi ovih činjenica, može se pretpostaviti da se SV i FC mogu uspešno primeniti u korenskoj fitoekstrakciji Flr, a praktično u njegovoj fitostabilizaciji, jer se rasprostranjenje ovog polutanta očigledno značajno ograničava kada je on "zarobljen", tj. storniran u korenu (Alagić i sar., 2015; Sakshi i sar. 2019; Tarigholizadeh i sar., 2024). Vrednosti BCF veće od 1 su takođe bile primećene za Ace na nekoliko lokacija: FJ, BN, NS i O kod obe biljke i dodatno, kod SV na mestima S, K i G (Tabela 16.).

Na ovom mestu, trebalo bi objasniti da su enormno efektivna usvajanja i koncentrovanja takođe bila prisutna u onim slučajevima gde su zemljišne koncentracije bile na nivou: nd, dok su odgovarajuće korenske koncentracije imale (u manjoj, ili većoj meri) značajne vrednosti. Ovo znači da je ekstrakcija/akumulacija nekih jedinjenja PAU kao što su: 1) BbF+BkF (mesta G, K, BJ i NS) kod SV i 2) BbF+BkF (mesta G, S i BN), kao i DhA (mesta G, K, BJ, O i SN) kod FC, bila na ekstremno visokim nivoima i da su praktično, svi odgovarajući zemljišni sadržaji bili ekstrahovani biljnim korenjem. Zbog toga, u ovim slučajevima VM PAU, izračunavanje odgovarajuće BCF vrednosti nije bilo moguće, ali bi se ti slučajevi takođe mogli svrstati u one kod kojih se ekstrakcija/akumulacija korenjom može sugerisati kao pogodna za fitostabilizaciju. Postojali su još neki slučajevi pojedinačnih jedinjenja PAU gde su se biljke slično ponašale (Tabela 16.), ali ovde je u pitanju bio veoma mali broj ispitivanih lokacija, tako da se neke opšte preporuke, u ovako retkim slučajevima, ne bi mogle formulirati. Izračunavanje stopa akumulacije PAU za slučajeve kod kojih su korenske koncentracije bile na nivou: nd, takođe nije bilo moguće. Ovi slučajevi ukazivali su na potpuno odsustvo korenske ekstrakcije/akumulacije, a posebno kod BaP i CHR (Tabela 13.). Izračunavanje BCF nije bilo moguće ni u slučajevima kada su i korenske i odgovarajuće zemljišne koncentracije nekog jedinjenja bile ispod limita detekcije (Tabele 12. i 13.). Poredeći vrednosti

izračunatih BCF za SV i FC sa ispitivanih lokacija, primećeno je da je generalno posmatrano, SV bila uspešnija u Ace, Flr i Flt usvajanju i akumulaciji, dok je FC bila uspešnija u usvajanju/akumulaciji Nap. Za Acy, Ant, Phe, Pyr, BaA, BbF+BkF i DhA nije se moglo uočiti bilo kakvo pravilo koje bi se moglo upotrebiti u cilju tačnog prepoznavanja uspešnije akcije neke od ove dve biljne vrste.

Tabela 16. Biokoncentracioni faktori (BCF) za PAU kod SV i FC (Papludis i sar., 2025)

Lokacija/Biljka		NM PAU						
		Nap	Acy	Ace	Flr	Ant	Phe	
FJ	SV	0,30	2,77	16,88	5,71	6,10	6,12	
	FC	0,21	1,44	8,91	11,92	6,30	3,90	
BN	SV	0,13	0,08	2,45	3,48	nc	0,85	
	FC	1,90	11,02	1,81	5,12	nc	2,14	
SN	SV	0,15	0,14	0,66	16,60	2,14	1,01	
	FC	0,37	0,88	0,94	4,74	nc	1,12	
NS	SV	0,42	nc	2,09	21,94	nc	4,42	
	FC	0,60	nc	1,55	4,18	nc	1,24	
O	SV	0,13	6,26	4,05	10,07	nc	0,48	
	FC	0,35	0,20	2,34	3,20	nc	1,06	
S	SV	0,35	nc	3,54	8,52	nc	nc	
	FC	1,03	nc	0,62	8,01	nc	0,63	
BJ	SV	0,19	nc	0,41	23,14	nc	0,06	
	FC	0,47	0,09	0,40	3,23	nc	nc	
K	SV	0,27	nc	8,15	499,55	nc	nc	
	FC	0,47	0,09	0,40	3,23	nc	nc	
G	SV	0,14	nc	5,85	258,51	nc	1,08	
	FC	0,55	0,10	0,89	12,27	nc	1,55	
Lokacija/Biljka		VM PAU						
		Flt	Pyr	BaA	CHR	BaP	BbF+BkF	DhA
FJ	SV	0,54	0,39	nc	nc	nc	0,24	nc
	FC	1,26	0,24	1,09	nc	nc	0,45	3,63
BN	SV	0,01	0,01	nc	nc	nc	1,47	0,84
	FC	nc	nc	1,79	nc	nc	nc	nc
SN	SV	1,65	0,59	0,31	nc	nc	nc	nc
	FC	nc	nc	0,13	nc	nc	nc	nc
NS	SV	0,14	0,04	nc	nc	nc	nc	nc
	FC	nc	nc	3,29	nc	nc	nc	nc
O	SV	0,04	0,09	nc	nc	nc	0,46	nc
	FC	nc	nc	nc	nc	nc	nc	nc
S	SV	0,03	0,05	nc	nc	nc	nc	3,19
	FC	nc	nc	0,48	nc	nc	nc	1,18
BJ	SV	5,98	1,59	nc	nc	nc	nc	nc
	FC	nc	nc	0,30	nc	nc	0,85	nc
K	SV	0,95	0,52	nc	nc	nc	nc	nc
	FC	nc	nc	nc	nc	nc	nc	nc
G	SV	0,71	0,32	nc	nc	nc	nc	nc
	FC	nc	nc	nc	nc	nc	nc	nc

SV - *Syringa vulgaris*; FC - *Ficus carica* (cma Petrovača); nc-nemoguće za kalkulaciju/izračunavanje

U slučaju BCF za HH (Tabela 17.), najveća izračunata vrednost bila je uočena za jedinjenje Flr na mestu BN (33,9), što je isto kao i kod SV, samo je u pitanju različita lokacija. Slično SV i FC, sve ostale BCF vrednosti za pomenuto jedinjenje bile su mnogo veće od 1, što onda i ovu biljnu vrstu (HH) takođe preporučuje kao korisnu za fitoekstrakciju Flr i dalju akumulaciju korenom, praktično, za njegovu fitostabilizaciju.

Visoke vrednosti BCF bile su izračunate u slučajevima brojnih lokacija za neke NM PAU. Tako na primer, BCF za Nap, na lokaciji BN bio je 1,5, za Phe – 2,7, na lokaciji FJ, a vrednosti BCF za Ace, varirale su od 1,3 do 17,7, što ukazuje da HH može biti primenjen i u fitostabilizaciji Ace. Interesantno je da je korenje HH maksimalno ekstrahovalo Ant na mestima FJ i G (Tabela 14.), što znači da su vrednosti BCF za ova mesta bile praktično nemoguće za izračunavanje. Slično kao kod Ant, neki VM PAU, poput BkF+BbF i DhA, nisu bili detektovani u više analiziranih zemljišnih uzoraka, tako da ni ovde, BCF vrednosti nisu bile izračunljive – ovde je, u suštini, HH

ekstrahovao sve zemljišne količine, što u krajnjem ukazuje da je i kod ovih jedinjenja moguća uspešna fitostabilizacija. Na mestu SN, vrednost BCF za DhA bila je moguća za izračunavanje (2,8). Situacija sa ovim VM PAU (BkF+BbF i DhA), bila je slična kao i kod SV i FC, a jedna generalna situacija sa VM PAU kod HH, bila je sledeća: većina BCF vrednosti bila je manja od 1, dok su kod NM PAU, BCF veći od 1 bili izračunati za Flt (mesta FJ – 1,6; BN – 1,9; NS – 2,6; S – 5,1 i BJ – 6,1); za Pyr (mesta NS – 2,1; S – 8,3; BJ – 4,5 i G – 2,0) i za BaA (mesta FJ – 1,5 i NS – 3,0). Vrednosti za BaP na svim lokacijama, kao i vrednosti za neka druga jedinjenja poput Acy (mesta FJ, NS, S, K i G), Ant (mesta SN i NS), Phe (mesta SN i G), Flt (mesto SN), BaA (mesta BN, S, K i G) i CHR (mesta BN, SN, NS, O, BJ i K), nisu mogle biti izračunate, u skladu sa činjenicom da HH korenje ovde uopšte nije usvajalo nabrojana jedinjenja iz zemljišta, osim u slučaju CHR na mestu FJ, gde je odgovarajući BCF bio 1,5.

Tabela 17. Biokoncentracioni faktori (BCFs) za PAU kod HH (Papludis i sar., 2023a)

Lokacija	NM PAU						
	Nap	Acy	Ace	Flr	Ant	Phe	
FJ	0,2	nc	3,2	18,0	nc	2,7	
BN	1,5	1,1	6,7	33,9	0,5	0,6	
SN	0,2	0,04	0,9	9,2	nc	nc	
NS	0,3	nc	1,6	24,0	nc	0,8	
O	0,2	0,1	1,3	3,6	0,2	0,7	
S*	0,4	nc	17,7	25,1	nc	0,9	
BJ	0,2	1,6	0,8	6,2	nc	0,7	
K	0,3	nc	1,6	7,6	nc	0,8	
G	0,3	nc	3,7	23,6	nc	nc	
Lokacija	VM PAU						
	Flt	Pyr	BaA	CHR	BaP	BbF+BkF	DhA
FJ	1,6	0,2	1,5	1,5	nc	nc	nc
BN	1,9	0,1	nc	nc	nc	nc	nc
SN	nc	0,1	0,2	nc	nc	0,7	2,8
NS	2,6	2,1	3,0	nc	nc	nc	nc
O	0,2	0,2	0,2	nc	nc	nc	nc
S*	5,1	8,3	nc	nc	nc	nc	nc
BJ	6,1	4,5	0,3	nc	nc	nc	nc
K	0,4	0,1	nc	nc	nc	0,5	0,9
G	0,4	2,0	nc	nc	nc	0,6	nc

HH – *Hedera helix*; * - Rezultati za lokaciju S nisu prikazani u Papludis i sar. (2023a) (oni su dobijeni na potpuno identičan način kao i svi ostali); nc - nemoguće za kalkulaciju/izračunavanje

Poredeći BCF vrednosti među svim ispitivanim biljnim vrstama u ovoj doktorskoj disertaciji, može se uočiti da su one bile na najrazličitijim nivoima, ali i da su jedinjenja poput Flr, BkF+BbF i DhA, bila najefektnije usvajana/akumulirana, dok su jedinjenja kao što su BaP i CHR, bila potpuno isključena iz usvajanja korenom (osim na jednoj lokaciji za CHR).

Podaci dobijeni analizom BCF, pružili su veoma koristan uvid u korensko usvajanje/akumulaciju ispitivanih PAU jedinjenja od strane različitih biljaka, a važno je i da je samo variranje, raznolikost i neujednačenost u visini BCF vrednosti za NM i VM PAU, dalo neku vrstu potvrde da hemijska struktura, kao i fizičko-hemijske osobine samih jedinjenja nisu imale neki značajniji uticaj na usvajanje i akumulaciju PAU. Naime, pokazalo se da su različite vrste biljaka različito akumulirale različita jedinjenja – neke su bolje usvajale NM PAU na pojedinim lokacijama, a neke VM PAU, a kod nekih i nije bilo ma kakvih sličnih pravila, tako da je bilo teško razlučiti konkretne kapacitete svake pojedinačne vrste. Jedini pouzdani zaključak koji bi se mogao definisati je da su sve biljke sposobne da akumuliraju značajne količine različitih PAU u svom korenju (a posebno Flr, BkF+BbF i DhA) i da su, kao takve, primenjive u njihovoj fitostabilizaciji. Suštinski, dobijeni podaci su više išli u prilog pretpostavkama da su možda neki od merenih zemljišnih parametara, ili, u konačnom – sama biljna vrsta, imali odlučujući uticaj na posmatrane procese, tako da je bilo potrebno uraditi i dodatna ispitivanja koja bi objasnila te uticaje.

Najefektivnija metoda u ovom pogledu je statistička metoda utvrđivanja značajnih korelacija između vrednosti korenskih i odgovarajućih zemljišnih koncentracija, kao i vrednosti zemljišnih pH, OM i EC, odnosno, Pearson-ova korelaciona studija, a koja ukazuje na statistički značajne korelacije (tj., odnose, uticaje određenih parametara). Ovom metodom se može ispitati i uticaj parametra udaljenosti lokacije (U) od tačkastog izvora zagađenja (u konkretnom slučaju: udruženo delovanje otpadnih materija iz industrijske zone, tj. postrojenja rudarsko/metalurškog kompleksa i postrojenja gradske toplane) na detektovane koncentracije PAU.

Tabele PCS1.-PCS3., priložene na kraju ove doktorske disertacije, u okviru posebno formiranog Priloga 1, upravo daju uvid u korelacije, tj. zavisnost koncentracija PAU od parametra U i to za slučajeve koncentracija PAU u ispitivanim zemljišnim i korenskim uzorcima svake biljne vrste ponaosob.

Iz obračunatih vrednosti Pearson-ovih korelacionih koeficijenata (p) za SV (Tabela PCS1.), bilo je očigledno da su sve zemljišne koncentracije PAU bile u negativnim korelacijama sa parametrom U, osim u slučaju BaP. Naime, BaP koncentracije bile su u (slaboj) pozitivnoj korelaciji sa ovim parametrom, što je lako primetno po veoma niskoj vrednosti odgovarajućeg Pearson-ovog koeficijenta u ovom primeru: $p = 0,280$ (Tabela PCS1.). Korenske koncentracije kod SV imale su uglavnom negativne korelacione koeficijente u odnosu na U, ali u nekoliko slučajeva i pozitivne: za Ace, $p = 0,040$, za Flr, $p = 0,762^*$ i za DhA, $p = 0,135$ (koeficijent za Flr bio je čak i na statistički značajnom nivou, što je obeleženo zvezdicom u superskriptu) (Tabela PCS1.). Kako pozitivne korelacije znače da sa porastom jednog parametra raste i drugi parametar (iz ispitivanog para) (Miler i Miler, 2005), to se može konstatovati da u konkretnom slučaju, pozitivne korelacije imaju značenje da su sa povećanjem udaljenosti, rasle i koncentracije odgovarajućih PAU na konkretnoj lokaciji, dok su negativne korelacije ukazale da su sa većim udaljenjem lokacije (tj. povećanjem U), koncentracije odgovarajućih PAU opadale. S obzirom da su u većini slučajeva, koncentracije PAU opadale sa porastom U (zaključak na bazi brojnih negativnih korelacija), može se pretpostaviti da rudarsko/metalurška postrojenja i postrojenja gradske toplane jesu izvori većine ispitivanih PAU, što i nije bilo neočekivano. Međutim, s obzirom da ogromna većina obračunatih Pearson-ovih korelacionih koeficijenata nije bila na statistički značajnim nivoima, već samo na niskim, do srednjim nivoima (bez ikakvih statističkih značajnosti, tj., bez ikakve pouzdanosti), može se zaključiti da uticaj pomenutih (prostorno veoma bliskih) tačkastih izvora na sadržaj PAU u zemljištu, nije bio od ključne važnosti i da se, u suštini, ova postrojenja ne mogu smatrati glavnim izvorima PAU u borskom regionu, kao što je to ranije bilo dokazano u slučaju teških metala, glavnih zagađujućih materija u široj oblasti istog regiona (Alagić i sar., 2019; Alagić, 2022). Ovo dalje ukazuje na prisustvo i nekih drugih izvora PAU, koji mogu uključiti i druge tačkaste, ili difuzne izvore, ranije pomenute u opisu samog regiona: saobraćaj baziran na klasičnim pogonskim gorivima, koji je u stalnom porastu u svim zonama, ložišta u individualnim domaćinstvima u svim zonama, kontrolisano spaljivanje strnih useva u poljoprivrednim zonama, svake godine, tokom jeseni, povremeni slučajni požari u šumama, ali i ruralnim delovima i takođe, spontana sagorevanja na gradskoj deponiji u UIZ.

Iako sa drugačijim iznosima u odnosu na SV, obračunati Pearson-ovi korelacioni koeficijenti kod FC i HH (Tabele PCS2. i PCS3., respektivno), koji pokazuju odnose između parametra U i zemljišnih, ali i korenskih koncentracija PAU, ipak su vodili ka sličnim opštim zaključcima. Jedino, kod ove dve biljne vrste, broj pozitivnih korelacija (posmatrajući i korenske i zemljišne korelacije), bio je nešto veći nego u slučaju SV (Tabela PCS1.), što takođe ide u prilog činjenici da industrijska zona (sa gradskom toplanom) u Boru ne predstavlja ni glavni, a ni jedini

izvor PAU u ispitivanom području, kao i da i drugi, već nabrojani tačkasti, ali i difuzioni izvori, mogu imati značajne doprinose u detektovanim sadržajima PAU.

S obzirom da je u analizi i generalnom razumevanju usvajanja/akumulacije PAU u korenju ispitivanih biljaka (a naročito iznosa vrednosti BCF), bilo signala da je, osim parametra U, u ovim procesima bilo važno sagledati i nivo mogućih uticaja brojnih zemljišnih parametara, to je PCS bila iskorišćena i za utvrđivanje odnosa između zemljišnih koncentracija PAU, zemljišnog pH, EC i OM (Tabele PCS1.-PCS3.).

U slučaju SV, rezultati PCS (Tabela PCS1.), pokazali su da su zemljišni parametri pH, EC i OM imali niske i ponekad srednje korelacije sa korenskim koncentracijama (sa pozitivnim, ali i negativnim predznakom, tj. karakterom). Dodatno, ovde je izostajala dominacija neke od njih, tj., neki pojedinačni PAU imali su pozitivne, dok su drugi imali negativne korelacione koeficijente sa zemljišnim pH, EC, ili OM. Jedina korelacija sa statistički značajnom vrednošću bila je primećena u slučaju korelacije između zemljišne OM i korenske Flr koncentracije, OM-FlrKR: $p = -0,788^*$, što znači da su lokacije sa visokim vrednostima OM u zemljištu imale veoma niske koncentracije Flr u korenu (i suprotno). Ovo takođe znači da jedino u slučaju usvajanja/akumulacije Flr u korenu SV, parametar "OM zemljišta" može biti smatran kao faktor od uticaja, ili kontrolišući (zemljišni) faktor. Dodatno, ovaj Pearson-ov koeficijent potvrđuje da su najveće korenske koncentracije Flr kod SV bile nađene upravo na mestima K i G (Tabela 13.), gde je sadržaj zemljišne OM bio na najnižem nivou (Tabela 8.). Vrednosti svih ostalih korelacija kod SV sugerišu da su ovde postojale različite vrste uticaja merenih zemljišnih parametara, ali da oni nisu bili na nekim snažnim, ili kontrolišućim nivoima.

U slučaju FC (Tabela PCS2.), situacija sa merenim zemljišnim parametrima bila je slična — postojale su brojne pozitivne i negativne korelacije, sa samo jednim statistički značajnim koeficijentom za relaciju: EC-FlrKR: $p = 0,694^*$. Naime, lokacije sa visokim vrednostima za zemljišni parametar EC, (Tabela 8.), takođe su imale veoma visoke koncentracije Flr u korenu (Tabela 13.).

Najveći broj statistički značajnih koeficijenata, vezanih za uticaj pH, OM i EC u zemljištu, na korenske koncentracije bio je zabeležen kod HH (Tabela PCS3.) i to u slučajevima: za pH-PheKR, $p = -0,743^*$, za OM-PyrKR, $p = -0,684^*$, za pH-CHRKR: $p = -0,888^{**}$ i za EC-CHRKR: $p = 0,981^{**}$, ali je situacija sa ostalim korelacijama bila slična kao i kod SV i FC, tj., većina njih je bila na nivoima koji nisu bili od (statističkog) značaja, tako da, suštinski, i kod HH, ovi parametri nisu imali kontrolišuću ulogu u korenskom usvajanju/akumulaciji većine PAU.

Na osnovu izloženih korelacija, može se reći, da osim u navedenim slučajevima sa statistički značajnim koeficijentima, zemljišni parametri: pH, OM i EC, nisu igrali značajniju, tj. kontrolišuću ulogu u usvajanju/akumulaciji PAU korenom.

Osim pomenutih, PCS je iskorišćena i za ispitivanje odnosa između detektovanih zemljišnih koncentracija PAU (kao još jedan od merenih zemljišnih parametara), sa detektovanim korenskim koncentracijama (Tabele PCS1.-PCS3.). I ovde je PCS pokazala brojne niske, srednje, pa i visoke korelacije sa pozitivnim, ili negativnim karakterom, ali je bilo i dosta njih sa statističkom značajnošću, sa napomenom da kod odgovarajućih (korespondentih) korenskih i zemljišnih parova PAU, nisu bili uočeni statistički značajni koeficijenti.

Tako na primer, korelacije između ispitivanih pojedinačnih PAU u korenju i odgovarajućih zemljišnih koncentracija (Tabele PCS1.-PCS3.) bile su kao što sledi:

- 1) za Nap kod SV: $p = 0,215$; kod FC: $p = -0,157$ i kod HH: $p = -0,146$;
- 2) za Acy kod SV: $p = 0,104$; kod FC: $p = -0,270$ i kod HH: $p = -0,232$;

- 3) za Ace kod SV: $p = 0,152$; kod FC: $p = -0,267$ i kod HH: $p = -0,364$;
- 4) za Flr kod SV: $p = -0,419$; kod FC: $p = 0,608$ i kod HH: $p = -0,193$;
- 5) za Ant kod SV: $p = -0,168$; kod FC: $p = -0,183$ i kod HH: $p = 0,023$;
- 6) za Phe kod SV: $p = -0,043$; kod FC: $p = -0,279$ i kod HH: $p = 0,016$;
- 7) za Flt kod SV: $p = -0,143$; kod FC: $p = -0,213$ i kod HH: $p = -0,069$;
- 8) za Pyr kod SV: $p = -0,130$; kod FC: $p = -0,235$ i kod HH: $p = -0,250$;
- 9) za BaA kod SV: $p = -0,082$; kod FC: $p = 0,609$ i kod HH: $p = 0,408$;
- 10) za CHR kod HH: $p = -0,228$
- 11) za BbF+BkF kod SV: $p = -0,560$; kod FC: $p = -0,442$ i kod HH: $p = -0,084$;
- 12) za DhA kod SV: $p = -0,346$; kod FC: $p = -0,258$ i kod HH: $p = 0,220$,

Očigledno, mnoge od ovih korelacija bile su na veoma niskom nivou, a mnoge i sa negativnim predznakom (osim u slučajevima za Nap, Acy i Ace kod SV, za Flr i BaA kod FC, kao i za Ant, Phe, BaA i DhA kod HH), što odražava smanjenje u usvajanju PAU sa porastom (korespondirajuće) zemljišne koncentracije (mada, na jednom niskom nivou) posmatrano po različitim lokacijama. Ovo je neuobičajeno, jer je opšte poznato da, u većini slučajeva, korenske/biljne koncentracije imaju pozitivne korelacije sa odgovarajućim koncentracijama u zemljištu, tako da ovo odražava najčešću pojavu da, ukoliko zemljišne koncentracije rastu, onda rastu i koncentracije u biljnim delovima. Iz tih razloga, ova konkretna zapažanja, kao i prethodna (koja se odnose na ispitivanja uticaja pH, OM i EC), mogu predstavljati još jednu indikaciju da svi ovi ispitani parametri, u ogromnoj većini slučajeva, ne igraju nikakvu ključnu ulogu u korenskom usvajanju/akumulaciji PAU, već da očigledno, svaka biljna vrsta ima i razvija svoj, specifični mehanizam u odnosu na pojedine PAU (kao dobro poznata toksična jedinjenja), uključujući tu verovatno i različite uloge različitih sadržaja membranskih lipida, transportnih proteina, kao i različitih vrsta izlučenih korenskih ekskudata (Alagić i sar., 2015; Tarigholizadeh i sar., 2024). U tom smislu, može se smatrati da je svaka ispitivana biljna vrsta za pojedina jedinjenja PAU, razvila strategiju dobrog usvajanja i efektivne tolerancije unutar tkiva korena (što su odrazili slučajevi sa visokim i ekstremno visokim vrednostima BCF), dok je za neka druga jedinjenja bila razvijena taktika izbegavanja usvajanja, pri čemu se može uočiti da su kod izvesnih jedinjenja samo neke količine bile toksične (u slučaju brojnih lokacija za Acy, Ant, Flt, Pyr, BaA), dok su CHR i BaP najverovatnije bili toksični u bilo kojoj (zemljišnoj) količini (Tabele 12-14.). Jedini izuzetak za CHR postojao je kod HH na lokaciji FJ. Za razliku od ovoga, Alagić i sar. (2016) su pokazali da je analizirano korenje divlje kupine (sa identičnih lokacija) bilo veoma tolerantno prema BaP, jer je bilo sposobno da akumulira njegove značajne količine, vrlo često na BCF nivoima nešto višim od 1. Ovaj detalj ističe divlju kupinu kao izuzetno tolerantnu prema BaP, tj. kao njegov dobar akumulator, što je dalje važno za primenu divlje kupine u fitoremedijaciji ovog kancerogenog jedinjenja, naravno u smislu njegove dobre korenske akumulacije.

Sa druge strane, neki statistički značajni koeficijenti bili su nađeni u slučajevima relacija između više pojedinačnih korenskih PAU i različitih jedinjenja PAU u odgovarajućim uzorcima zemljišta:

- 1) kod SV: AntKR-BbF+BkFZ, $p = 0,678^*$; PheKR-BaPZ, $p = -0,740^*$ (Tabela PCS1.);
- 2) kod FC: AcyKR-BaPZ, $p = -0,899^{**}$; FlrKR-AntZ, $p = 0,772^*$; BaAKR-PyrZ, $p = 0,766^*$; BaAKR-CHRZ, $p = 0,884^{**}$; BaAKR-BbF+BkFZ, $p = 0,879^{**}$; BaAKR-DhAZ, $p = 0,787^*$; BbF+BkFKR-BaPZ, $p = -0,795^*$; DhAKR-NapZ, $p = -0,686^*$ (Tabela PCS2.) i
- 3) kod HH: FltKR-BbF+BkFZ, $p = -0,717^*$ (Tabela PCS3.).

Ovakva situacija je znak da su u slučajevima ispitivanih biljaka, lokacije sa visokim zemljišnim koncentracijama nekih PAU takođe imale i veoma visoke koncentracije određenih korenskih PAU (i obrnuto, u slučajevima negativnih korelacija). Verovatno je da su neki zemljišni PAU doprinosili, tj. poboljšavali usvajanje nekih drugih PAU. Istovremeno, pokazalo se i da su neki zemljišni PAU otežavali usvajanje različitih PAU (malobrojne značajne korelacije sa negativnim predznakom). Ove činjenice mogu dalje da ukažu da su prilikom usvajanja PAU, postojali neki snažni kompetitivni, ali takođe i neki sinergistički efekti među ispitivanim PAU na odabranim lokacijama, koji se zato, u izvesnoj meri mogu smatrati uticajnim faktorima. Sve ostale KR-Z korelacije (i pozitivne i negativne) bile su uglavnom na veoma niskim nivoima i samo ponekad na srednjim, što znači da se ni kod ovakvih relacija nisu otkrili neki značajniji odlučujući faktori usvajanja/akumulacije u korenju.

Statistički značajne, pa samim tim i uticajne korelacije bile su takođe nađene između koncentracija nekih individualnih korenskih PAU, kao što su sledeći primeri:

1) kod SV: FltKR–PyrKR, $p = 0,992^{**}$; FltKR–BaAKR, $p = 0,847^{**}$; PyrKR–BaAKR, $p = 0,893^{**}$ (Tabela PCS1.),

2) kod FC: AcyKR–BbF+BkFKR, $p = 0,782^{*}$; AceKR–AntKR, $p = 0,868^{**}$; AceKR–PheKR, $p = 0,757^{*}$; AceKR–FltKR, $p = 0,868^{**}$; AceKR–PyrKR, $p = 0,868^{**}$; AntKR–PheKR, $p = 0,745^{*}$; AntKR–FlrKR, $p = 1,000^{**}$; AntKR–PyrKR, $p = 1,000^{**}$; PheKR–FltKR, $p = 1,000^{**}$; PheKR–PyrKR, $p = 0,745^{*}$; FltKR–PyrKR, $p = 1,000^{**}$ (Tabela PCS2.) i

3) kod HH: AcyKR–NapKR, $p = 0,764^{*}$; FlrKR–AceKR, $p = 0,672^{*}$; AntKR–AceKR, $p = 0,889^{**}$; FltKR–NapKR, $p = 0,819^{*}$; FltKR–AcyKR, $p = 0,748^{*}$; BaAKR–PyrKR, $p = 0,695^{*}$; CHRKR–PheKR, $p = 0,795^{*}$ (Tabela PCS3.).

Očigledno, ispitivane lokacije imale su ponekad različite parove korenskih PAU sa (isključivo) pozitivno korelisanim koncentracijama na jednom značajnom nivou, a slično slučaju sa KR-Z relacijama (i sa pozitivnim i sa negativnim koeficijentima), ogromna većina ostalih korelacija bila je na veoma niskim i samo ponekad na srednjim nivoima značajnosti.

Statistički značajne korelacije bile su nađene i između različitih parova zemljišnih PAU:

1) kod SV: NapZ–FlrZ, $p = 0,870^{**}$; NapZ–BbF+BkFZ, $p = 0,668^{*}$; AcyZ–AntZ, $p = 0,809^{**}$; AcyZ–FltZ, $p = 0,827^{**}$; AcyZ–PyrZ, $p = 0,842^{**}$; AcyZ–BaAZ, $p = 0,859^{**}$; AcyZ–CHRZ, $p = 0,798^{*}$; AceZ–PheZ, $p = 0,850^{**}$; AceZ–PheZ, $p = 0,850^{**}$; AntZ–PheZ, $p = 0,744^{*}$; AntZ–FltZ, $p = 0,984^{**}$; AntZ–PyrZ, $p = 0,983^{**}$; AntZ–BaAZ, $p = 0,973^{**}$; AntZ–CHRZ, $p = 0,987^{**}$; AntZ–BaPZ, $p = -0,677^{*}$; PheZ–FltZ, $p = 0,750^{*}$; PheZ–PyrZ, $p = 0,734^{*}$; PheZ–BaAZ, $p = 0,697^{*}$; PheZ–CHRZ, $p = 0,762^{*}$; PheZ–BaAZ, $p = 0,697^{*}$; FltZ–PyrZ, $p = 0,997^{**}$; FltZ–BaAZ, $p = 0,987^{**}$; FltZ–CHRZ, $p = 0,997^{**}$; FltZ–DhAZ, $p = 0,694^{*}$; PyrZ–BaAZ, $p = 0,984^{**}$; PyrZ–CHRZ, $p = 0,993^{**}$; PyrZ–BaPZ, $p = -0,697^{*}$; CHRZ–DhAZ, $p = 0,709^{*}$; BaAZ–CHRZ, $p = 0,983^{**}$ (Tabela PCS1.),

2) kod FC: AcyZ–AceZ, $p = 0,842^{**}$; AcyZ–FlrZ, $p = 0,728^{*}$; AcyZ–PheZ, $p = 0,811^{**}$; AcyZ–FltZ, $p = 0,768^{*}$; AcyZ–PyrZ, $p = 0,727^{**}$; AcyZ–BaAZ, $p = 0,831^{**}$; AceZ–FlrZ, $p = 0,921^{**}$; AceZ–AntZ, $p = 0,768^{*}$; AceZ–PheZ, $p = 0,900^{**}$; FlrZ–AntZ, $p = 0,671^{*}$; FlrZ–PheZ, $p = 0,941^{**}$; AntZ–PheZ, $p = 0,759^{*}$; AntZ–FltZ, $p = 0,867^{**}$; AntZ–PyrZ, $p = 0,706^{*}$; AntZ–BaAZ, $p = 0,788^{**}$; PheZ–FltZ, $p = 0,737^{*}$; PheZ–BaAZ, $p = 0,713^{*}$; FltZ–PyrZ, $p = 0,957^{**}$; FltZ–BaAZ, $p = 0,900^{**}$; FltZ–CHRZ, $p = 0,849^{**}$; FltZ–DhAZ, $p = 0,829^{**}$; PyrZ–BaAZ, $p = 0,882^{**}$; PyrZ–DhAZ, $p = 0,953^{**}$; BaAZ–CHRZ, $p = 0,771^{**}$; BaAZ–DhAZ, $p = 0,868^{**}$; CHRZ–DhAZ, $p = 0,815^{**}$ (Tabela PCS2.) i

3) kod HH: FlrZ-AceZ, $p = 0,882^{**}$; AntZ-AceZ $p = 0,744^*$; PheZ-FlrZ, $p = 0,759^*$; FltZ-AceZ, $p = 0,736^*$; FltZ-AntZ, $p = 0,864^{**}$; FltZ-PheZ, $p = 0,914^{**}$; PyrZ-AceZ, $p = 0,720^*$; PyrZ-AntZ, $p = 0,820^{**}$; PyrZ-PheZ, $p = 0,920^{**}$; PyrZ-FltZ, $p = 0,994^{**}$; BaAZ-AceZ, $p = 0,825^{**}$; BaAZ-AntZ, $p = 0,829^{**}$; BaAZ-FltZ, $p = 0,744^*$; BaAZ-PyrZ, $p = 0,721^*$; CHRZ-AcyZ, $p = 0,685^*$; CHRZ-AceZ, $p = 0,768^*$; CHRZ-AntZ, $p = 0,720^*$; CHRZ-FltZ, $p = 0,829^{**}$; CHRZ-PyrZ, $p = 0,844^{**}$; DhAZ-AcyZ, $p = 0,943^{**}$; DhAZ-AceZ, $p = 0,700^*$; DhAZ-FlrZ, $p = 0,689^*$ (Tabela PCS3.).

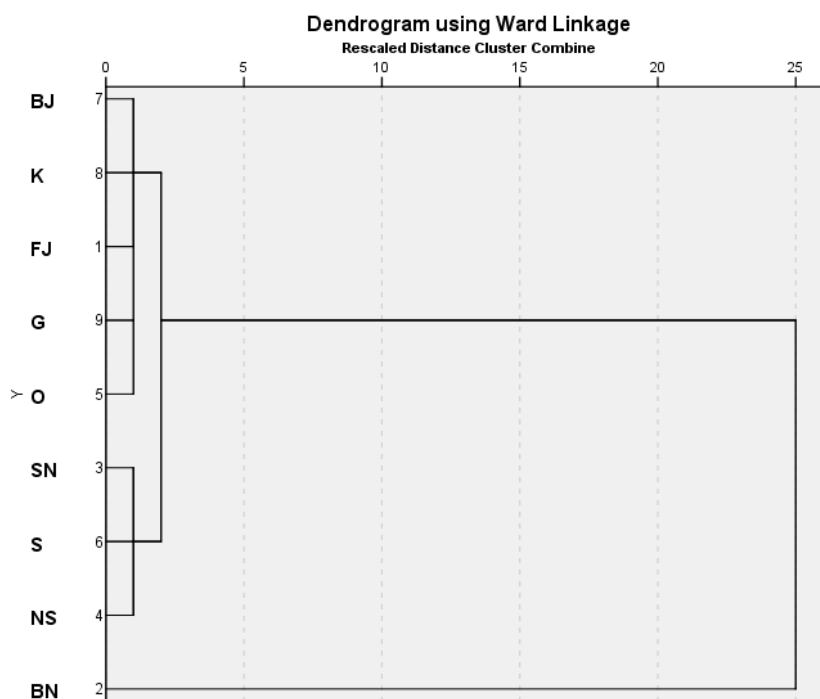
Ostatak korelacija za Z-Z PAU koncentracije bile su na niskom, ili srednjem nivou, što ukazuje na slabe međusobne uticaje.

Kao što se može videti iz prezentovanih Pearson-ovih koeficijenata, maksimalni broj statistički značajnih korelacija bio je prisutan upravo u poslednjem izloženom primeru, tj., u slučaju različitih parova zemljišnih PAU (za svaku biljnu vrstu ponaosob). Brojni autori pružili su dokaze da veliki broj identifikovanih parova polutanata u zemljištu (ili nekom drugom, pogodnom matriksu), sa značajnim pozitivnim korelacijama, mogu predstavljati potvrdu o njihovom zajedničkom poreklu - najčešće u smislu: atmosferskom (što se obično svodi na antropogene izvore), ili dijagenetskom (što se pak uglavnom svodi na prirodne procese u zemljištu) (Fu i sar., 2014). Naime, kao što je ranije razjašnjeno, iako pretežno antropogenog porekla, neke minorne količine PAU u zemljištu takođe mogu poticati i od prirodnih procesa (postojećih u samom zemljištu) (Idowu i sar., 2019; Vane i sar., 2014). Takođe, kako zbog njihove rekalcitrantske prirode, PAU mogu formirati i jedan značajan rekalcitrantski pul u zemljištu, to oni na taj način mogu reflektovati i stanje koje nije trenutne prirode, već je posledica jednog dugogodišnjeg izlaganja samog zemljišta PAU zagađenju, pa se može desiti da neki detektovani PAU potiču i od kontaminacije koja je ranijih godina dospela takođe iz atmosfere (Lourenço i sar., 2023; Ukalska-Jaruga i Smreczak, 2020). Na osnovu ovih činjenica, realno je pretpostaviti da je uzorkovano zemljište iz grada Bora i njegove okoline takođe sadržalo obe vrste PAU — i prirodne i antropogene, formirane na pirogeni, petrogeni, dijagenetski, ili biogeni način. Ogroman broj značajnih pozitivnih korelacionih koeficijenata (≈ 1) između parova različitih zemljišnih PAU (za svaku biljnu vrstu) sugerise da je njihovo poreklo veoma slično, najverovatnije atmosfersko (praktično, antropogeno) i verovatno skorijeg datuma, dok brojne negativne korelacije između BaP i drugih zemljišnih PAU sugerisu da je ovo jedinjenje imalo najrazličitije poreklo, pre svega prirodno (najverovatnije dijagenetsko, ili biogeno), ali moguće i antropogeno u smislu akumulacije atmosferskih taloženja iz ranijih godina, u okviru rekalcitrantskog pula. Ovo je posebno primetno u zemljištu SV, gde je BaP bio u negativnim korelacijama sa svim ostalim PAU, bez ikakvog izuzetka, a posebno sa Ant i Pyr (Tabela PCS1.). Ovo jedinjenje je i kod druge dve ispitivane biljne vrste, naime, FC i HH, u najvećem broju slučajeva bilo u negativnim korelacijama sa ostalim PAU jedinjenjima, ali one nisu bile na statistički značajnim nivoima (Tabele PCS2. i 3., respektivno).

Svi objašnjeni detalji za ispitivane matrikse, naime, zemljište i korenje, ukazuju da su procesi tokom PAU ekstrakcije/akumulacije očigledno veoma složeni i komplikovani i podržavaju neke slične detalje koji su takođe bili uočeni i kod divlje kupine iz borskog regiona (Alagić i sar., 2016, 2017). Prva sličnost među svim ovim biljkama je da biljno korenje nema tu sposobnost da tačno reflektuje aktuelnu situaciju sa PAU u zemljištu, tako da se ono ne može preporučiti za primenu u klasičnim fitomonitoring procedurama kao pouzdan alat u detekciji zemljišnog zagađenja. Sledeća sličnost je da se nivo jednog trenutnog nivoa zemljišnog zagađenja (a koje je ujedno i odraz višegodišnjeg zagađenja) može pouzdanije proceniti na osnovu analize samih zemljišnih uzoraka i koja takođe može obezbediti određene korisne indikacije u odnosu na poreklo i moguće izvore individualnih PAU. Konačno, biljne vrste ispitivane u ovoj doktorskoj disertaciji,

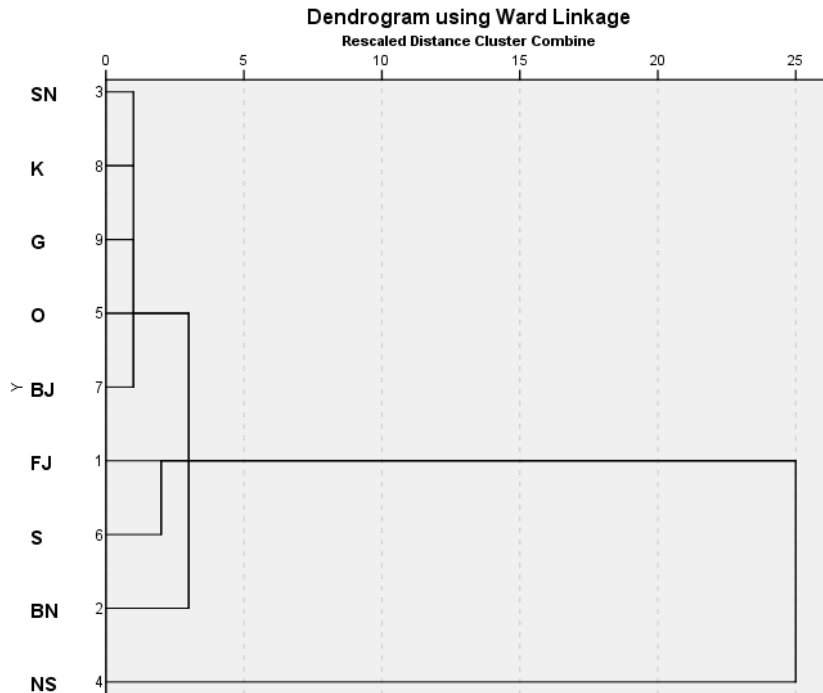
pokazale su različite sposobnosti u postupanju sa različitim pojedinačnim PAU, jer očigledno, svaka biljna vrsta je ispoljila svoju jedinstvenu sposobnost, osetljivost i toleranciju u odnosu na većinu PAU. Jedino u nekoliko već pomenutih slučajeva, ispitivane biljke su razvile potpuno sličnu strategiju, a posebno u odnosu na BaP i CHR, totalno ih isključujući iz usvajanja, što je ujedno i najveća razlika u poređenju sa divljom kupinom.

Specifičnosti odabranih biljnih vrsta očigledno su ilustrovane, tj. reflektovane preko različitih klasifikacija ispitivanih lokacija u odgovarajućim hijerarhijskim dendrogramima urađenim za analizirano biljno korenje i korespondirajuće zemljište, a u svrhe biomonitoringa zemljišta, tj. klasifikacija ispitivanih lokacija na osnovu njihovih sličnosti (Slike 42-47.). Oni su, kao što je i pomenuto, dobijeni na osnovu obrade korenskih i zemljišnih koncentracija (razdvojeno) kod ispitivanih biljaka i to u programu SPSS, koristeći statističku proceduru HCA, uz metodu Ward-a i kvadrat Euclidean-udaljenosti kao merni interval.



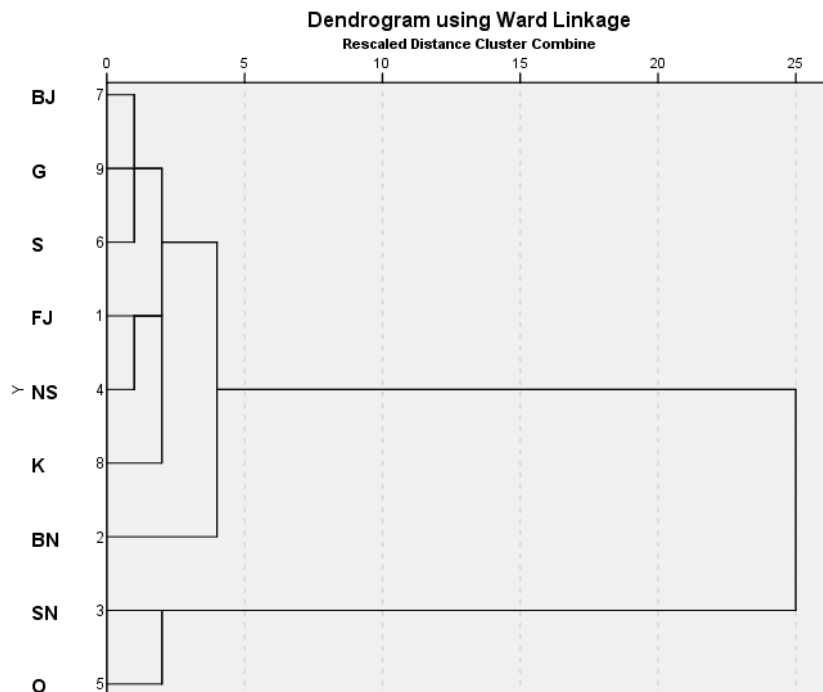
Slika 42. Klasifikacija ispitivanih lokacija bazirana na zemljišnim PAU koncentracijama SV

U slučaju SV, hijerarhijski dendrogram baziran na zemljišnim koncentracijama (Slika 42.), uočljivo je različit od onog koji je bio baziran na korenskim koncentracijama (Slika 43.). Iako oba dendrograma imaju dva glavna klastera, raspored lokacija je potpuno različit. Dendrogram baziran na zemljišnim koncentracijama (Slika 42.), razdvojio je UI lokaciju BN (kao najzagađeniju) od ostalih, u vidu jednog izolovanog (prvog) glavnog klastera, dok se prvi glavni klaster u dendrogramu baziranom na korenskim koncentracijama (Slika 43.), sastojao od dve R lokacije: K-G. Drugi glavni klaster u dendrogramu baziranom na zemljišnim koncentracijama bio je konstituisan od dva glavna podklastera sastavljena od brojnih drugih podklastera u grupisanju kao što sledi: NS-S-SN/O-G-FJ-K-BJ, dok je drugi glavni klaster u dendrogramu baziranom na korenskim koncentracijama bio mnogo jednostavnije konstitucije: NS-BJ-SN-S-O-BN-FJ.

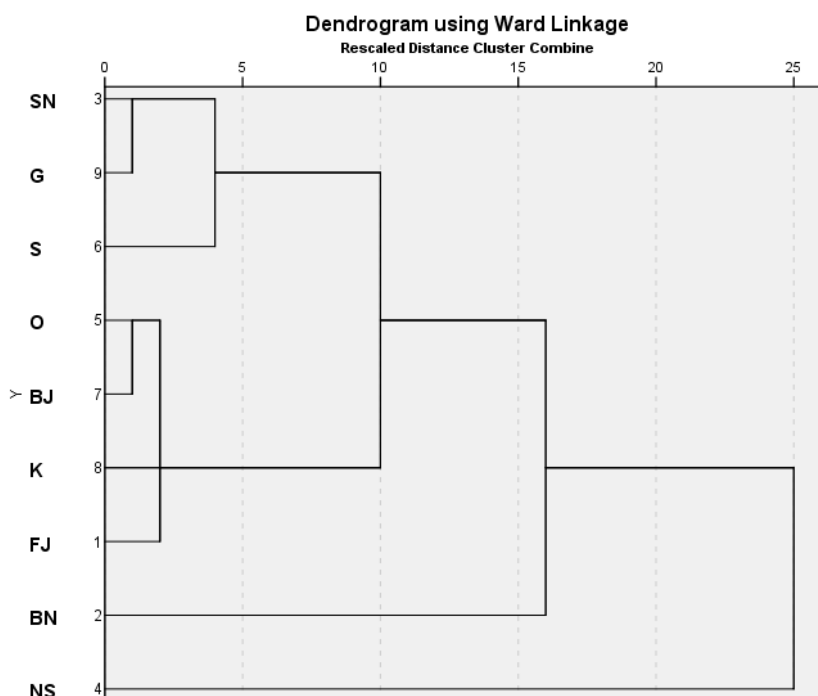


Slika 45. Klasifikacija ispitivanih lokacija bazirana na korenskim PAU koncentracijama FC

Takođe je bila očigledna i izmešanost u grupisanju UI i R lokacija kod svih dendrograma (nije bilo jasne razlike u grupisanju mesta iz UI i R zone) (Slike 42-47.). Opet, ovo ukazuje na uticaje različitih izvora PAU na zagađenje zemljišta u ispitivanom regionu.



Slika 46. Klasifikacija ispitivanih lokacija bazirana na zemljišnim PAU koncentracijama HH



Slika 47. Klasifikacija ispitivanih lokacija bazirana na korenskim PAU koncentracijama HH

Ovi dendrogrami, bazirani na zemljišnim (Slike 42., 44. i 46.) i korenskim (Slike 43., 45. i 47.) koncentracijama kod različitih biljnih vrsta, predstavljali su definitivnu potvrdu da ispitivano korenje ne može da ilustruje prisutnu, autentičnu situaciju u zemljištu, što dalje definitivno ukazuje i na nesigurnu upotrebu SV, FC i HH korenja u klasično osmišljenim procedurama monitoringa zemljišta. Dodatno, ne sme se izgubiti iz vida činjenica da zabeleženo stanje sa pojedinim PAU u zemljištu, može biti i posledica dugogodišnje kontaminacije i akumulacije u zemljištu, kao i da korenje biljaka usvaja PAU jedinjenja u zavisnosti od više faktora, a najviše u zavisnosti od osetljivosti same biljne vrste prema pojedinačnim PAU. Ipak, očigledno je da je analiza zemljišnih uzoraka obezbedila informativnije podatke o trenutnom stanju zemljišta nego analiza korena, dok je analiza korena pokazala da vegetacija, usvajanjem i akumuliranjem PAU u korenu, može da utiče na smanjenje sadržaja PAU u zemljištu. Stoga je potrebno istaći da je u monitoringu zemljišnih PAU možda sigurnije odabrati uzorke zemljišta bez vegetacije. Ovde treba pomenuti da biljno korenje, sa svojim ekskudatima, može uticati i na degradaciju, precipitaciju i druge procese sa PAU u samom zemljištu, tj., u odgovarajućim korenskim zonama, što dodatno menja situaciju u zemljištu. Sa druge strane, s obzirom da i ponašanje mikroba u zemljištu prema PAU može imati slične efekte, a mogu delovati i sinergistički sa samim korenjem, to se može zaključiti da je generalno, utvrđivanje sadržaja PAU u zemljištu izuzetno komplikovano i problematično, kao i da se pre, ali i tokom samog skrininga moraju sagledati svi mogući faktori od uticaja. Kako su se i dendrogrami koji su bili bazirani na koncentracijama u istom matriksu kod različitih biljnih vrsta razlikovali između sebe, naime, kako je klasifikacija lokacija i u ovim slučajevima bila različita (Slike 42., 44. i 46., među sobom i Slike 43., 45. i 47. među sobom), jasno je da je sama biljna vrsta (a moguće i njena interakcija sa rizosfernim mikrobima), ipak predstavljala najznačajniji uticajni faktor pri ekstrakciji/akumulaciji PAU u korenu. Ipak, bez obzira na kompletnu problematiku, činjenica je da se analizom, pre svega zemljišnih uzoraka, može dobiti jedna generalna slika o trenutnoj situaciji u zemljištu i što je najvažnije - o ekstremno visokim koncentracijama PAU, odnosno o koncentracijama na koje bi trebalo delovati pogodnim rehabilitacionim merama.

Kada je u pitanju upotreba biljnih delova u monitoringu atmosferskog zagađenja, već je istaknuto da se u ovom slučaju preporučuje upotreba neopranih nadzemnih delova (najčešće lišća), jer se tada dobijaju rezultati koji daju najbolji uvid u jedan autentični profil kontaminacije koja potiče iz atmosfere (Simon i sar., 2014; Weber i sar. 2014). Rezultati GC/MS analize za neoprene nadzemne delove biljnih vrsta ispitivanih u ovom radu dati su u Tabelama 18-20. za SV, FC i HH, respektivno.

Analiza GC/MS rezultata za nadzemne delove SV (Tabela 18.), pokazala je da su PAU koncentracije u grančicama ove biljke bile od: nd za Acy (mesta BN, NS, O, K i G), za Ant, CHR i BaP (sva mesta), za Flt (mesto S), za Pyr (mesta BJ i K), za BaA (FJ, SN, S, K i G), za BbF+BkF (mesta SN, O i G), za DhA (mesta: FJ, SN, NS, O, S, K i G) do maksimalnih 1200,9 µg/kg za isto jedinjenje na mestu BN i visokih 950,3 µg/kg na mestu BJ. Ove vrednosti za DhA su takođe bile veće od odgovarajuće USEPA RSL za rezidencijsko zemljište, posmatrajući definisane vrednosti za oba kriterijuma (USEPA, 2024), što je slično kao i u nekim slučajevima kod korena, a što dalje znači da bi eventualni kontakt sa grančicama SV na mestima BN i BJ, mogao da predstavlja rizik od navedenog jedinjenja za kožu čoveka, na mestima direktnog dodira.

Tabela 18. Koncentracije PAU (µg/kg, SM) u uzorcima grančica i lišća SV

Lokacija/Biljni deo		NM PAU						
		Nap	Acy	Ace	Flr	Ant	Phe	
FJ	GR	11,84 ± 0,22	4,092 ± 0,99	1,19 ± 0,15	424,5 ± 22,6	nd	135,1 ± 7,7	
	L	14,06 ± 0,26	12,2 ± 0,9	17,20 ± 1,35	560,9 ± 52,5	nd	104,7 ± 11,6	
BN	GR	6,78 ± 0,38	nd	17 ± 2	320 ± 18	nd	69,4 ± 3,7	
	L	18,4 ± 0,9	nd	78,2 ± 2,5	225,87 ± 38,29	nd	109,0 ± 15,6	
SN	GR	17,4 ± 0,5	7,58 ± 0,16	16,1 ± 1,9	627 ± 44	nd	16,7 ± 1,8	
	L	4,4 ± 0,21	nd	27,28 ± 1,13	459,15 ± 46,25	nd	401 ± 45	
NS	GR	4,680 ± 0,219	nd	13,15 ± 1,46	477,80 ± 8,68	nd	12,4 ± 0,8	
	L	12,55 ± 1,19	2,27 ± 0,09	26,03 ± 4,15	204,4 ± 161	nd	384,6 ± 23,6	
O	GR	8,2 ± 0,9	nd	12,46 ± 1,67	454,6 ± 20,6	nd	59,6 ± 3,5	
	L	48,77 ± 4,47	nd	4,35 ± 0,47	216,9 ± 3,8	nd	351,6 ± 18,7	
S	GR	9,5 ± 0,9	5,6 ± 0,9	12,7 ± 1,5	530,3 ± 16,8	nd	58 ± 6	
	L	134,9 ± 6,5	11,7 ± 0,7	24,50 ± 5,45	162,45 ± 0,45	nd	223 ± 12	
BJ	GR	8,05 ± 0,24	3,714 ± 0,315	0,78 ± 0,06	463,9 ± 25,9	nd	136,5 ± 7,8	
	L	46,67 ± 3,37	nd	60,34 ± 5,48	317,5 ± 22,6	2,70 ± 0,15	nd	
K	GR	6,16 ± 0,52	nd	1,82 ± 0,25	634,1 ± 24,5	nd	180 ± 36	
	L	19,16 ± 0,75	1,910 ± 0,167	53,13 ± 5,79	277,19 ± 15,75	30,65 ± 1,09	157,2 ± 6,6	
G	GR	11,68 ± 0,8	nd	7,32 ± 0,67	342,36 ± 39,35	nd	72,4 ± 8,7	
	L	47,13 ± 7,35	5,84 ± 0,16	37,37 ± 4,28	1874 ± 63	11,75 ± 1,05	120,1 ± 6,1	
Lokacija/Biljni deo		VM PAU						
		Flt	Pyr	BaA	CHR	BaP	BbF+BkF	
FJ	GR	5,84 ± 0,76	4,58 ± 0,6	nd	nd	nd	2,0 ± 0,5	nd
	L	45,2 ± 3,5	11,9 ± 0,6	nd	nd	nd	nd	nd
BN	GR	17,8 ± 2,5	3,4 ± 0,3	67,9 ± 6,5	nd	nd	2,42 ± 0,19	1200,9 ± 88,5
	L	27,7 ± 0,5	42,6 ± 1,7	nd	nd	nd	2,9 ± 0,5	nd
SN	GR	4,4 ± 0,8	4,4 ± 0,8	nd	nd	nd	nd	nd
	L	23,8 ± 3,4	16,7 ± 1,6	89,0 ± 8,5	nd	nd	nd	nd
NS	GR	60,3 ± 3,5	3,22 ± 0,18	58,6 ± 4,9	nd	nd	4,4 ± 0,5	nd
	L	55 ± 2	56,3 ± 5,9	2 ± 1	nd	nd	nd	174,5 ± 6,8
O	GR	5,02 ± 0,05	4,8 ± 0,8	79,6 ± 5,4	nd	nd	nd	nd
	L	20,74 ± 0,75	14,7 ± 0,6	nd	nd	nd	nd	nd
S	GR	nd	7,5 ± 0,8	nd	nd	nd	7,7 ± 0,6	nd
	L	14,5 ± 0,5	22,75 ± 1,25	nd	nd	nd	nd	nd
BJ	GR	6,3 ± 0,9	nd	103,7 ± 10,9	nd	nd	2,25 ± 0,09	950,3 ± 41,7
	L	19,8 ± 1,2	17,39 ± 1,45	nd	147,2 ± 10,2	nd	0,68 ± 0,05	47,3 ± 3,6
K	GR	7,13 ± 0,75	nd	nd	nd	nd	3,31 ± 0,23	nd
	L	10,3 ± 1,3	17,73 ± 0,19	nd	nd	nd	2,67 ± 0,25	84 ± 1
G	GR	6,6 ± 0,8	2,45 ± 0,26	nd	nd	nd	nd	nd
	L	14,4 ± 1,2	7,4 ± 0,7	16,8 ± 3,6	nd	nd	nd	35,7 ± 3,5

SV - *Syringa vulgaris*; GR – grančice; L – lišće; nd – jedinjenje nije detektovano

Međutim, kada su u pitanju nadzemni delovi i njihova upotreba u praćenju nivoa i rizika od atmosferskog zagađenja, mnogo adekvatniji pristup bio bi izračunavanje odgovarajućih

toksikoloških ekvivalentnih faktora (TEF) koji se definišu za svaku lokaciju pojedinačno i to u odnosu na zbir (Σ) detektovanih PAU jedinjenja, a gde se toksičnost svakog jedinjenja određuje u odnosu na BaP kao osnovni pokazatelj toksičnosti i koji je opšte prihvaćeni indikator zagađenja vazduha. U ovim izračunavanjima faktor toksičnosti za BaP iznosi 1, dok ostala jedinjenja imaju niže faktore i svi oni se (pre sabiranja) množe sa odgovarajućim detektovanim koncentracijama; pri tome, ovde se mogu sagledavati rizici od različitih vrsta izloženosti (putem inhalacije, ingestije, dermalnim putem, itd.) (Fang i sar., 2002).

Sličan zaključak za DhA mogao bi se izvesti i u slučaju lišća SV, na mestu NS, gde je sadržaj od 174,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ takođe bio iznad vrednosti propisanih za rezidencijsko zemljište (USEPA, 2024). Međutim, sve ostale vrednosti za DhA u lišću bile su ispod granica detekcije (nd) i samo na par mesta, imale su merljive vrednosti: BJ, K i G. Inače, koncentracije PAU u SV lišću, bile su u rasponu od: nd za Acy (mesta BN, SN, O, K i G), za Ant (sva mesta osim BJ, K i G), za Phe (mesto BJ), za BaA (većina mesta: FJ, BN, O, S, BJ i K), za CHR (na svim mestima, osim BJ), za BaP (na svim mestima) i za BbF+BkF (većina mesta FJ, SN, NS, O, S i G), do već navedenih 174,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ za DhA (mesto NS). Najniže merljive koncentracije kod grančica SV bile su zabeležene na mestu FJ za Ace: 1,19 $\mu\text{g}/\text{kg}$, dok su najniže izmerene lisne koncentracije bile na mestu BJ za BbF+BkF: 0,68 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Najobilnije jedinjenje u grančicama, ali i lišću SV bio je Flr; ovo je ujedno bilo i jedno od najzastupljenijih jedinjenja uz: Nap, Ace, Flr, Phe, Flt i Pyr (Tabela 18.).

Još jedna interesantna činjenica vezana za nadzemne delove SV, jeste da ni oni, kao ni korenje SV, nisu sadržali jedinjenja poput CHR i BaP (osim što je CHR bio zabeležen na jednom mestu, BJ i to u analiziranom lišću). Ovo može da bude znak da grančice i listovi SV, kao i koren iste biljne vrste, pokazuju posebnu osetljivost prema CHR i BaP, pa ova biljka izbegava njegovo usvajanje čak i preko nadzemnih organa. U isto vreme, ovo bi moglo da znači (a posebno na osnovu neuklonjene prašine sa neopranih nadzemnih delova), da, što se tiče atmosfere emisije, u sezoni sakupljanja uzoraka, nije bilo izvora CHR i BaP u Boru i okolini.

Rezultati GC/MS analize za nadzemne delove FC (Tabela 19.) pokazali su dosta razlika u odnosu na rezultate za iste delove kod SV, ali i izvesne sličnosti. Tako na primer, sličnost se ogleda u tome da ni nadzemni organi FC nisu usvajali BaP (ni na jednoj lokaciji), dok je situacija sa CHR bila nedovoljno jasna. Naime, on je bio detektovan na više lokacija, verovatno na osnovu sadržaja iz čiste atmosfere depozicije, što poništava prethodnu pretpostavku da u Boru i okolini nije bilo emitera CHR u vreme uzorkovanja. Naime, nemoguće je pretpostaviti da je CHR dospelo u list usvajanjem preko korena, jer koren ove biljne vrste uopšte nije ni usvajao CHR iz zemljišta (Tabela 13.) (kao što je to bio slučaj i kod drugih biljnih vrsta ispitivanih u ovoj doktorskoj disertaciji, Tabele 13. i 14.).

Inače, opseg koncentracija PAU kod grančica FC (Tabela 19.) bio je: od nd za Acy (mesta SN i O), za Ant (sva mesta), za Phe (mesto BN), za Flt (mesta BN, SN, O, S, BJ i G), za Pyr (mesta BJ i K), za BaA (mesta BN, S i K), za CHR (mesta: FJ, SN, O, S, BJ i G), za BaP (sva mesta), za BbF+BkF (mesta BN, SN, NS, S i BJ), za DhA (mesta K i G), do 400 $\mu\text{g}/\text{kg}$ za Flr na mestu FJ. Najobilnija jedinjenja kod FC grančica bila su Flr i ponekad DhA, dok su najfrekventnija jedinjenja bila Nap, Ace, Flr, Phe, DhA i delimično Acy, Pyr i BaA.

Opseg koncentracija kod lišća FC (Tabela 19.) bio je: od nd za Nap (mesto S), za Acy (mesta S i BJ), za Ant (sva mesta osim S), za Phe (većina mesta: BN, SN, NS, S, BJ, K i G), za Flt (većina mesta BN, NS, S i G), za Pyr (mesta BN i S), za BaA (mesta O, S, BJ i K), za CHR (većina mesta: NS i O), BaP (sva mesta) i za BbF+BkF (mesta NS, O i S), do 498,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ za Flr na mestu

BJ. Najobilnija jedinjenja kod FC lišća bila su Flr i DhA, dok su najfrekventnija jedinjenja bila Nap, Ace, Flr, DhA i delimično Acy, Pyr i BbF+BkF.

Tabela 19. Koncentracije PAU ($\mu\text{g}/\text{kg}$, SM) u uzorcima grančica i lišća FC

Lokacija/Biljni deo		NM PAU							
		Nap	Acy	Ace	Flr	Ant	Phe		
FJ	GR	11,8 ± 0,6	5,0 ± 0,5	9,1 ± 0,9	400 ± 23	nd	107 ± 8		
	L	19 ± 1	9,5 ± 0,6	11,6 ± 0,7	317,8 ± 25,5	nd	91,7 ± 5,5		
BN	GR	97 ± 4	5,9 ± 0,6	5,2 ± 0,2	162,4 ± 7,7	nd	nd		
	L	42,6 ± 3,5	7,1 ± 0,6	5,9 ± 0,8	77,04 ± 6,35	nd	nd		
SN	GR	131,77 ± 12,05	nd	6,1 ± 0,9	177,6 ± 4,7	nd	114,5 ± 9,6		
	L	35,2 ± 3,7	3,3 ± 0,8	10,0 ± 0,9	57,1 ± 5,5	nd	nd		
NS	GR	113,3 ± 12,5	3,4 ± 0,5	7,4 ± 0,6	112,6 ± 13	nd	52,6 ± 2,5		
	L	4 ± 1	5,6 ± 0,9	4,7 ± 0,5	237 ± 29	nd	nd		
O	GR	66,5 ± 4,4	nd	4,5 ± 0,4	60,3 ± 9,5	nd	58 ± 6		
	L	24,2 ± 1,6	2,9 ± 0,5	10,4 ± 1,7	127,0 ± 31,6	nd	215 ± 15		
S	GR	89,7 ± 4,9	4,6 ± 0,9	3,0 ± 0,3	173,2 ± 8,5	nd	29 ± 5		
	L	nd	nd	12,7 ± 1,4	281,5 ± 19,6	5,5 ± 0,5	nd		
BJ	GR	137 ± 6	27,3 ± 2,5	6,2 ± 0,4	73 ± 9	nd	135,3 ± 12,5		
	L	8,3 ± 0,5	nd	14 ± 2	498,5 ± 37,6	nd	nd		
K	GR	111,2 ± 14,6	93,7 ± 5,6	4,3 ± 0,8	58,6 ± 5,8	nd	32,3 ± 2		
	L	12,4 ± 1,6	8,8 ± 0,6	11,2 ± 2,6	421 ± 8	nd	nd		
G	GR	109 ± 16	6,0 ± 0,7	4,9 ± 0,3	292 ± 29	nd	130 ± 4		
	L	52,4 ± 5,5	12,3 ± 0,6	17,1 ± 1,7	164,5 ± 6,6	nd	nd		
Lokacija/Biljni deo		VM PAU							
		Flt	Pyr	BaA	CHR	BaP	BbF+BkF	DhA	
FJ	GR	7,5 ± 0,5	6,6 ± 0,5	23,65 ± 1,09	nd	nd	1,80 ± 0,08	161 ± 8	
	L	35,4 ± 0,6	10,0 ± 0,5	27,07 ± 0,09	11,6 ± 0,7	nd	1,97 ± 0,09	128,0 ± 0,5	
BN	GR	nd	43,6 ± 7,5	nd	5,5 ± 0,6	nd	nd	230,0 ± 0,5	
	L	nd	nd	32,2 ± 2,9	41 ± 5	nd	2,0 ± 0,5	87 ± 3	
SN	GR	nd	81 ± 6	34,7 ± 5,7	nd	nd	nd	190 ± 5	
	L	71,2 ± 8,5	9,7 ± 0,5	20,3 ± 3,8	36,5 ± 4,6	nd	1,6 ± 0,5	72,7 ± 3,5	
NS	GR	243,4 ± 8,6	56,1 ± 3,5	57 ± 3	96,9 ± 5,7	nd	nd	73,4 ± 1,6	
	L	nd	8,7 ± 0,5	44,2 ± 6,6	nd	nd	nd	89,4 ± 2,6	
O	GR	nd	73 ± 2	35,3 ± 7,5	nd	nd	7,66 ± 0,08	149,2 ± 4,5	
	L	67 ± 9	17,7 ± 0,7	nd	nd	nd	nd	96,2 ± 1,5	
S	GR	nd	158 ± 14	nd	nd	nd	nd	98 ± 9	
	L	nd	nd	nd	89,0 ± 3,7	nd	0,30 ± 0,29	27,46 ± 2,15	
BJ	GR	nd	nd	16 ± 2	nd	nd	nd	142,56 ± 2,39	
	L	93,5 ± 4,7	13,4 ± 0,5	nd	127 ± 14	nd	0,515 ± 0,009	40,3 ± 3,5	
K	GR	26 ± 1	nd	nd	19,6 ± 0,5	nd	7,2 ± 0,5	nd	
	L	119 ± 5	11,7 ± 0,5	nd	99,3 ± 6,7	nd	1,65 ± 0,09	53,2 ± 3,5	
G	GR	nd	87 ± 4	33,1 ± 4,7	nd	nd	7,67 ± 0,38	nd	
	L	nd	7,6 ± 0,6	19,3 ± 2,8	42,7 ± 0,9	nd	0,62 ± 0,05	13,8 ± 0,8	

FC - *Ficus carica*; GR – grančice; L – lišće; nd – jedinjenje nije detektovano

Na osnovu GC/MS rezultata za nadzemne delove HH, prikazanim u Tabeli 20., primetno je da su koncentracije PAU kod puzećeg stabla bile u opsegu od: nd za Acy (mesta O i BJ), Ant (sva mesta osim NS), Flt (mesta SN, S i G), Pyr (mesto K), BaA (mesta SN, BJ i K), CHR (mesta FJ, NS i O), BaP (sva mesta), BkF+BbF (mesta FJ, SN i G) i DhA (mesto SN) do 517 $\mu\text{g}/\text{kg}$ za Flr na mestu G.

Kada je reč o listovima HH (Tabela 20.), koncentracije su varirale od: nd za Acy (mesta S i BJ), Ant (mesta FJ, BN, SN, NS i O), BaA (mesta O, S, BJ i K), CHR (većina mesta: BN, NS, O, S, BJ i G), BaP (sva mesta), BkF+BbF (većina mesta: BN, SN, NS, O i K) do 341,6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ za Flr na mestu S. Najobilnije jedinjenje u puzećem stablu i listovima HH, bio je Flr, a najzastupljenija su bila jedinjenja: Nap, Ace, Flr, Phe, Pyr i DhA. Poslednje jedinjenje je i u slučaju nadzemnih delova HH često prevazilazilo USEPA vrednosti za RSL kod rezidencijskog zemljišta (USEPA, 2024), kao što su to primeri mesta: FJ za oba ispitivana organa, BN za list, NS za list, O za oba organa i K za puzeće stablo.

Tabela 20. Koncentracije PAU ($\mu\text{g}/\text{kg}$, SM) u uzorcima puzećeg stabla i lišća HH

Lokacija/Biljni deo		NM PAU						
		Nap**	Acy	Ace	Flr	Ant	Phe*	
FJ	PS	11,79 \pm 0,76	5,80 \pm 0,55	17,10 \pm 1,79	375,45 \pm 35,37	nd	79,65 \pm 8,15	
	L	24,13 \pm 2,19	6,95 \pm 0,18	6,07 \pm 0,17	74,70 \pm 2,97	nd	78,8 \pm 9,9	
BN	PS	33,06 \pm 2,25	10,29 \pm 0,27	28,1 \pm 2,5	195,95 \pm 9,15	nd	156,84 \pm 4,79	
	L	46 \pm 6	12,79 \pm 0,22	8,1 \pm 0,1	132,71 \pm 2,97	nd	107,4 \pm 4,5	
SN	PS	35,4 \pm 2,9	10,9 \pm 0,5	19,6 \pm 1,6	197 \pm 14	nd	63,12 \pm 2,78	
	L	45,2 \pm 3,6	4,1 \pm 0,5	9,9 \pm 0,2	154,9 \pm 12,7	nd	190,1 \pm 11,9	
NS	PS	43,4 \pm 0,9	11,29 \pm 0,97	7,28 \pm 0,21	346,6 \pm 24,7	26,5 \pm 0,7	25,6 \pm 0,8	
	L	25,44 \pm 3,04	3,394 \pm 0,767	6,72 \pm 0,27	154,0 \pm 19,8	nd	265,0 \pm 18,9	
O	PS	26 \pm 2	nd	12,83 \pm 1,69	233,9 \pm 7,9	nd	46,85 \pm 6,65	
	L	44,84 \pm 5,23	4,88 \pm 0,44	67 \pm 8	132,0 \pm 5,9	nd	220,8 \pm 35,4	
S	PS	66,6 \pm 8,8	5,9 \pm 0,5	30,84 \pm 4,18	247,97 \pm 13,25	nd	75,4 \pm 2,9	
	L	42,47 \pm 1,59	nd	44,59 \pm 7,68	341,65 \pm 27,55	3,17 \pm 0,17	60,64 \pm 5,48	
BJ	PS	25,7 \pm 1,5	nd	17,82 \pm 1,15	226,6 \pm 6,6	nd	91,21 \pm 6,54	
	L	4,57 \pm 0,76	nd	8,51 \pm 1,19	197,42 \pm 21,05	4,223 \pm 0,236	42,18 \pm 1,69	
K	PS	40,98 \pm 1,15	26,32 \pm 1,02	9,77 \pm 0,77	171,7 \pm 5,4	nd	62,46 \pm 4,58	
	L	8,89 \pm 0,69	5,36 \pm 0,75	13,8 \pm 2,8	215,6 \pm 13,7	18,9 \pm 0,9	75,2 \pm 1,9	
G	PS	24 \pm 4	11,59 \pm 1,04	25,3 \pm 0,12	517 \pm 37	nd	73,93 \pm 11,85	
	L	6,4 \pm 0,5	9,0 \pm 0,5	37,60 \pm 1,05	216,1 \pm 23,6	7,96 \pm 0,58	44,0 \pm 2,8	
Lokacija/Biljni deo		VM PAU						
		Flt	Pyr***	BaA	CHR	BaP	BbF+BkF	
FJ	PS	9,21 \pm 0,27	8,73 \pm 0,38	25,375 \pm 5,039	nd	nd	nd	170,6 \pm 2,5
	L	25,76 \pm 3,05	8,2 \pm 0,8	29,27 \pm 2,36	15,31 \pm 2,42	nd	3,06 \pm 0,06	130,7 \pm 3,5
BN	PS	165,7 \pm 4,6	8,01 \pm 0,79	36 \pm 3	5,11 \pm 0,53	nd	4,834 \pm 0,386	87 \pm 4
	L	12,2 \pm 0,6	8,449 \pm 0,229	27,2 \pm 3,7	nd	nd	nd	112 \pm 4
SN	PS	nd	167,42 \pm 8,85	nd	36,84 \pm 0,99	nd	nd	nd
	L	25,23 \pm 3,57	9,48 \pm 0,55	32 \pm 1	19 \pm 1	nd	nd	56,96 \pm 3,66
NS	PS	12,92 \pm 0,49	10,3 \pm 0,6	58,9 \pm 2,7	nd	nd	5,09 \pm 0,46	72,7 \pm 7,1
	L	21,67 \pm 2,28	13,08 \pm 0,98	18,87 \pm 1,96	nd	nd	nd	110 \pm 7
O	PS	10,1 \pm 0,6	89 \pm 1	29,0 \pm 1,7	nd	nd	2,58 \pm 0,26	117 \pm 18
	L	66,76 \pm 7,65	18,96 \pm 0,55	nd	nd	nd	nd	111,0 \pm 3,8
S	PS	nd	68,5 \pm 2,6	29 \pm 2	8,98 \pm 0,92	nd	6,08 \pm 0,07	95,11 \pm 4,27
	L	33 \pm 2	2,41 \pm 0,13	nd	nd	nd	0,61 \pm 0,06	28,0 \pm 2,3
BJ	PS	14,1 \pm 0,8	8,4 \pm 0,6	nd	nd	nd	3,10 \pm 0,08	69 \pm 4
	L	26,0 \pm 4,5	7,2 \pm 0,8	nd	nd	nd	0,76 \pm 0,06	58 \pm 10
K	PS	11,40 \pm 0,69	nd	nd	41,7 \pm 2,6	nd	5,93 \pm 0,15	124,0 \pm 1,9
	L	158,3 \pm 6,2	17,0 \pm 0,6	nd	99,2 \pm 2,9	nd	nd	45,4 \pm 1,7
G	PS	nd	4,7 \pm 0,8	27,8 \pm 1,8	31 \pm 5	nd	nd	99 \pm 7
	L	36 \pm 15	7,56 \pm 0,62	75 \pm 4	nd	nd	0,268 \pm 0,059	76 \pm 2

HH – *Hedera helix*; PS – puzeće stablo; L – lišće; nd – jedinjenje nije detektovano

* - Papludis i sar. (2023b); ** - Papludis i sar. (2024a); *** - Papludis i sar. (2024b);

I kod ove biljne vrste, tj., HH, ponovila se slična situacija sa CHR i BaP, kao i kod FC, što je još jedna potvrda više da je emisija CHR u ispitivanom području ipak postojala u izvesnoj meri. Iz kog razloga se ova emisija nije primetila na ispitivanim nadzemnim delovima SV, ne može se sa sigurnošću zaključiti u ovoj fazi analize, ali je najverovatnije da je emisija BaP, u vremenu uzorkovanja, zaista izostala na ispitivanim lokacijama. Ova poslednja činjenica ukazuje da se tokom te kasno-letnje sezone, BaP skoro da nije emitovao iz pomenutih potencijalnih izvora, kao i da se možda, u izvorima zagađenja PAU, definitivno radilo na smanjenju emisija ovog kancerogenog jedinjenja. Ista činjenica potvrđuje da su količine BaP u zemljištu više odraz akumulacije iz prethodnih godina, ili pak njegovog formiranja usled različitih dijagenetskih, ili biogenih procesa, što se prvobitno uočilo kroz brojne negativne Pearson-ove korelacije između BaP koncentracija u zemljištu i ostalih zemljišnih PAU.

Uočljivo je da je kod svih analiziranih nadzemnih delova ispitivanih biljnih vrsta osim BaP, BgP i IcP, koji su bili na nivou nd na svim odabranim lokacijama (slično kao i kod korenja) i Ant bio odsutan na većini lokacija (Tabele 18-20.). Najobilnije jedinjenje kod svih nadzemnih delova ispitivanih vrsta bilo je Flr. Ovo jedinjenje je, uz Ace, takođe bilo i najprisutnije, posmatrano po lokacijama. Neka značajnija pravila za sva ostala jedinjenja, nije bilo moguće definisati zbog

velikog broja razlika u njihovoj obilnosti i prisutnosti po lokacijama i to ne samo poredeći sve tri ispitivane biljne vrste, već i posmatrajući svaku vrstu posebno.

Kada su bile izračunate sume 16 PAU u uzorcima lišća i grančica, tj. puzećeg stabla (kod HH) (Tabela 21.), uočeno je da su razlike u ukupnim koncentracijama među različitim delovima na istim lokacijama bile primetne (nekada u korist jednog, a nekada u korist drugog ispitivanog matriksa), ali samo u nekoliko slučajeva, ove razlike su bile na ekstremnim nivoima; ovakvi primeri bili su uočeni jedino kod SV, na sledećim lokacijama: BN, SN, BJ i G.

Tabela 21. Sume 16 PAU ($\mu\text{g}/\text{kg}$, SM) u odgovarajućim uzorcima lišća, grančica i puzećeg stabla ispitivanih biljnih vrsta

Lokacija	$\Sigma 16$ PAU SV		$\Sigma 16$ PAU FC		$\Sigma 16$ PAU HH	
	G	L	G	L	PS	L
FJ	589,2	766,0	733,8	663,9	703,7	402,9
BN	1705,7	504,7	550,0	295,0	731,2	466,4
SN	693,7	1021,1	735,4	317,6	530,4	546,9
NS	634,5	918,3	816,1	393,4	620,6	617,8
O	624,4	656,9	454,6	560,1	567,6	666,3
S	630,9	594,0	556,2	416,4	634,6	556,4
BJ	1675,6	659,7	537,74	794,9	456,2	349,3
K	832,7	653,8	352,9	738,9	494,8	657,8
G	442,7	2171,4	669,6	330,5	814,4	515,6

G – grančice; L – lišće; PS – puzeće stablo

Iz Tabele 21. može se uočiti da su, u najvećem broju slučajeva, odnosno lokacija, najveće sume koncentracija u nadzemnim delovima (obe vrste matriksa) bile zabeležene upravo kod SV, što ukazuje da je ova biljna vrsta bila najefektivnija u koncentrisanju različitih PAU (u odnosu na FC i HH). Ovo takođe može da sugeriše, da SV, zbog morfologije svojih nadzemnih delova, na primer, zbog glatkoće lišća, ali i grančica, zatim zbog odgovarajuće debljine kutikule, rada stomatarnog aparata, ili strukture i građe same ćelijske membrane, ima bolju sposobnost usvajanja, tj. bioakumulacije PAU u svojim tkivima, nego njihovog zadržavanja na površini lista, pa je zato verovatno i da je udeo prave bioakumulacije kod ove biljne vrste bio veći od udela proste atmosfere depozicije. Može se pretpostaviti da je ovo biousvajanje bilo selektivno u odnosu na pojedinačna jedinjenja PAU (jer je njihovo prodiranje i usvajanje različito u odnosu na sastav ćelijske membrane, ali takođe i u odnosu na tolerantnost odbrambenog sistema same biljne vrste prema toksičnosti određenog jedinjenja). Na ovaj način bi se mogao objasniti i nedostatak nekih pojedinačnih PAU kod nadzemnih delova SV, a posebno CHR, koji je bio detektovan kod druge dve biljne vrste. Naime, ovo jedinjenje, kao izuzetno toksično za koren, verovatno se nije usvajalo ni putem nadzemnih delova i ostalih ispitivanih biljnih vrsta. Može se pretpostaviti da se ono nalazilo pre svega u prašini atmosfere depozicije, koja se u većoj meri zadržavala na površini nadzemnih delova FC i HH u poređenju sa SV (zahvaljujući sada specifičnim osobinama FC i HH, sa očigledno drugačijom morfologijom nadzemnih delova u odnosu na SV; na primer: maljavost lišća i lepljivost grančica FC, blizina lišća i puzećeg stabla HH sa potpornim stablima drugih biljaka i ponekad, sa samim zemljištem), ali i drugačijom strukturom unutrašnjih tkiva. Sve ove detalje trebalo bi imati u vidu kada je u pitanju fitomonitoring određene oblasti, kako bi tumačenje rezultata bilo što tačnije.

U tom smislu, a pre svega, kako bi se i kod nadzemnih delova stekao bolji uvid u njihovu upotrebnost u fitomonitoringu atmosfere zagađenja, PCS je urađena za sve biljne vrste, SV, FC i HH. Ova statistička analiza je, slično kao i kod korenja i odgovarajućih uzoraka zemljišta, pokazala da su koeficijenti korelacije nadzemnih delova sa parametrom U, u najvećem broju slučajeva imali negativan predznak, kao i da su njihove vrednosti bile uglavnom veoma niske i

samo ponekad – srednje, ali bez statistički značajnih vrednosti (Tabele PCS4.-PCS6.). Jedini izuzeci bili su u slučajevima: za Flr kod lista SV: $p = 0,815^*$, za DhA kod grančice FC: $p = -0,755^*$ i za Ace i DhA kod lista iste biljke: $p = 0,739^*$ i $p = -0,804^{**}$, respektivno. Može se reći da i ovi nalazi podržavaju prethodno razmatranje (za koren i zemljište), tj. dovode do zaključka da postrojenja u IZ ne predstavljaju ni glavne, a ni jedine izvore PAU u Boru i njegovoj okolini.

S obzirom da translokacija PAU iz zemljišta, preko korena, u nadzemne delove nije moguća, odgovarajuće zemljišne koncentracije, kao i mereni zemljišni parametri, nisu korelisani sa koncentracijama u lišću i grančicama (odnosno puzećem stablu kod HH), ali su zato međusobno korelisane PAU koncentracije u pojedinačnim nadzemnim matriksima, kao i koncentracije između ovih matriksa, za svaku biljnu vrstu pojedinačno (Tabele PCS4.-PCS6.).

Neke značajne korelacije kod koncentracija nadzemnih delova SV bile su nađene u retkim slučajevima za isti matriks, kao što sledi (Tabela PCS4.):

- 1) za grančice: Acy-Nap, $p = 0,733^*$ i Phe-Ace, $p = -0,861^{**}$ i
- 2) za lišće: BkF+BbF-Ace, $p = 0,807^{**}$,

što ukazuje da su lokacije sa visokim koncentracijama Acy imale i visoke koncentracije Nap u grančicama, dok je u listovima takav par bio: BkF+BbF-Ace, što verovatno ukazuje na zajedničko poreklo ovih parova jedinjenja. Suprotno je važno u slučaju para Phe-Ace kod lišća. Kada su u pitanju korelacije između PAU koncentracija u različitim nadzemnim delovima SV (Tabela PCS4.), značajne korelacije nađene su u slučajevima: za PheG-PheL, $p = -0,741^*$, za FltG-FltL, $p = 0,754^*$, za PyrL-FltG, $p = 0,866^{**}$, za BaAL-NapG, $p = 0,823^{**}$, za DhAG-AceL, $p = -0,817^{**}$ i za DhAL-FltG, $p = 0,839^{**}$. Ovde je interesantno da su se koncentracije Flt u grančicama i listovima "pratile", tj., da su lokacije sa visokim sadržajem Flt u listu imale i visoke sadržaje ovog jedinjenja u grančicama, dok je situacija sa Phe u ova dva matriksa SV, bila suprotna. Moguće je čak i da je Flt mogao da bude i translociran iz lista u grančicu.

Kod nadzemnih delova FC, broj statistički značajnih korelacija među koncentracijama za isti matriks, takođe je bio veoma mali (Tabela PCS5.):

- 1) za grančice: Flt-CHR, $p = 0,993^{**}$ i Pyr-Flt, $p = 0,695^*$,
- 2) za lišće: CHR-Flr, $p = 0,677^*$ i DhA-CHR, $p = -0,676^*$,

a takođe je i broj značajnih korelacija za različite matrikse bio sličan kao i kod SV. Jedino su odgovarajući parovi PAU bili drugačiji: FltL-AcyG, $p = 0,684^*$, PyrG-AntL, $p = 0,743^*$, CHRL-BaAG, $p = -0,676^*$ i DhAL-AceG, $p = 0,675^*$.

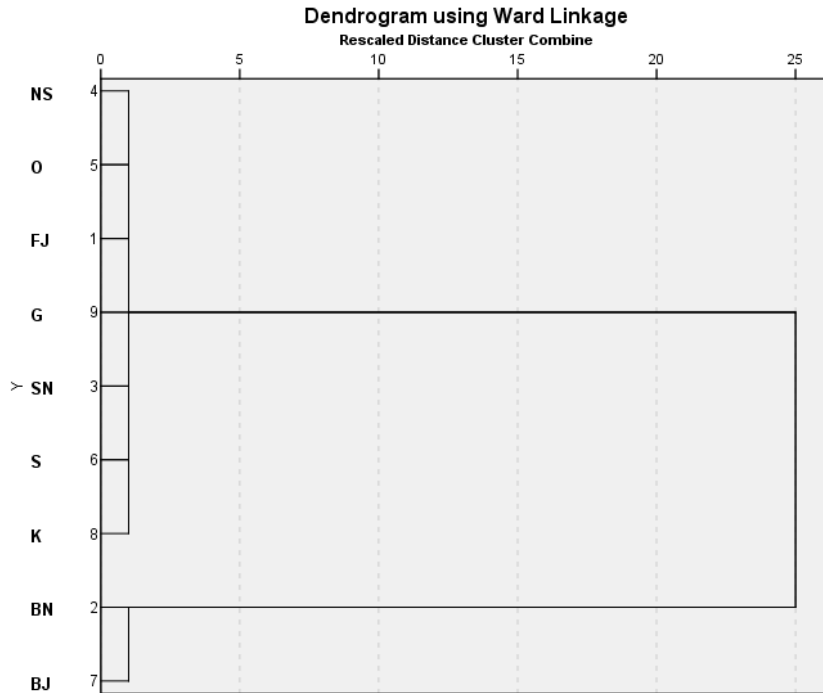
Nadzemni delovi HH pokazali su nešto veći broj statistički značajnih korelacija među koncentracijama u istim matriksima (Tabela PCS6.):

- 1) za grančice: Phe-Ace, $p = 0,668^*$; Flt-Phe, $p = 0,828^{**}$; BaA-Ant, $p = 0,678^*$; CHR-Acy, $p = 0,752^*$; BkF+BbF-Nap, $p = 0,732^*$;
- 2) za lišće: Flt-Ant, $p = 0,858^{**}$; CHRL-AntL, $p = 0,834^{**}$; CHR-Flt, $p = 0,902^{**}$; DhA-Flr, $p = -0,858^{**}$,

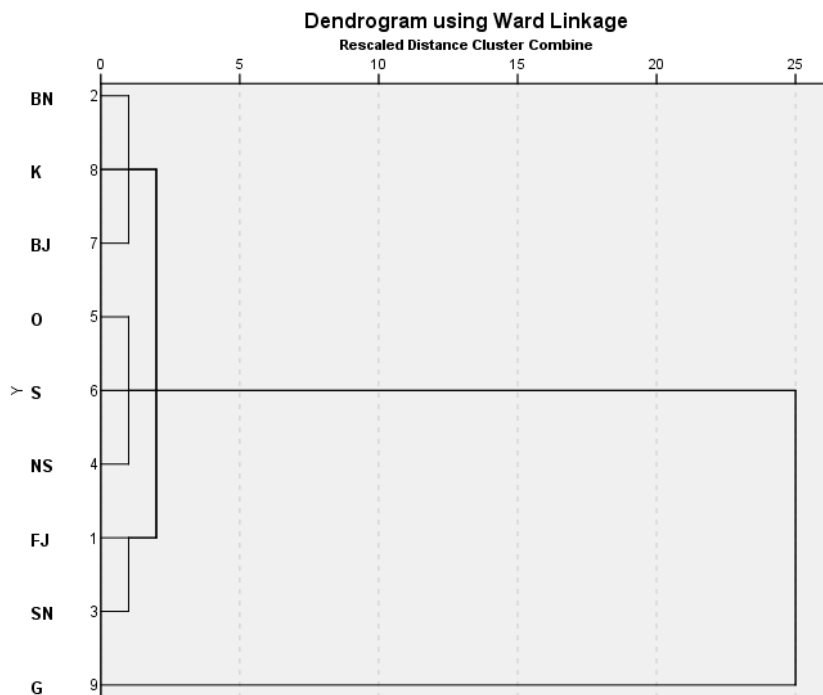
pa je i broj značajnih korelacija za različite matrikse bio nešto veći nego kod SV i FC: za AcyL-FltG, $p = 0,681^*$, za FltL-NapG, $p = 0,796^*$, za AntL-AcyG, $p = 0,744^*$, za AntL-CHRG, $p = 0,670^*$, za PyrL-AceG, $p = -0,796^*$, za BaAL-FlrG, $p = 0,763^*$ i za CHRL-AcyG, $p = 0,822^{**}$.

Sve ostale korelacije za nadzemne delove kod SV, FC i HH, bile su niskih do srednjih vrednosti Pearson-ovih koeficijenata, pozitivnog, ili negativnog predznaka. Ovako različite korelacije među koncentracijama PAU u nadzemnim delovima različitih ispitivanih biljnih vrsta, nagovestile su da će i klasifikacija lokacija, bazirana na tim koncentracijama, biti različita u odgovarajućim hijerarhijskim dendrogramima, što se i potvrdilo nakon urađene HCA (Slike 48-53.),

a koja je bila izvedena po istom postupku kao i za korenske i zemljišne koncentracije. Pri tome, zapaža se da su dendrogrami za nadzemne delove SV bili najjednostavnije strukture (a naročito za grančice ove biljne vrste), tako da je grupisanje lokacija bilo manje komplikovano nego kod druge dve ispitivane biljke. Tako na primer, dendrogram baziran na koncentracijama PAU u grančicama SV imao je svega dva glavna klastera sastavljena od potklastera, tj. lokacija, kao što sledi: 1) BJ-BN i 2) sve ostale lokacije u jednom potklasteru, u sledećem redosledu: K-S-SN-G-FJ-O-NS (Slika 48.).



Slika 48. Klasifikacija ispitivanih lokacija bazirana na PAU koncentracijama u grančicama SV

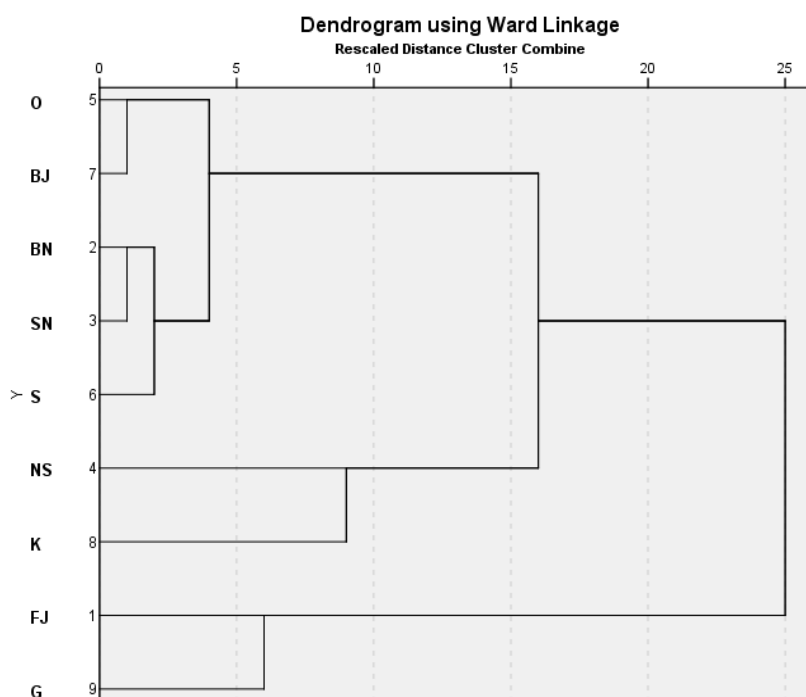


Slika 49. Klasifikacija ispitivanih lokacija bazirana na PAU koncentracijama u lišću SV

I dendrogram baziran na koncentracijama PAU u lišću SV (Slika 49.) imao je dva glavna klastera: 1) jedan individualni klaster za lokaciju G i 2) tri potklastera za ostale lokacije grupisane na složeniji način nego kod grančica: SN-FJ/NS-S-O/BJ-K-BN.

Ovakva situacija predstavlja potvrdu više da su nadzemni delovi SV, bili skloni jednom vrlo slabom, ali prilično ujednačenom zadržavanju atmosferske depozicije i istovremeno - jednom selektivnom, ali veoma efektivnom (bio)usvajanju PAU unutar tkiva. Naravno, na osnovu svih analiza, ovo selektivno usvajanje podrazumeva da su pojedina, izuzetno opasna jedinjenja (po zdravlje biljke), bila i potpuno isključena iz procesa usvajanja, što se kod SV naročito primetilo na primerima BaP i CHR.

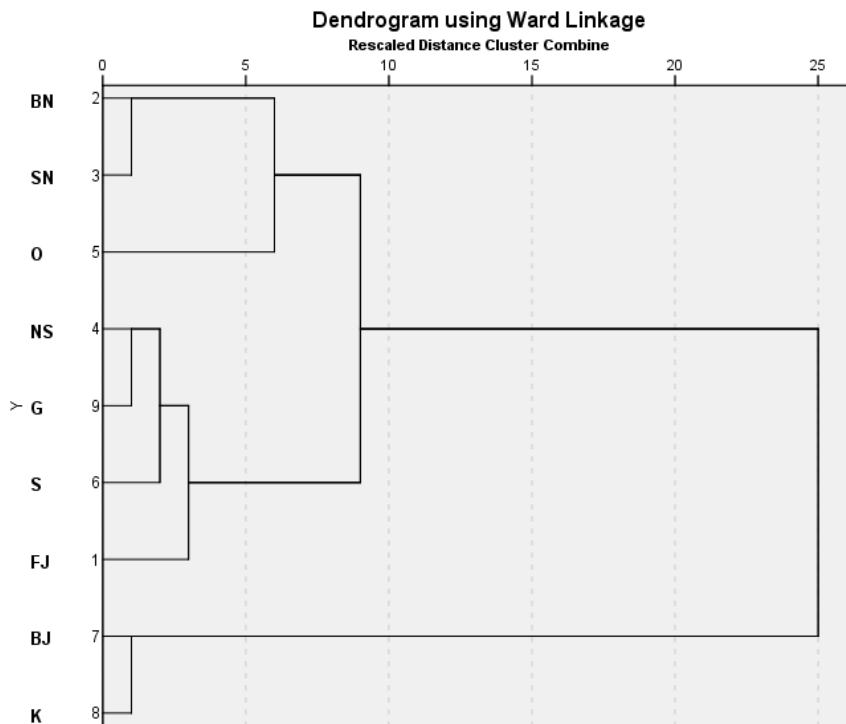
S obzirom da je CHR bio detektovan na nekim lokacijama u nadzemnim delovima druge dve ispitivane vrste, može se, još jednom konstatovati da su hijerarhijski dendrogrami za nadzemne delove kod SV (Slike 48. i 49.) najvećim delom zasnovani na pravoj bioakumulaciji, dok je atmosferska depozicija, takoreći "klizila" sa njihovih površina. Suprotno se dešavalo kod nadzemnih delova FC i HH. Naime, dendrogrami za nadzemne delove FC i HH (Slike 50-53.), potvrđuju da su ovi njihovi organi, zbog (već objašnjenih), specifičnih osobina, bili skloniji boljem zadržavanju atmosferske depozicije (gde se verovatno zadržavao i CHR), nego organi SV, ali sa očigledno manjom ujednačenošću. Svakako, i ovi organi su imali jedno određeno, selektivno (bio)usvajanje PAU, ali je najverovatnije da je udeo atmosferske depozicije ovde bio veći nego kod SV. Iz ovih razloga, dendrogrami bazirani na koncentracijama nadzemnih delova FC i HH, su rezultat kombinacije koncentracija u prašini zadržanoj na površini nadzemnih delova, ali i prave bioakumulacije. Samim tim, oni su pružili i mnogo komplikovaniju klasifikaciju lokacija. Naime, iako su svi bili konstituisani od po dva glavna klastera, kompozicija njihovih potklastera bila je veoma složena i potpuno različita (Slike 50-53.).



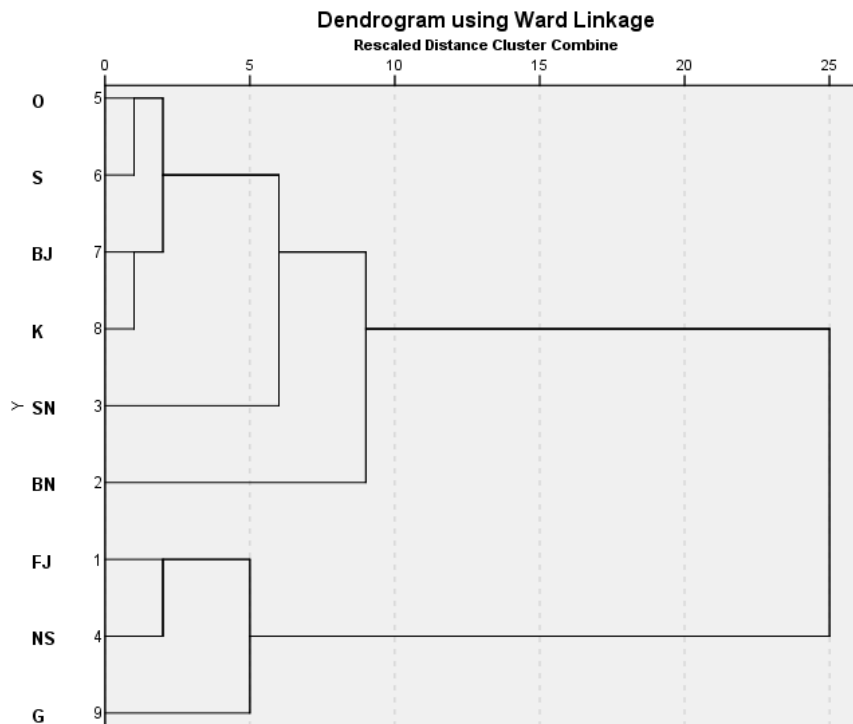
Slika 50. Klasifikacija ispitivanih lokacija bazirana na PAU koncentracijama u grančicama FC

Generalno posmatrano, moglo bi se zaključiti da su najsloženije kompozicije dendrograma bile uočene kod nadzemnih delova FC (Slike 50. i 51.), mada ni HH dendrogrami nisu previše

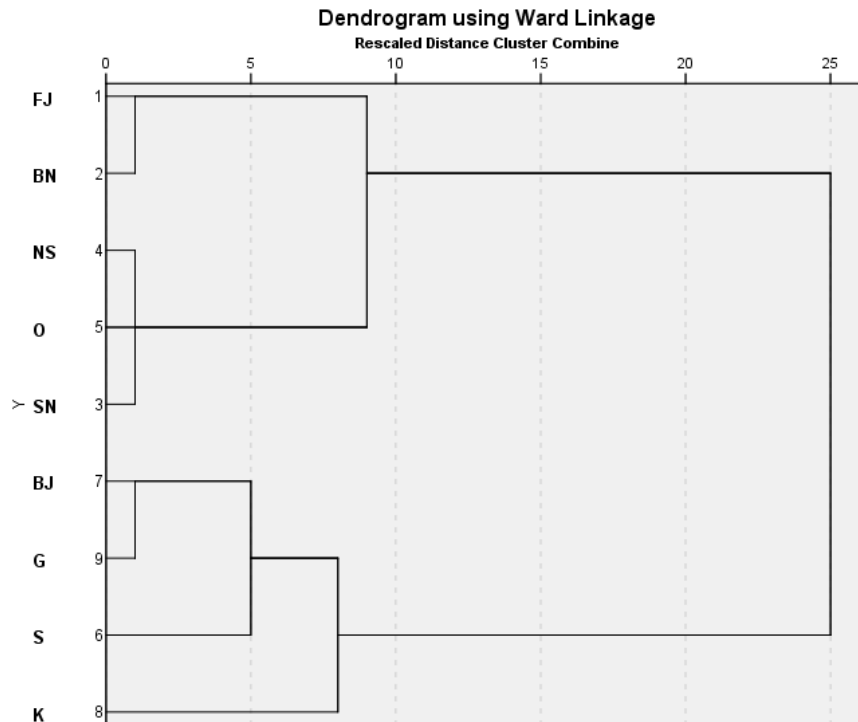
zaostajali u pogledu složenosti svoje strukture (Slike 52. i 53.). Prvi glavni klaster kod FC bio je konstituisan samo od po dve lokacije (u slučaju oba ispitivana matriksa), dok je prvi glavni klaster kod HH imao po 3 (za puzeće stablo), ili 4 lokacije (za lišće), pri čemu, kao i kod SV, nije bilo nekih pravila u grupisanju lokacija iz RZ i TZ.



Slika 51. Klasifikacija ispitivanih lokacija bazirana na PAU koncentracijama u lišću FC



Slika 52. Klasifikacija ispitivanih lokacija bazirana na PAU koncentracijama u puzećem stablu HH



Slika 53. Klasifikacija ispitivanih lokacija bazirana na PAU koncentracijama u lišću HH

Pri razmatranju poslednjih dendrograma (Slike 50-53.), trebalo bi imati u vidu i da se dendrogrami za grančice (i puzeće stablo kod HH), razlikuju po svojoj strukturi od dendrograma za lišće, verovatno zbog toga što je lišće biljaka mnogo pogodnije za prihvatanje atmosferskih čestica na površini, pa tako i preporučljivije za jedan tačniji sezonski monitoring zagađenja vazduha. Sa druge strane, moguće je da grančice SV i FC, kao i puzeće stablo kod HH, mogu da pruže uvid i u ukupno PAU zagađenje iz više sezona, što je takođe od značaja u monitoringu, a što bi sve trebalo imati u vidu prilikom osmišljavanja fitomonitoring procedura i pre svega, svakako, treba poznavati strukturu i morfologiju svake biljne vrste, kako bi tumačenje sveukupnih rezultata bilo što tačnije.

Bez obzira na sve različitosti među nadzemnim delovima ispitivanih biljnih vrsta, može se zaključiti da je svaka od njih sposobna da na sebi svojstven način prati i odrazi promenu koncentracija PAU po sezonama, kao i da u značajnoj meri ukaže na nivo i rizike od atmosferskog zagađenja u određenoj oblasti, pre svega primenom najadekvatijih metoda analize (hemijskih i statističkih), ali i izračunavanjem odgovarajućih TEF, pri čemu je najvažnije poznavati sve navedene specifičnosti odabranih nadzemnih delova.

6. Zaključak

Rezultati ove doktorske disertacije pružili su mnoge korisne i originalne informacije u skladu sa osnovnim zadatim ciljevima koji se odnose na hemometrijsko određivanje prirodnih fitomonitoring i fitoremedijacijskih potencijala sve tri ispitivane biljne vrste. Naime, može se reći da je ispunjen osnovni cilj disertacije, tj. da su u borskom regionu pronađene i ispitane tri biljne vrste, za koje ranije nisu postojali odgovarajući literaturni podaci i to: jorgovan (*Syringa vulgaris* L.), SV, smokva (*Ficus carica* L.), FC, sorta crna Petrovača i bršljan (*Hedera helix* L.), HH. Još jedan od zaključaka opšteg karaktera je da osmišljeni hemometrijski pristup, uz izračunavanje odgovarajućih BCF, obezbeđuje najispravniju bazu za formulisanje preciznih zaključaka o ispitivanim biljnim potencijalima i na taj način se može primeniti i u odnosu na druge neispitane biljne vrste. Na konkretnijem planu, mogu se istaći sledeći zaključci:

- 1) U okviru samog hemometrijskog pristupa, uspešno je izvršena i modifikacija QuEChERS tehnike, pre svega u odnosu na prečišćavanje ekstrakata za analizu PAU iz biljnog materijala. Naime, rezultati optimizacije postupka pokazali su da su svi parametri obezbeđenja kvaliteta i tačnosti detekcije PAU i u biljnim i u zemljišnim uzorcima bili na potrebnom nivou;
- 2) GC/MS analiza biljnih i zemljišnih uzoraka pokazala je da su koncentracije svakog pojedinačnog jedinjenja PAU varirale po lokacijama i to ne samo posmatrajući po različitim biljnim vrstama, već i okviru pojedinačne vrste, a i okviru istih matriksa. One su u slučajevima mnogih jedinjenja (posmatrajući sve ispitivane matrikse), na brojnim lokacijama, bile na nivou nd, a naročito kod BgP i IcP, koji su na svim lokacijama bili ispod limita detekcije. Dodatno, BaP i CHR nisu bili nađeni kod svih uzoraka korena (osim u slučaju jedne UI lokacije: FJ, za CHR kod HH) i konačno, BaP nije bio nađen ni kod svih uzoraka nadzemnih delova. Ovi detalji bili su i prvi pokazatelji da BaP, ali u velikoj meri i CHR, inače odavno prepoznati kao kancerogeni za ljude, najverovatnije predstavljaju i izuzetno toksična jedinjenja za sve biljne vrste ispitivane u ovoj disertaciji. Izostajanje njihovog usvajanja bilo je očigledno i to najviše kod korena. Situacija sa nadzemnim delovima nije bila tako jasna, s obzirom da su oni bili analizirani kao neoprani, tako da je slučaj izostajanja BaP u njima, pre svega bio u korist pretpostavke da, u periodu uzorkovanja, verovatno nije ni bilo njegove emisije u Boru i okolini;
- 3) U isto vreme, može se reći da je najveći broj individualnih PAU u zemljištu bila zabeležena na skoro svim lokacijama, a da su se kao najobilnija (kod svih ispitivanih biljnih vrsta) isticala: Nap, Phe i Flt, a dodatno i Pyr i BaA kod HH u UIZ. Najveća zemljišna koncentracija bila je nađena u slučaju Flt kod SV, (UIZ, mesto BN): 1504 µg/kg. Okolnosti su bile nešto drugačija kada je u pitanju korenje ispitivanih biljaka. Naime, kod SV i FC, jedino su Nap, Ace i Flr bili prisutni na svim lokacijama i istovremeno su bili najobilnija jedinjenja, dok su se kao najobilnija jedinjenja kod HH izdvojili Flr, Phe, Flt i DhA. Kod HH korenja, osim BaP i CHR (i u velikoj meri Ant), većina jedinjenja mogla se naći na svim lokacijama. Najveća korenska koncentracija bila je detektovana kod SV za Flr na R mestu G: 4990 µg/kg. Ne može se reći da je ovo raznoliko činjenično stanje neočekivano, jer jedinjenja iz grupe NM PAU imaju jednostavnije molekulske strukture, kao i pogodne hemijske i fizičke osobine (verovatno neke optimalne vrednosti log Koc, log Kow, itd.), za

olakšano usvajanje korenom, dok se za VM jedinjenja može pretpostaviti da je i uloga korenskih izlučevina, kao i lipida i proteina u membrani, bila veoma važna za posmatranu korensku ekstrakciju/akumulaciju, tako da se ni ona ne može isključiti iz ukupnih procesa, kao što se ne može isključiti ni uticaj važnih zemljišnih parametara: pH, OM i EC. Međutim, kada je PCS bila izvedena u odnosu na ove parametre, bilo je očigledno da se oni ne mogu označiti kao dominantni kontrolni faktori pri usvajanju većine PAU iz zemljišta, osim nekih ređih slučajeva, poput sadržaja OM pri usvajanju Flr kod SV (gde su korenske koncentracije Flr po lokacijama opadale sa porastom OM), a takođe i vrednosti za EC kod usvajanja istog jedinjenja od strane korena FC (gde je uticaj EC bio suprotan u odnosu na OM i gde su praktično, korenske koncentracije Flr po lokacijama rasle sa porastom vrednosti EC na njima). Ipak, najveći uticaji zemljišnih faktora bili su zabeleženi kod HH, gde je broj statistički značajnih korelacija bio i najveći i to za: pH-PheKR, OM-PyrKR, pH-CHRKR (negativne korelacije) i EC-CHRKR (pozitivna korelacija). PCS je pokazala da ni sadržaji istovetnih individualnih PAU u korenu i zemljištu nisu bili u značajnim korelacijama, što znači da sadržaji korespondentnih pojedinačnih zemljišnih PAU nisu imali odlučujuću ulogu pri usvajanju tih jedinjenja u korenu, dok su neke druge (statistički značajne) korelacije, koje se odnose na različita (tj., nekorespondentna) zemljišna i korenska jedinjenja pokazala kako sinergističke, tako i kompetitivne odnose između sebe (zato se oni, u određenoj meri mogu smatrati uticajnim faktorima). Najviše statistički značajnih korelacija (i to pozitivnih) bilo je identifikovano između različitih ispitivanih jedinjenja zemljišnih PAU na odabranim lokacijama, što indikuje njihovo zajedničko poreklo, najverovatnije, atmosferske i dominantno, antropogene prirode.

4) Značajno je da su rezultati PCS pokazali i da parametar U nije bio od presudnog uticaja na sadržaj PAU u svim ispitivanim matriksima i time potvrdili da IZ u Boru, sa rudarsko/metalurškim kompleksom i gradskom toplanom, ne predstavlja glavni, niti jedini izvor PAU jedinjenja u kompletnom regionu. Naime, rezultati su bili takvi da su značajne korelacije postojale samo u slučaju par jedinjenja, posmatrano po svim ispitivanim matricama. Kako su se jedino za sadržaj DhA u neopranim grančicama i lišću FC pojavile značajne negativne korelacije sa parametrom U, to se jedino u slučaju ovog jedinjenja, sa sigurnošću može tvrditi da je ono, u vreme uzorkovanja, poticalo, pre svega, iz pomenutog izvora; ovome je verovatno pomogla i činjenica da je jedino struktura FC lista omogućila najbolje zadržavanje atmosferske depozicije. U prilog ovome idu i podaci da je, posmatrajući nadzemne delove svih ispitivanih biljnih vrsta po različitim lokacijama, DhA bio i najfrekventniji i najobilniji upravo kod FC. Ovo jedinjenje je inače bilo u negativnim korelacijama sa U i kod ostalih matrica (osim u slučaju korenja), ali one nisu bile na statistički značajnom nivou. Zanimljivo je da je najveća koncentracija ovog jedinjenja zapravo bila nađena kod grančica SV, na UI mestu BN: 1200,9 µg/kg, što ujedno predstavlja i najveću koncentraciju nekog pojedinačnog jedinjenja PAU zabeleženu u nadzemnim delovima, ali i potvrdu o prisustvu i nekih drugih izvora PAU u Boru i okolini (kućna ložišta u individualnim domaćinstvima, saobraćaj, roštiljanje u prirodi, paljenje strništa, spontani, tinjajući požari na gradskoj deponiji, ali i spontani šumski požari);

5) Važno je istaći i da su jedino sadržaji DhA (mogući kancerogen za ljude) kod zemljišta FC, na UI mestu NS (128 µg/kg), bile iznad USEPA granične vrednosti i to vezano za oba kriterijuma za TR i THQ za zemljišta u naseljenim mestima. Ovo dalje sugerise da bi, kada su u pitanju individualna jedinjenja, jedino u odnosu na pomenuti slučaj, neke mere remedijacije mogle biti preduzete. Međutim, kada se posmatraju izračunate sume ukupnih PAU u zemljištu svake lokacije, vidljivo je da nijedan od ispitanih uzoraka ne pripada klasi nezagađenih zemljišta. Dodatno, poređenje zemljišnih koncentracija SV, FC i HH sa odgovarajućim koncentracijama iz ranijeg

ispitivanog perioda, potvrdilo je da je, u slučaju većine PAU došlo do porasta njihovog sadržaja; jedino je sadržaj BaP značajno opao. Ovo povećanje u zemljišnim koncentracijama definitivno ukazuje i na potrebu primene adekvatnih ekoloških mera zaštite zemljišta u celokupnom posmatranom regionu. Konačno, visoke koncentracije DhA u nadzemnim delovima ispitivanih biljaka na skoro svim lokacijama (često višim i od USEPA graničnih vrednosti za zemljište), kao i visoki iznosi suma ukupnih PAU, ne samo da podržavaju mere očuvanja kvaliteta zemljišta, već i vazduha, jer je jasno da su značajne količine PAU u/na ispitivane biljke dospevale direktno iz vazduha. Uprkos ovim činjenicama, sve ispitivane biljne vrste su uspešno rasle na svojim prirodnim staništima, bez pokazivanja bilo kakvih (vidljivih) simptoma toksičnosti PAU, što ih preporučuje kao perspektivne i otporne vrste, prigodne i za opstanak i za obnavljanje vegetacije na zagađenim lokacijama.

6) Značajnu ulogu u otpornosti ovih biljaka najverovatnije je imalo jačanje imunog odgovora i razvijanje određenog nivoa tolerantnosti prema pojedinim PAU jedinjenjima, a što se najviše odrazilo kroz razvijanje posebnih taktika u korenskoj ekstrakciji/akumulaciji PAU. Kao što je već ukazano, iznosi koncentracija PAU u korenu, pružili su prvi uvid u te posebne i specifične osobine, gde su one samo ukazale da je, u toku ovih procesa, svaka biljna vrsta pokazala specifično i različito ponašanje prema pojedinačnim jedinjenjima, osim u nekim retkim slučajevima, kao što je to slučaj sa BaP i CHR. Naime, kako su ova jedinjenja verovatno izrazito toksična za sve ispitivane vrste, to su one razvile i sličnu taktiku odbrane, tj., izbegavanje njihovog usvajanja iz zemljišta. Najsigurniji uvid u sposobnost ispitivanih vrsta za bioakumulaciju u korenu su dali su izračunati BCF (za svako pojedinačno PAU jedinjenje na svakoj lokaciji). Poređenja izračunatih BCF, pokazala su da su njihove vrednosti bile na najrazličitijim nivoima, ali i da su jedinjenja poput Flr, BkF+BbF i DhA, uopšteno posmatrano, bila najefektnije usvajana/akumulirana, dok su jedinjenja poput BaP i CHR, bila potpuno isključena iz ovog usvajanja (osim na jednoj lokaciji za CHR) i to kod svih ispitivanih biljnih vrsta. I same variracije i neujednačenosti kod BCF za NM i VM PAU, dalo je jednu vrstu potvrde da hemijska struktura i fizičko-hemijske osobine pojedinačnih jedinjenja nisu imale neki značajan uticaj na usvajanje i akumulaciju PAU. Može se reći da se i kroz ove rezultate pokazalo da je uloga same biljne vrste bila presudna, a i da je jedini pouzdani zaključak da su sve ispitivane biljke bile sposobne da koncentrišu značajne količine različitih PAU u svom korenju (a posebno Flr, BkF+BbF i DhA), te da su, kao takve, sve one primenjive u fitostabilizaciji PAU, kao metodi koja suštinski limitira širenje PAU zagađenja u zemljištu. Ne može se isključiti da su ekskudati korenja ispitivanih biljaka imali određenu ulogu i u precipitaciji, degradaciji i ostalim procesima sa PAU u samom zemljištu (takođe moguće u kooperaciji sa mikrobima prisutnim u rizosferi), tako da je moguće da se ove vrste mogu primeniti i u rizodegradaciji (što bi trebalo detaljnije analizirati u budućim istraživanjima).

7) Sve prethodne pretpostavke i činjenice podržali su i rezultati izvedene PCS i HCA, koji su dodatno i faktički i ilustrativno pokazali:

- da ključnu ulogu u korenskom usvajanju/akumulaciji i lisnoj bioakumulaciji/depoziciji ima biljna vrsta sama po sebi (najverovatnije zbog različitih mogućnosti tolerisanja toksičnih koncentracija PAU); iako su sve ispitivane biljne vrste imale različito ponašanje prema različitim PAU, ipak su sve one imale sposobnost akumulacije i tolerisanja značajnih količina PAU jedinjenja u svom korenju (a naročito Flr, BkF+BbF i DhA), te da se, kao takve, sve biljne vrste mogu preporučiti za aplikaciju u fitostabilizaciji PAU, mada nije isključena ni njihova eventualna primena u metodi rizodegradacije,

- da korenje svih ispitivanih biljnih vrsta, iako sposobno da koncentriše i toleriše značajne količine PAU, ne može tačno da odrazi aktuelno stanje u zemljištu ni u odnosu prema sumi, ni prema pojedinačnim jedinjenjima (pre svega zbog njihovog specifičnog usvajanja/akumulacije od strane korena, osim u slučaju BaP i CHR), što ga dalje isključuje kao pogodan alat za izvođenje tačnog i preciznog fitomonitoringa, tj., stanja zagađenja u zemljištu; ovde je korisnije pratiti sadržaje PAU u samim zemljišnim uzorcima,
- da je najveći broj ispitivanih jedinjenja PAU u zemljište dospela u različito, ali ipak i pre svega, u skorije vreme i to preovlađujuće iz vazduha, verovatno primarno antropogenog porekla, dok je jedino BaP bio dominantno prirodnog porekla (najverovatnije dijagenetskog, ili biogenog); proces starenja nekih PAU, a pre svega BaP u uzorkovanom zemljištu je takođe bio moguć i takođe je bilo moguće njihovo formiranje na sve poznate načine: petrogenim, pirogenim, biogenim i dijagenetskim putem i
- da je doprinos autentične bioakumulacije u sadržaju PAU kod nadzemnih delova biljaka bio najveći u slučaju SV, a da je kod FC i HH, doprinos atmosfere depozicije bio izuzetno značajan, što je činjenica koju je neophodno imati na umu prilikom kreiranja postupka fitomonitoringa, kako bi se dobilo što tačnije tumačenja rezultata, a posebno rezultata iz hijerarhijskih dendrograma kreiranih u odgovarajućem statističkom programu; ipak, može se reći da nadzemni delovi svih ispitivanih biljaka mogu naći primenu u monitoringu sezonskog tipa i to pre svega, njihovo lišće.

Literatura

Alagić S.Č., Maluckov B.S., Radojičić V.B. (2015) How can plants manage polycyclic aromatic hydrocarbons? May these effects represent a useful tool for an effective soil remediation? A review, *Clean Technologies and Environmental Policy*, 17(3), 597–614.

Alagić S.Č., Stankov Jovanović V.P., Mitić V.D., Cvetković J.S., Petrović G.M., Stojanović G.S. (2016) Bioaccumulation of HMW PAHs in the roots of wild blackberry from the Bor region (Serbia): phytoremediation and biomonitoring aspects, *Science of the Total Environment*, 562, 561–570.

Alagić S., Stankov Jovanović V., Mitić V., Nikolić J., Petrović G., Tošić S., Stojanović S. (2017) The effect of multiple contamination of soil on LMW and MMW PAHs accumulation in the roots of *Rubus fruticosus* L. naturally growing near The Copper Mining and Smelting Complex Bor (East Serbia), *Environmental Science and Pollution Research*, 24(18), 15609–15621.

Alagić, S.Č., Nujkić, M.M., Tošić, S.B., Milić, S.M., Dimitrijević, M.D. (2019) Heavy Metal Pollution in the Region of Bor (Serbia) Resulting from the Long-Term Copper Mining and Metallurgical Activities: The Evidence Recorded in Plant Organs and Implications for Biomonitoring and Phytoremediation as Two Prospective Environmentally-Friendly Methods of Pollution Control. in *Serbia: Current Issues and Challenges in the Areas of Natural Resources. Agriculture and Environment*. Ed. Janev, I., New York. Nova Science Publishers US., 301–356.

Alagić, S.Č. (2022) Prisustvo potencijalno toksičnih metala u regionu Bora (istočna Srbija): Biljni zapis. Urednik: dr Milan Trumić; Tehnički fakultet u Boru, Univerziteta u Beogradu.

Al-Nasir F., Hijazin T.J., Al-Alawi M.M., Jiries A., Al-Madanat O.Y., Mayyas A., Al-Dalain S., Al-Dmour R., Alahmad, A., Batarseh M.I. (2022) Accumulation, Source Identification, and Cancer Risk Assessment of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Different Jordanian Vegetables, *Toxics*, 10, 643.

Altova E.P. i Hargittai I. (2022) Mikhail S. Tsvet—pioneer of chromatography—150 years from his birth, *Structural Chemistry*, 33, 1–3.

Antošova B., Hrabak P., Antoš V., Waclawek S. (2020) Chemical Oxidation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Water By Ferrates (VI), *Ecological Chemistry and Engineering S*, 27(4), 529–542.

Awere E., Obeng P.A., Bonoli A., Obeng P.A. (2020) E-waste recycling and public exposure to organic compounds in developing countries: a review of recycling practices and toxicity levels in Ghana, *Environmental Technology Reviews*, 9(1), 1–19.

Babić J.M. (2018) Ispitivanje uticaja odabranih filtera na koncentraciju policikličnih aromatičnih ugljovodonika kod proizvodnje toplo dimljenog šarana, Doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine, Beograd.

Balmer J.E., Hung H., Yu Y., Letcher R.J., Muir D.C.G. (2019) Sources and environmental fate of pyrogenic polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the Arctic, *Emerging Contaminants*, 5, 128–142.

Banach-Szott M., Debska B., Wisniewska A., Pakula J. (2015) Changes in the contents of selected polycyclic aromatic hydrocarbons in soils of various types, *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 5059–5069.

Barrero Mazquiarán M.A. i de Pinedo L.C. (2007) Organic composition of atmospheric urban aerosol: Variations and sources of aliphatic and polycyclic aromatic hydrocarbons, *Atmospheric Research*, 85, 288–299.

Bishnoi K., Rani P., Bishnoi N.R. (2024) Polycyclic aromatic hydrocarbons in sewage-irrigated vegetables from industrial cities in Haryana, India. *Environmental Monitoring and Assessment*, 196, 337.

Boll E.S., Christensen J.H., Holm P.E. (2008) Quantification and source identification of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediment, soil, and water spinach from Hanoi, Vietnam, *Journal of Environmental Monitoring*, 10, 261–269.

Calzoni G.L., Antognoni F., Pari E., Fonti P., Gnes A., Speranza A. (2007) Active biomonitoring of heavy metal pollution using *Rosa rugosa* plants, *Environmental Pollution*, 149, 239–245.

“Chemometrics”. *Merriam-Webster.com Dictionary*, Merriam-Webster, Dostupno na <https://www.merriam-webster.com/dictionary/Chemometrics>, 1.3.2025.

Crizel R.L. Zandoná G.P., Rossi R.C., Ferreira C.D., Hoffmann J.F. (2023) Solid-phase extraction for determination of phenolic compounds in food and beverage, Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering, Copyright © 2023 Elsevier Inc.; <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-15978-7.00001-1>; rad je proširena verzija poglavlja: M. Herrero, M. Plaza, A. Cifuentes, E. Ibáñez, 4.08 - Extraction Techniques for the Determination of Phenolic Compounds in Food, Editor(s): Janusz Pawliszyn, Comprehensive Sampling and Sample Preparation, Academic Press, 2012, Pages 159–180, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381373-2.00132-0>

Cvetkovic J.S., Mitic V.D., Stankov Jovanovic V.P., Dimitrijevic M.V., Petrovic G.M., Nikolic-Mandic S.D., Stojanovic G.S. (2016) Optimization of the QuEChERS extraction procedure for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil by gas chromatography-mass spectrometry, *Analytical Methods*, 8(7), 1711–1720.

Cvijović M.R. (2013) Ispitivanje reakcija hidrolize i kompleksiranja u rastvorima aluminijum(III)-jona i nekih fluorohinolona metodom elektrosprej–tandem masene spektrometrije, Doktorska disertacija, Univerzitet u Kragujevcu, Prirodno-matematički fakultet, Kragujevac

Deelaman W., Pongpiachan S., Tipmanee D., Choochuay C., Iadtem N., Suttinun O., Cao J. (2020) Source Identification of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Terrestrial Soils in Chile, *Journal of South American Earth Sciences*, 99, 102514.

EAHO, 2003. Environment Agency Head Office. The Determination of Polycyclic Aromatic hydrocarbons in Soil by Dichloromethane Extraction Using Gaschromatography with Mass Spectrometric Detection; Standing Committee of Analysts Environment Agency (National Laboratory Service): Nottingham, UK, 2003. Dostupno na: <https://www.gov.uk/government/organisations/environmentagency> (23.1.2025)

Fang G.-C., Chang K.-F., Lu C., Bai H. (2002) Toxic equivalency factors study of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Taichung City, Taiwan. *Toxicology and Industrial Health*, 18, 279–288.

Fu J., Zhao C., Luo Y., Liu C., Kyzas G.Z., Luo Y., Zhao D., An S., Zhu H. (2014) Heavy metals in surface sediments of the Jialu River, China: Their relations to environmental factors, *Journal of Hazardous Maters*, 270, 102–109.

Gad H.A., El-Ahmady S.H., Abou-Shoer M.I., Al-Azizi M.M. (2013) Application of Chemometrics in Authentication of Herbal Medicines: A Review, *Phytochemical Analysis*, 24, 1–24.

Gąsecka M., Włodarczyk-Makuła M., Popenda A., Drzewiecka K. (2015) Phytoremediation of PAH-Contaminated Areas. In: Ansari A.A., Gill S.S., Gill R., Lanza G.R., Newman L., editors. *Phytoremediation: Management of Environmental Contaminants*. Volume 1, Springer International Publishing, 295–309.

Golobočanin D.D., Škrbić B.D., Miljević N.R. (2004) Principal component analysis for soil contamination with PAHs, *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 72(2), 219–223.

Gu W., Bai J., Yuan W., Ma E., Zhang C., Wang J. (2019) Pollution analysis of soil polycyclic aromatic hydrocarbons from informal electronic waste dismantling areas in Xinqiao, China, *Waste Management & Research*, 37(4), 394–401.

Haritash A.K. i Kaushik C.P. (2009) Biodegradation aspects of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs): A review, *Journal of Hazardous Materials*, 169(1–3), 1–15.

He M., Yang S., Zhao J., Collins C., Xu J., Liu X. (2019) Reduction in the exposure risk of farmer from e-waste recycling site following environmental policy adjustment: A regional scale view of PAHs in paddy fields, *Environment International*, 133, 105136.

- Ho R. (2006) Handbook of univariate and multivariate data analysis and interpretation with SPSS, Taylor & Francis Group, LLC.
- Hussain Z.S. i Maqbool K. (2014) GC-MS: Principle, Technique and its application in Food Science, International Journal of Current Science, 13, E116–126.
- Huang D.-Y., Liu C.-P., Li F.-B., Liu T.-X., C.-S.Liu, L.Tao, Y.Wang (2014) Profiles, sources, and transport of polycyclic aromatic hydrocarbons in soils affected by electronic waste recycling in Longtang, south China, Environmental Monitoring and Assessment, 186(6), 3351–3364.
- Idowu O., Semple K.T., Ramadass K., O'Connor W., Hansbro P., Thavamani P. (2019) Beyond the obvious: Environmental health implications of polar polycyclic aromatic hydrocarbons, Environment International, 123, 543–557.
- Ilić P., Nišić T., Farooqi Z.U.R. (2021a) Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Contamination of Soil in an Industrial Zone and Evaluation of Pollution Sources, Polish Journal of Environmental Studies, 30(1), 155–162.
- Ilić P., Ilić S., Nešković Markić D., Stojanović Bjelić Lj., Farooqi Z.U.R., Bhausahab Sole B., Adimalla N. (2021b) Source identification and ecological risk of polycyclic aromatic hydrocarbons in soils and groundwater, Ecological Chemistry and Engineering S, 28(3), 355–363.
- Inobeme A., Nayak V., Mathew T.J., Okonkwo S., Ekwoba L., Ajai A.I., Bernard E., Inobeme J., Agbugui M.M., Singh K.R.B. (2022) Chemometric approach in environmental pollution analysis: A critical review, Journal of Environmental Management, Volume 309, 114653.
- Jia J., Bi C., Jin X., Zeng Y., Deng L., Wang X., Chen Z. (2021) Uptake, translocation, and risk assessment of PAHs in contaminated soil-air-vegetable systems based on a field simulation experiment, Environmental Pollution, 271, 116361.
- Jia J., Bi C., Zhang J., Jin X., Chen Z. (2018) Characterization of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in vegetables near industrial areas of Shanghai, China: Sources, exposure, and cancer risk, Environmental Pollution, 241, 750–758.
- Jia J., Bi C., Zhang J., Chen Z. (2019) Atmospheric deposition and vegetable uptake of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) based on experimental and computational simulations, Atmospheric Environment, 204, 135–141.
- Jolivet C., Arrouays D., Bernoux M. (1998) Comparison between analytical methods for organic carbon and organic matter determination in sandy Spodosols of France. Communication in Soil Science and Plant Analysis 29, 2227–2233.
- Jovčić N.S., Radonić J.R., Turk Sekulić M.M., Vojinović Miloradov M.B., Popov S.B. (2013) Identifikacija izvora emisije čestične frakcije policikličnih aromatičnih ugljovodonika u neposrednoj blizini industrijske zone Novog Sada, Hemijska Industrija, 67(2), 337–348.

Kariyawasam T., Doran G.S., Howitt J.A., Prenzler P.D. (2022) Polycyclic aromatic hydrocarbon contamination in soils and sediments: Sustainable approaches for extraction and remediation, *Chemosphere*, 291, 132981.

Kaur H., Kumar A., Bindra S., Sharma A. (2024) Phytoremediation: An emerging green technology for dissipation of PAHs from soil, *Journal of Geochemical Exploration*, 259, 107426.

Khan Z., Troquet J., Vachelard C. (2005) Sample preparation and analytical techniques for determination of polyaromatic hydrocarbons in soils, *International Journal of Environmental Science and Technology*, 2(3), 275–286.

Kicińska A. i Dmytrowski P. (2023) Anthropogenic impact on soils of protected areas—example of PAHs, *Scientific Reports*, 13, 1524.

King A., Readman J.W., Zhou J.L. (2003) The application of solid-phase micro-extraction (SPME) to the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), *Environmental Geochemistry and Health*, 25, 69–75.

Kipopoulou A.M., Manoli E., Samara C. (1999) Bioconcentration of polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetables grown in an industrial area, *Environmental Pollution*, 106, 369–380.

Li J., Xue J., Tan Y., Jia M., Feng J., Feng X., Zheng N., Fan H., Yao H. (2025) Distribution characteristics, source analysis and ecological risk assessment of PAHs in tea garden soil in China, *Environmental Research*, 266, 120559.

Liang Y., Fung P.K., Tse M.F., Hong H.C., Wong M.H. (2008) Sources and seasonal variation of PAHs in the sediments of drinking water reservoirs in Hong Kong and the Dongjiang River (China), *Environmental Monitoring and Assessment*, 146, 41–50.

Liao C., Yang P., Xie Z., Zhao Y., Cheng X., Zhang Y., Ren Z., Guo Z., Liao J. (2010) Application of GC – Triple Quadrupole MS in the Quantitative Confirmation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Phthalic Acid Esters in Soil, *Journal of Chromatographic Science*, 48, 161–166.

Liao C., Lv J., Fu J., Zhao Z., Liu F., Xue Q., Jiang G. (2012) Occurrence and profiles of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), polychlorinated biphenyls (PCBs) and organochlorine pesticides (OCPs) in soils from a typical e-waste recycling area in Southeast China, *International Journal of Environmental Health Research*, 22(4), 317–330.

Lodenus M. (2013) Use of plants for biomonitoring of airborne mercury in contaminated areas, *Environmental Research*, 125, 113–123.

Lourenço R.A., Lube G.V., Jarcovis R. De L., da Silva M.J., de Souza A.C. (2023) Navigating the PAH maze: Bioaccumulation, risks, and review of the quality guidelines in marine ecosystems with a spotlight on the Brazilian coastline, *Marine Pollution Bulletin*, 197, 115764.

- Ma Y., Cheng J., Jiao F., Duo K., Rong Z., Li M., Wang W. (2008) Distribution, sources, and potential risk of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in drinking water resources from Henan Province in middle of China, *Environmental Monitoring and Assessment*, 146, 127–138.
- Malik A., Ojha P., Singh K.P. (2008) Distribution of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Edible Fish from Gomti River, India, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 80(2), 134–138.
- Markert B., Wappelhorst O., Weckert V., Herpin U., Siewers U., Friese K., Breulmann G. (1999) The use of bioindicators for monitoring the heavy-metal status of the environment, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 240(2), 425–429.
- Meištininkas R., Vaškevičienė I., Dikšaitytė A., Pedišius N., Žaltauskaitė J. (2024) Biosurfactant-Assisted Phytoremediation of Diesel-Contaminated Soil by Three Different Legume Species. *Environments*, 11, 64.
- Melnyk A., Dettlaff A., Kuklińska K., Namieśnik J., Wolska L. (2015) Concentration and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) in surface soil near a municipal solid waste (MSW) landfill, *Science of The Total Environment*, 530–531, 18–27.
- Meudec A., Dussauze J., Jourdin M., Deslandes E., Poupart N. (2006) Gas chromatographic–mass spectrometric method for polycyclic aromatic hydrocarbon analysis in plant biota, *Journal of Chromatography A*, 1108, 240–247.
- Miller J.N. i Miller J.C. (2005) *Statistics and “Chemometrics” for Analytical Chemistry*, Pearson Education Limited, London.
- Milosavljević S.M. (1994) *Strukturne instrumentalne metode*, Hemijski fakultet, Beograd.
- Mogashane T.M., Mokoena L., Tshilongo J. (2024) A Review on Recent Developments in the Extraction and Identification of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from Environmental Samples, *Water*, 16(17), 2520.
- Molina L., Segura A. (2021) Biochemical and Metabolic Plant Responses toward Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Heavy Metals Present in Atmospheric Pollution. *Plants*, 10, 2305.
- Morillo E., Romero A.S., Maqueda C., Madrid L., Ajmone-Marsan F., Grcman H., Villaverde J. (2007) Soil pollution by PAHs in urban soils: a comparison of three European cities, *Journal of Environmental Monitoring*, 9(9), 1001–1008.
- Nikolić J. (2018) Optimizacija postupaka pripreme uzoraka zemljišta za kvantitativnu analizu policikličnih aromatičnih ugljovodonika primenom metode gasna hromatografija-masena spektrometrija, *Doktorska disertacija*, Univerzitet u Nišu, Prirodno matematički fakultet, Niš.

- Núñez S.S., Conesa J.A., Molto J., Fullana A., (2024) Decontamination of recycled LDPE using different washing methods, *Resources Conservation and Recycling*, 195, 107017.
- Nwoko C.O. (2010) Trends in phytoremediation of toxic elemental and organic pollutants. *African Journal of Biotechnology*, 9(37), 6010–6016.
- Onyema M.O., Obasi C.M., Okoye N.H., Osuji L.C. (2017) Distribution of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Soils within Vicinity of an Electronic Waste Open Burning Workshop in Aba, South East Nigeria, *International Journal of Sciences: Basic and Applied Research*, 35(1), 286–293.
- Pallant, J. (2009) SPM priručnik za preživljavanje. Postupni vodič kroz analizu podataka pomoću SPSS-a za Windows (verzija 15). Prevod 3. Izdanje: Mikro knjiga. Beograd.
- Papludis A., Simonović A., Alagić S. (2022) Sadržaj policikličnih aromatičnih ugljovodonika u zemljištu formiranih tokom spaljivanja e-otpada na mestima njegovog neadekvatnog odlaganja i reciklaže, *Materials Protection*, 63(2), 165–176.
- Papludis A., Alagić S., Milić S., Medić D., Zlatanović I., Nikolić J., Stankov Jovanović V. (2023a) The capacities of *Hedera helix* from the Bor region for PAH accumulation in the root and implications for phytostabilization, *Materials protection*, 64(1), 13–21.
- Papludis A.D., Alagić S.Č., Milić S.M., Nikolić J.S., Medić D.V., Stević Z.M., Stankov Jovanović V.P. (2023b) A consideration of phenanthrene presence in Bor's municipality based on its content in leaves and stems of *Hedera helix* L., 11th International Conference on Renewable Electrical Power Sources, Union of Mechanical and Electrotechnical Engineers and Technicians of Serbia (SMEITS), Society for Renewable Electrical Power Sources, 239–243.
- Papludis A., Alagić S., Milić S., Nikolić J., Zlatanović I., Jevtović S., Stankov Jovanović V. (2024a) Naphtalene screening in Bor's municipality based on its concentrations in leaves and stems of *Hedera helix* L., 31st International conference Ecological Truth & Environmental Research - EcoTER'24, Sokobanja, Serbia, 18-21 June 2024, University of Belgrade, Technical faculty in Bor, 38–42.
- Papludis A.D., Alagić S.Č., Milić S.M., Medić D.V., Stanković S.S., Nedelkovski V.V., Cvetković A.Z. (2024b) Phytomonitoring of pyrene of atmospheric origin in the rural and urban/industrial sites of Bor's municipality using leaves and stems of *Hedera helix* L., *Chemia Naissensis*, 6(2), 34–41.
- Papludis A.D., Alagić S.Č., Milić S.M., Nikolić J.S., Jevtović S.Č., Stankov Jovanović V.P., Stojanović G.S. (2025) Chemometric Evaluation of 16 Priority PAHs in Soil and Roots of *Syringa vulgaris* and *Ficus carica* from the Bor Region (Serbia): An Insight into the Natural Plant Potential for Soil Phytomonitoring and Phytoremediation, *Environments*, 12(8), 256.
- Patel A.B., Shaikh S., Jain K.R., Desai C., Madamwar D. (2020) Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Sources, Toxicity, and Remediation Approaches, *Frontiers in Microbiology*, 11, 562813.

Prabakaran K., Li J., Anandkumar A., Leng Z., Zou C.B., Du D. (2019) Managing environmental contamination through phytoremediation by invasive plants: A review, *Ecological Engineering*, 138, 28–37.

Prupp A.H. (2013) *Statistics in Food Science and Nutrition*. Editor-in-Chief Richard W. Hartel, Associate Editors, J. Peter Clark, David Rodriguez-Lazaro, David Topping, Springer New York Heidelberg Dordrecht London.

Ravindra K., Sokhi R., Van Grieken R. (2008) Atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons: Source attribution, emission factors and regulation, *Atmospheric Environment*, 42, 2895–2921.

Ratola N., Amigo J.M., Alves A. (2010) Comprehensive assessment of pine needles as bioindicators of PAHs using multivariate analysis, The importance of temporal trends, *Chemosphere*, 81, 1517–1525.

Ratola N., Lacorte S., Alves A., Barceló D. (2006) Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in pine needles by gas chromatography – mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1114, 198–204.

Reichenauer T.G. i Germida J.J. (2008) Phytoremediation of Organic Contaminants in Soil and Groundwater, *Chemistry Sustainability Energy Materials*, 1(8–9), 708–717.

Reid B.J., Jones K.C., Semple K.T. (2000) Bioavailability of persistent organic pollutants in soils and sediments - a perspective on mechanisms, consequences and assessment, *Environmental Pollution*, 108, 103–12.

RoyChowdhury A., Sarkar D., Datta R. (2015) Remediation of Acid Mine Drainage-Impacted Water, *Current Pollution Reports*, 1, 131–141.

Ristić, M. (2019) *Skripta iz "Hromatografije i separacionih metoda" (Drugi deo: Hromatografija)*, Fakultet za fizičku hemiju, Beograd.

Royuela D., Veses A., Martínez J.D., Callen M.S., Lopez J.M., García T., Murillo R. (2024) Thermochemical recycling of polystyrene waste by pyrolysis using a pilot-scale auger reactor: Process demonstration in a relevant environment, *Resources Conservation and Recycling*, 211, 107869.

Rusănescu C.O., Istrate I.A., Rusănescu A.M., Constantin G.A. (2025) Bioremediation of Soil Contamination with Polycyclic Aromatic Hydrocarbons — A Review, *Land*, 14, 10.

Sadowska-Rociek A., Surma M., Ciešlik E. (2013) Application of QuEChERS method for simultaneous determination of pesticide residues and PAHs in fresh herbs, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 4, 508–513.

Sadowska-Rociak A., Surma M., Cieřlik E. (2014) Comparison of different modifications on QuEChERS sample preparation method for PAHs determination in black, green, red and white tea, *Environmental Science and Pollution Research*, 21, 1326–1338.

Sakshi, Singh S.K., Haritash A.K. (2019) Polycyclic aromatic hydrocarbons: soil pollution and remediation, *International Journal of Environmental Science and Technology*, 16, 6489–6512.

Sari M.F., Esen F., Tasdemir Y. (2020) Biomonitoring and Source Identification of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) Using Pine Tree Components from Three Different Sites in Bursa, Turkey, *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*.

Schmidt K. i Podmore I. (2015) Current Challenges in Volatile Organic Compounds Analysis as Potential Biomarkers of Cancer, *Journal of Biomarkers, Conference proceedings*, 981458.

Schwab A.P. i Dermody C.L. (2021) Pathways of polycyclic aromatic hydrocarbons assimilation by plants growing in contaminated soils, *Advances in Agronomy*, 193–250.

Shi T., Tian K., Bao H., Liu X., Wu F. (2017) Variation in foliar uptake of polycyclic aromatic hydrocarbons in six varieties of winter wheat, *Environmental Science and Pollution Research*, 24, 27215–27224.

Simon J.A. i Sobieraj J.A. (2006) Contributions of Common Sources of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons to Soil Contamination, *Remediation Journal*, 16(3), 25–35.

Simon E., Baranyai E., Braun M., Cserhati C., Fabian I., Tothmeresz B. (2014) Elemental concentrations in deposited dust on leaves along an urbanization gradient, *Science of the Total Environment* 490, 514–520.

"Sluřbeni glasnik RS", br. 54/92, 30/99, 19/2006.

Smith M.J., Flowers T.H., Duncan H.J., Saito H. (2011) Study of PAH dissipation and phytoremediation in soils: Comparing freshly spiked with weathered soil from a former coking works, *Journal of Hazardous Materials*, 192, 1219–1225.

Sojinu O.S., Sonibare O.O., Ekundayo O., Zeng E.Y. (2010) Biomonitoring potentials of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by higher plants from an oil exploration site, Nigeria, *Journal of Hazardous Materials*, 184, 759–764.

Stepanov I., Villalta P.W., Knezevich A., Jensen J., Hatsukami D., Hecht S.S. (2010) Analysis of 23 Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Smokeless Tobacco by Gas Chromatography–Mass Spectrometry, *Chemical Research in Toxicology*, 23(1), 66–73.

Sumathi K. i Rameshpathy M. (2023) Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons contaminated soils: Recent progress, perspectives and challenges. *Environmental Monitoring and Assessment*, 195, 1441.

- Sun J.H., Wang G.L., Chai Y., Zhang G., Li J., Feng J. (2009) Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Henan Reach of the Yellow River, Middle China, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72, 1614–1624.
- Sushkova S., Minkina T., Tarigholizadeh S., Antonenko E., Konstantinova E., Gülser C., Dudnikova T., Barbashev A., Kızılkaya R. (2020) PAHs accumulation in soil-plant system of *Phragmites australis* Cav. in soil under long-term chemical contamination, *Eurasian Journal of Soil Science*, 9(3), 242–253.
- Tao S., Cui Y.H., Xu F.L., Li B.G., Cao J., Liu W.X., Schmitt G., Wang X.J., Shen W.R., Qing B.P., Sun R. (2004) Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in agricultural soil and vegetables from Tianjin, *Science of the Total Environment*, 320, 11–24.
- Tao S., Jiao X.C., Chen S.H., Liu W.X., Coveney Jr.R.M., Zhu L.Z., Luo Y.M. (2006) Accumulation and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in rice (*Oryza sativa*), *Environmental Pollution*, 140, 406–415.
- Tarigholizadeh S., Sushkova S., Rajput V.D., Ranjan A., Arora J., Dudnikova T., Barbashev A., Mandzhieva S., Minkina T., Wong M.H. (2024) Transfer and Degradation of PAHs in the Soil-Plant System: A Review, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 72(1), 46–64.
- Thompson M., Ellison S.L.R., Wood, R (2002). Harmonized Guidelines for Single Laboratory Validation of Methods of Analysis. (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*, 74, 835–855. Dostupno na: <https://publications.iupac.org/pac/2002/pdf/7405x0835.pdf> (23.1.2025).
- Ukalska-Jaruga A. i Smreczak B. (2020) The Impact of Organic Matter on Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAH) Availability and Persistence in Soils, *Molecules*, 25(11), 2470.
- USEPA, 2024. United States Environmental Protection Agency (2024) Risk-Based Screening Table – Generic Tables; Regional Screening Level, RSL Summary Table (TR=1•10⁻⁶ and THQ=1.0) May 2016. Dostupno na: <https://www.epa.gov/risk/regional-screening-levels-rsls-generic-tables> (1.3.2025).
- Vane C.H., Kim A.W., Beriro D.J., Cave M.R., Knights K., Moss-Hayes V., Nathanail P.C. (2014) Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) and polychlorinated biphenyls (PCB) in urban soils of Greater London, UK, *Applied Geochemistry*, 51, 303–314.
- Wagrowski D.M. i Hites R.A. (1996) Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Accumulation in Urban, Suburban, and Rural Vegetation, *Environmental Science & Technology*, 31(1), 279–282.
- Wang Z., Ma X., Na G., Lin Z., Ding Q., Yao Z. (2009) Correlations between physicochemical properties of PAHs and their distribution in soil, moss and reindeer dung at Ny-Ålesund of the Arctic, *Environmental Pollution*, 157, 3132–3136.

Wang Y., Tian Z., Zhu H., Cheng Z., Kang M., Luo C., Li J., Zhang G. (2012) Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soils and vegetation near an e-waste recycling site in South China: Concentration, distribution, source, and risk assessment, *Science of the Total Environment*, 439, 187–193.

Weber F., Kowarik I., Säumel I. (2014) Herbaceous plants as filters: immobilization of particulates along urban street corridors, *Environmental Pollution*, 186, 234–24.

Wilcke W. (2000) Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Soil – a Review, *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 163, 229–248.

Włóka D., Placek A., Smol M., Rorat A., Hutchison D., Kacprzak M. (2019) The efficiency and economic aspects of phytoremediation technology using *Phalaris arundinacea* L. and *Brassica napus* L. combined with compost and nano SiO₂ fertilization for the removal of PAH's from soil, *Journal of Environmental Management*, 234, 311–319.

Zhang J. i Fan S. (2016) Influence of PAH speciation in soils on vegetative uptake of PAHs using successive extraction, *Journal of Hazardous Materials*, 320, 114–122.

Zhang S., Yao H., Lu Y., Yu X., Wang J., Sun S., Liu M., Li D., Li Y-F., Zhang D. (2017) Uptake and translocation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and heavy metals by maize from soil irrigated with wastewater, *Scientific Reports*, 7(1), 12165.

Zhao Z., He W., Wu R., Xu F. (2022) Distribution and Relationships of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Soils and Plants near Major Lakes in Eastern China, *Toxics*, 10, 577.

Zhu Z., Li L., Yu Y., Tan L., Wang Z., Suo S., Liu C., Qin Y., Peng X., Lu H., Liang W. (2023) Distribution, source, risk and phytoremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in typical urban landscape waters recharged by reclaimed water, *Journal of Environmental Management*, 330, 117214.

Xiao N., Liu R., Jin C., Dai Y. (2015) Efficiency of five ornamental plant species in the phytoremediation of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH)-contaminated soil, *Ecological Engineering*, 75, 384–391.

<http://elektron.tmf.bg.ac.rs/organskahemija/Gasna%20hromatografija%202010.pdf>

<https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/gas-chromatography>

<http://instrumentalne.tmf.bg.ac.rs/Primeri%202020-21/3.%20Hromatografija.pdf>

[https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Instrumental_Analysis_\(LibreTexts\)/27%3A_Gas_Chromatography/27.03%3A_Gas_Chromatographic_Columns_and_Stationary_Phase](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Instrumental_Analysis_(LibreTexts)/27%3A_Gas_Chromatography/27.03%3A_Gas_Chromatographic_Columns_and_Stationary_Phase)
[s](#)

<https://www.tehnologijahrane.com/enciklopedija/gasna-hromatografija-masena-spektrometrija-gc-ms>

<https://www.sentryca.com/supercritical-fluid-extraction/>

https://bor.rs/wp-content/uploads/2021/02/Izv.-o-kvalitetu-vazduha-u-Boru_GODISNJI_2020.pdf

<https://www.plantea.com.hr/jorgovan/>

<https://www.plantea.com.hr/smokva/>

<https://www.plantea.com.hr/brsljan/>

<https://www.enciklopedija.hr/clanak/jorgovan>

https://hr.wikipedia.org/wiki/Obi%C4%8Dni_jorgovan#/media/Datoteka:Syringa_vulgaris1.jpg

<https://www.enciklopedija.hr/clanak/smokva>

<https://sr.wikipedia.org/sr-el/%D0%A1%D0%BC%D0%BE%D0%BA%D0%B2%D0%B0#>

<https://srpskaenciklopedija.rs/books/slovo-b/page/brsljan>

<https://onlineherbar.bio.bg.ac.rs/081.html>

<https://www.enciklopedija.hr/clanak/brsljan>

<https://www.alphaherbalconcept.com/brsljan/>

Prilog 1: Tabelarni prikazi rezultata Pearson-ove korelacije studije

Tabela PCS1. Pearson-ove korelacije za ispitivane varijable kod korena i zemljišta SV (Papludis i sar., 2025)

Varijable	NapZ	NapKR	AcyZ	AcyKR	AceZ	AceKR	FlrZ	FlrKR
U	-0,271	-0,353	-0,465	-0,184	-0,151	0,040	-0,122	0,762*
pH	-0,140	-0,470	0,384	-0,053	0,416	0,016	-0,198	-0,180
EC	-0,022	-0,208	0,548	-0,193	0,529	0,376	0,013	-0,278
OM	0,233	0,455	0,477	-0,175	0,452	-0,598	0,447	-0,788*
NapZ	1,000	0,215	0,588	0,495	0,381	0,033	0,870**	-0,482
NapKR		1,000	-0,029	-0,039	-0,342	-0,298	0,259	-0,520
AcyZ			1,000	0,104	0,534	-0,080	0,569	-0,586
AcyKR				1,000	-0,063	0,179	0,304	-0,237
AceZ					1,000	0,152	0,615	-0,173
AceKR						1,000	0,002	0,499
FlrZ							1,000	-0,419
FlrKR								1,000
AntZ								
AntKR								
PheZ								
PheKR								
FltZ								
FltKR								
PyrZ								
PyrKR								
BaAZ								
BaAKR								
CHRZ								
BaPZ								
BkFBbFZ								
BkFBbFKR								
DhAZ								
DhAKR								

Nastavak Tabele PCS1.								
Varijable	AntZ	AntKR	PheZ	PheKR	FltZ	FltKR	PyrZ	PyrKR
U	-0,365	-0,421	-0,245	-0,510	-0,397	-0,156	-0,406	-0,204
pH	0,290	0,149	0,358	0,387	0,230	0,443	0,268	0,413
EC	0,782*	0,025	0,622	0,628	0,725*	-0,085	0,745*	-0,090
OM	0,227	-0,029	0,424	0,171	0,316	0,380	0,326	0,346
NapZ	0,415	0,114	0,294	-0,108	0,455	0,157	0,412	0,193
NapKR	-0,099	0,119	-0,069	-0,018	0,050	-0,169	0,031	-0,107
AcyZ	0,809**	-0,105	0,524	0,553	0,827**	0,112	0,842**	0,102
AcyKR	-0,129	-0,046	-0,283	-0,156	-0,179	-0,238	-0,196	-0,231
AceZ	0,611	-0,298	0,850**	-0,101	0,567	0,276	0,552	0,210
AceKR	0,396	-0,212	0,332	-0,102	0,306	-0,571	0,279	-0,543
FlrZ	0,464	-0,276	0,562	-0,277	0,516	0,061	0,473	0,050
FlrKR	-0,262	-0,300	-0,091	-0,443	-0,333	-0,228	-0,339	-0,246
AntZ	1,000	-0,168	0,744*	0,502	0,984**	-0,173	0,983**	-0,168
AntKR		1,000	-0,372	0,276	-0,155	0,517	-0,161	0,603
PheZ			1,000	-0,043	0,750*	0,070	0,734*	0,039
PheKR				1,000	0,489	-0,100	0,538	-0,076
FltZ					1,000	-0,143	0,997**	-0,129
FltKR						1,000	-0,140	0,992**
PyrZ							1,000	-0,130
PyrKR								1,000
BaAZ								
BaAKR								
CHRZ								
BaPZ								
BkFBbFZ								
BkFBbFKR								
DhAZ								
DhAKR								

Nastavak Tabele PCS1.								
Varijable	BaAZ	BaAKR	CHRZ	BaPZ	BkFBbFZ	BkFBbFKR	DhAZ	DhAKR
U	-0,441	-0,190	-0,392	0,280	-0,553	-0,186	-0,334	0,135
pH	0,259	0,315	0,221	-0,275	-0,149	0,544	-0,343	0,137
EC	0,715*	-0,170	0,749*	-0,637	-0,104	0,630	0,337	-0,070
OM	0,327	0,110	0,315	0,141	0,113	0,322	0,361	0,173
NapZ	0,517	0,325	0,431	0,122	0,668*	-0,254	0,413	-0,517
NapKR	0,031	-0,047	0,043	0,066	0,501	-0,429	0,659	-0,051
AcyZ	0,859**	0,190	0,798*	-0,497	0,155	0,412	0,366	0,062
AcyKR	-0,153	-0,129	-0,201	0,186	0,466	0,025	-0,200	-0,035
AceZ	0,561	-0,013	0,586	0,052	-0,205	0,515	0,196	-0,238
AceKR	0,243	-0,401	0,327	-0,408	-0,074	0,041	0,214	-0,401
FlrZ	0,518	0,052	0,504	0,179	0,325	-0,028	0,529	-0,338
FlrKR	-0,397	-0,170	-0,322	0,000	-0,576	-0,172	-0,383	-0,032
AntZ	0,973**	-0,090	0,987**	-0,677*	-0,002	0,399	0,606	-0,201
AntKR	-0,020	0,634	-0,147	0,164	0,678*	-0,478	-0,069	-0,521
PheZ	0,697*	-0,058	0,762*	-0,254	-0,216	0,360	0,503	-0,247
PheKR	0,530	0,011	0,482	-0,740*	0,067	0,410	0,170	0,288
FltZ	0,987**	-0,034	0,997**	-0,663	0,056	0,311	0,694*	-0,196
FltKR	-0,036	0,847**	-0,154	0,475	0,181	-0,173	-0,352	-0,234
PyrZ	0,984**	-0,036	0,993**	-0,697*	0,022	0,353	0,663	-0,136
PyrKR	-0,015	0,893**	-0,142	0,447	0,279	-0,268	-0,300	-0,307
BaAZ	1,000	0,082	0,983**	-0,618	0,156	0,264	0,657	-0,262
BaAKR		1,000	-0,071	0,209	0,428	-0,486	-0,231	-0,345
CHRZ			1,000	-0,648	0,043	0,326	0,709*	-0,222
BaPZ				1,000	0,177	-0,339	-0,338	-0,245
BkFBbFZ					1,000	-0,560	0,313	-0,578
BkFBbFKR						1,000	-0,134	0,551
DhAZ							1,000	-0,346
DhAKR								1,000

** - Korelacija je značajna na nivou 0,01 (dvostrani test)

* - Korelacija je značajna na nivou 0,05 (dvostrani test)

U – udaljenost; KR – koren; Z - zemljište

Tabela PCS2. Pearson-ove korelacije za ispitivane varijable kod korena i zemljišta FC (Papludis i sar., 2025)

Varijable	NapZ	NapKR	AcyZ	AcyKR	AceZ	AceKR	FlrZ	FlrKR
U	0,125	0,088	-0,022	-0,401	0,081	-0,529	-0,012	0,354
pH	-0,815**	0,044	-0,365	0,159	-0,032	-0,017	0,155	-0,189
EC	-0,251	0,049	0,202	0,187	0,356	0,473	0,299	0,694*
OM	0,293	0,462	0,834**	-0,272	0,827**	-0,120	0,662	0,625
NapZ	1,000	-0,157	0,561	-0,474	0,194	0,015	0,108	0,028
NapKR		1,000	0,372	0,440	0,303	-0,653	0,022	0,092
AcyZ			1,000	-0,270	0,842**	-0,174	0,728*	0,493
AcyKR				1,000	-0,332	-0,078	-0,444	-0,367
AceZ					1,000	-0,261	0,921**	0,664
AceKR						1,000	-0,044	0,121
FlrZ							1,000	0,608
FlrKR								1,000
AntZ								
AntKR								
PheZ								
PheKR								
FltZ								
FltKR								
PyrZ								
PyrKR								
BaAZ								
BaAKR								
CHRZ								
BaPZ								
BkFBbFZ								
BkFBbFKR								
DhAZ								
DhAKR								

Nastavak Tabele PCS2.								
Varijable	AntZ	AntKR	PheZ	PheKR	FltZ	FltKR	PyrZ	PyrKR
U	-0,034	-0,361	0,107	-0,219	-0,003	-0,361	0,007	-0,361
pH	0,105	-0,353	0,046	-0,047	-0,097	-0,353	-0,116	-0,353
EC	0,676*	0,471	0,279	0,385	0,387	0,471	0,153	0,471
OM	0,801**	-0,098	0,692*	-0,358	0,704*	-0,098	0,600	-0,098
NapZ	-0,171	0,184	0,175	-0,162	0,100	0,184	0,203	0,184
NapKR	0,540	-0,528	0,173	-0,386	0,615	-0,528	0,611	-0,528
AcyZ	0,657	-0,242	0,811**	-0,403	0,768*	-0,242	0,727*	-0,242
AcyKR	0,030	-0,013	-0,432	0,132	0,048	-0,013	-0,006	-0,013
AceZ	0,768*	-0,410	0,900**	-0,493	0,625	-0,410	0,482	-0,410
AceKR	-0,055	0,868**	-0,080	0,757*	-0,095	0,868**	-0,126	0,868**
FlrZ	0,671*	-0,349	0,941**	-0,395	0,529	-0,349	0,400	-0,349
FlrKR	0,772*	0,078	0,700*	0,139	0,594	0,078	0,423	0,078
AntZ	1,000	-0,183	0,759*	-0,104	0,867**	-0,183	0,706*	-0,183
AntKR		1,000	-0,361	0,745*	-0,213	1,000**	-0,235	1,000**
PheZ			1,000	-0,279	0,737*	-0,361	0,651	-0,361
PheKR				1,000	-0,071	0,745*	-0,053	0,745*
FltZ					1,000	-0,213	0,957**	-0,213
FltKR						1,000	-0,235	1,000**
PyrZ							1,000	-0,235
PyrKR								1,000
BaAZ								
BaAKR								
CHRZ								
BaPZ								
BkFBbFZ								
BkFBbFKR								
DhAZ								
DhAKR								

Nastavak Tabele PCS2.									
Varujable	BaAZ	BaAKR	CHRZ	BaPZ	BkFBbFZ	BkFBbFKR	DhAZ	DhAKR	
U	-0,121	-0,274	-0,085	0,442	-0,292	-0,034	-0,167	-0,307	
pH	-0,090	0,049	-0,097	0,047	0,014	-0,116	0,052	0,502	
EC	0,269	-0,272	-0,017	-0,319	-0,481	0,392	0,201	0,522	
OM	0,829**	0,205	0,378	0,176	0,012	0,150	0,655	-0,141	
NapZ	0,245	0,227	0,189	0,322	0,413	-0,319	0,185	-0,686*	
NapKR	0,545	0,389	0,591	-0,333	-0,041	0,650	0,367	-0,172	
AcyZ	0,831**	0,371	0,568	0,316	0,280	0,021	0,650	-0,225	
AcyKR	-0,117	0,018	0,144	-0,899**	-0,253	0,782*	-0,267	0,427	
AceZ	0,653	-0,009	0,227	0,445	-0,100	-0,028	0,460	0,093	
AceKR	-0,083	0,029	-0,095	-0,120	0,190	-0,252	0,142	0,285	
FlrZ	0,584	0,008	0,168	0,592	0,044	-0,243	0,470	0,256	
FlrKR	0,448	-0,152	0,165	0,335	-0,308	0,046	0,433	0,147	
AntZ	0,778*	0,189	0,500	0,036	-0,130	0,363	0,662	0,272	
AntKR	-0,186	-0,095	-0,194	-0,328	0,003	-0,055	-0,032	0,029	
PheZ	0,713*	0,231	0,438	0,598	0,182	-0,192	0,660	0,092	
PheKR	-0,297	0,081	0,029	-0,247	0,066	-0,106	0,059	0,097	
FltZ	0,900**	0,571	0,849**	0,051	0,265	0,329	0,829**	-0,021	
FltKR	-0,186	-0,095	-0,194	-0,328	0,003	-0,055	-0,032	0,029	
PyrZ	0,882**	0,766*	0,953**	0,107	0,494	0,208	0,886**	-0,235	
PyrKR	-0,186	-0,095	-0,194	-0,328	0,003	-0,055	-0,032	0,029	
BaAZ	1,000	0,609	0,771*	0,121	0,396	0,225	0,868**	-0,119	
BaAKR		1,000	0,884**	0,042	0,879**	-0,072	0,787*	-0,449	
CHRZ			1,000	-0,032	0,632	0,230	0,815**	-0,282	
BaPZ				1,000	0,291	-0,795*	0,270	-0,295	
BkFBbFZ					1,000	-0,442	0,617	-0,478	
BkFBbFKR						1,000	-0,095	0,335	
DhAZ							1,000	-0,258	
DhAKR								1,000	

** - Korelacija je značajna na nivou 0,01 (dvostrani test)

* - Korelacija je značajna na nivou 0,05 (dvostrani test)

U – udaljenost; KR – koren; Z - zemljište

Tabela PCS3. Pearson-ove korelacije za ispitivane varijable kod korena i zemljišta HH

Varijable	NapZ	NapKR	AcyZ	AcyKR	AceZ	AceKR	FlrZ	FlrKR	AntZ	AntKR
U	-0,500	-0,367	-0,051	-0,286	-0,141	-0,027	-0,031	0,100	-0,419	-0,078
pH	-0,295	0,157	0,356	0,260	0,644	-0,124	0,513	0,000	0,438	-0,361
EC	0,529	-0,010	-0,077	-0,172	-0,377	-0,155	-0,437	-0,184	-0,244	0,159
OM	0,297	0,271	0,410	0,032	0,341	-0,269	0,040	-0,099	0,265	-0,106
NapZ	1	-0,146	0,127	-0,301	0,419	-0,477	0,359	-0,266	0,455	-0,333
NapKR		1	-0,129	0,764*	-0,016	0,552	-0,342	0,370	0,513	0,660
AcyZ			1	-0,232	0,626	-0,221	0,626	-0,308	0,173	-0,447
AcyKR				1	-0,015	0,244	-0,333	-0,074	0,343	0,385
AceZ					1	-0,364	0,882**	-0,189	0,744*	-0,568
AceKR						1	-0,272	0,672*	0,084	0,889**
FlrZ							1	-0,193	0,533	-0,574
FlrKR								1	0,139	0,520
AntZ									1	0,023
AntKR										1
PheZ										
PheKR										
FltZ										
FltKR										
PyrZ										
PyrKR										
BaAZ										
BaAKR										
CHRZ										
CHRKR										
BaPZ										
BkFBbFZ										
BkFBbFKR										
DhAZ										
DhAKR										

Nastavak Tabele PCS3.								
Varijable	PheZ	PheKR	FltZ	FltKR	PyrZ	PyrKR	BaAZ	BaAKR
U	-0,243	-0,502	-0,421	-0,523	-0,406	0,080	-0,416	-0,241
pH	0,316	-0,743*	0,369	-0,066	0,398	0,203	0,510	0,141
EC	-0,242	0,755*	-0,158	0,096	-0,173	-0,459	-0,288	-0,075
OM	0,014	-0,145	0,229	-0,124	0,231	-0,684*	0,168	-0,173
NapZ	0,577	0,430	0,616	-0,238	0,596	-0,287	0,562	0,143
NapKR	-0,117	-0,169	0,235	0,819**	0,211	-0,346	0,149	-0,109
AcyZ	0,266	-0,079	0,295	-0,399	0,314	-0,457	0,265	-0,172
AcyKR	-0,195	-0,223	0,108	0,748*	0,092	-0,203	-0,010	-0,252
AceZ	0,660	-0,455	0,736*	-0,396	0,720*	-0,268	0,825**	-0,018
AceKR	-0,177	-0,132	-0,126	0,446	-0,165	-0,100	-0,263	-0,299
FlrZ	0,759*	-0,334	0,651	-0,646	0,639	-0,107	0,663	-0,091
FlrKR	-0,262	-0,397	-0,212	0,246	-0,260	0,206	0,130	0,316
AntZ	0,655	-0,354	0,864**	0,131	0,820**	-0,325	0,829**	-0,064
AntKR	-0,263	0,104	-0,146	0,618	-0,179	-0,214	-0,409	-0,349
PheZ	1	0,016	0,914**	-0,344	0,920**	-0,083	0,630	-0,120
PheKR		1	-0,041	0,165	-0,011	-0,077	-0,327	0,022
FltZ			1	-0,069	0,994**	-0,290	0,744*	-0,127
FltKR				1	-0,068	0,048	-0,090	0,157
PyrZ					1	-0,250	0,721*	-0,098
PyrKR						1	0,033	0,695*
BaAZ							1	0,408
BaAKR								1
CHRZ								
CHRKR								
BaPZ								
BkFBbFZ								
BkFBbFKR								
DhAZ								
DhAKR								

Nastavak Tabele PCS3.							
Varijable	CHRZ	CHRKR	BaPZ	BkFBbFZ	BkFBbFKR	DhAZ	DhAKR
U	-0,431	-0,361	0,525	0,509	-0,120	0,008	0,237
pH	0,515	-0,888**	0,258	0,439	-0,065	0,341	0,248
EC	-0,171	0,981**	-0,540	-0,257	0,332	-0,109	-0,141
OM	0,395	0,193	-0,310	0,525	0,621	0,402	0,410
NapZ	0,374	0,592	-0,061	0,177	0,261	0,139	0,338
NapKR	0,343	-0,110	-0,482	-0,307	0,501	-0,145	0,025
AcyZ	0,685*	-0,165	-0,265	0,575	0,010	0,943**	-0,030
AcyKR	0,216	-0,215	-0,429	-0,395	0,026	-0,245	-0,166
AceZ	0,768*	-0,377	0,205	0,595	0,095	0,700*	0,527
AceKR	-0,127	-0,216	-0,014	-0,293	0,108	-0,178	-0,140
FlrZ	0,609	-0,398	0,429	0,660	-0,212	0,689*	0,375
FlrKR	-0,305	-0,214	0,327	-0,264	0,581	-0,144	0,440
AntZ	0,720*	-0,247	0,079	0,235	0,324	0,252	0,530
AntKR	-0,213	0,093	-0,224	-0,402	0,191	-0,452	-0,212
PheZ	0,660	-0,182	0,293	0,566	-0,235	0,207	0,199
PheKR	-0,068	0,795*	-0,542	-0,320	-0,167	-0,263	-0,616
FltZ	0,829**	-0,139	0,037	0,453	0,027	0,246	0,269
FltKR	0,030	0,060	-0,591	-0,717*	0,265	-0,485	-0,351
PyrZ	0,844**	-0,155	0,011	0,478	-0,008	0,234	0,209
PyrKR	-0,445	-0,339	0,458	-0,320	-0,284	-0,487	-0,113
BaAZ	0,624	-0,243	0,230	0,237	0,353	0,348	0,614
BaAKR	-0,148	-0,009	0,106	-0,324	0,365	-0,181	0,181
CHRZ	1	-0,228	-0,328	0,463	0,081	0,578	0,042
CHRKR		1	-0,446	-0,316	0,243	-0,185	-0,136
BaPZ			1	0,325	-0,191	-0,086	0,567
BkFBbFZ				1	-0,084	0,539	0,329
BkFBbFKR					1	0,116	0,585
DhAZ						1	0,220
DhAKR							1

** - Korelacija je značajna na nivou 0,01 (dvostrani test)

* - Korelacija je značajna na nivou 0,05 (dvostrani test)

U – udaljenost; KR – koren; Z - zemljište

Tabela PCS4. Pearson-ove korelacije za ispitivane varijable kod nadzemnih delova SV

Varijable	NapGR	NapL	AcyGR	AcyL	AceGR	AceL	FlrGR	FlrL
U	0,071	0,283	-0,276	0,075	-0,263	0,066	-0,165	0,815**
NapGR	1	-0,071	0,733*	0,185	0,115	-0,320	0,212	0,381
NapL		1	0,224	0,492	0,057	-0,187	-0,003	-0,045
AcyGR			1	0,305	0,049	-0,231	0,467	-0,169
AcyL				1	-0,278	-0,389	-0,098	0,208
AceGR					1	-0,065	-0,089	-0,200
AceL						1	-0,229	-0,028
FlrGR							1	-0,415
FlrL								1
AntL								
PheGR								
PheL								
FltGR								
FltL								
PyrGR								
PyrL								
BaAGR								
BaAL								
CHRL								
BkFbbFGR								
BkFbbFL								
DhAGR								
DhAL								

Nastavak Tabele PCS4.							
Varijable	AntL	PheGR	PheL	FltGR	FltL	PyrGR	PyrL
U	0,479	0,110	-0,257	-0,210	-0,544	-0,298	-0,432
NapGR	-0,235	-0,241	0,182	-0,529	-0,166	0,334	-0,588
NapL	-0,141	-0,062	-0,114	-0,370	-0,455	0,502	-0,188
AcyGR	-0,387	-0,160	0,118	-0,418	-0,058	0,419	-0,308
AcyL	-0,103	0,144	-0,212	-0,225	0,127	0,535	-0,260
AceGR	-0,498	-0,861**	0,645	0,271	0,120	0,567	0,507
AceL	0,303	0,351	-0,618	0,020	-0,249	-0,597	0,262
FlrGR	0,362	0,091	0,432	-0,130	-0,220	-0,035	-0,135
FlrL	0,220	-0,002	-0,255	-0,189	-0,213	-0,157	-0,472
AntL	1	0,644	-0,257	-0,166	-0,500	-0,625	-0,274
PheGR		1	-0,741 [†]	-0,423	-0,334	-0,584	-0,445
PheL			1	0,373	0,279	0,468	0,302
FltGR				1	0,754*	-0,119	0,866**
FltL					1	0,161	0,604
PyrGR						1	0,042
PyrL							1
BaAGR							
BaAL							
CHRL							
BkFBbFGR							
BkFBbFL							
DhAGR							
DhAL							

Nastavak Tabele PCS4.							
Varijable	BaAGR	BaAL	CHRL	BkFBbFGR	BkFBbFL	DhAGR	DhAL
U	-0,251	-0,025	0,070	-0,174	-0,139	-0,222	0,104
NapGR	-0,519	0,823**	-0,130	-0,454	-0,459	-0,297	-0,587
NapL	-0,089	-0,313	0,077	0,608	-0,270	-0,106	-0,288
AcyGR	-0,334	0,606	0,175	0,141	-0,420	-0,131	-0,441
AcyL	-0,607	-0,258	-0,282	0,463	-0,381	-0,423	-0,220
AceGR	0,076	0,381	-0,481	0,018	-0,032	0,073	-0,129
AceL	0,269	-0,151	0,384	0,084	0,807**	0,817**	0,066
FlrGR	-0,352	0,438	-0,038	0,210	-0,025	-0,469	0,165
FlrL	-0,384	0,168	-0,111	-0,475	-0,264	-0,220	-0,087
AntL	-0,361	-0,141	-0,084	-0,017	0,529	-0,207	0,287
PheGR	-0,059	-0,459	0,358	0,034	0,480	0,166	-0,065
PheL	-0,119	0,485	-0,540	-0,065	-0,399	-0,570	0,212
FltGR	0,300	-0,167	-0,128	0,213	-0,023	0,003	0,839**
FltL	0,166	-0,086	-0,148	0,073	-0,276	-0,058	0,448
PyrGR	-0,305	0,141	-0,531	0,292	-0,497	-0,353	-0,445
PyrL	0,374	-0,202	-0,133	0,432	0,248	0,297	0,601
BaAGR	1	-0,359	0,611	-0,102	0,126	0,651	0,168
BaAL		1	-0,153	-0,439	-0,265	-0,229	-0,224
CHRL			1	0,002	-0,002	0,558	0,060
BkFBbFGR				1	0,087	-0,006	0,268
BkFBbFL					1	0,567	0,036
DhAGR						1	-0,162
DhAL							1

** - Korelacija je značajna na nivou 0,01 (dvostrani test)

* - Korelacija je značajna na nivou 0,05 (dvostrani test)

U – udaljenost; GR – grančica; L - list

Tabela PCS5. Pearson-ove korelacije za ispitivane varijable kod nadzemnih delova FC

Varijable	NapGR	NapL	AcyGR	AcyL	AceGR	AceL	FlrGR	FlrL
U	0,347	0,344	0,179	0,359	-0,416	-0,739*	0,072	0,105
NapGR	1	0,037	0,237	-0,299	-0,374	0,004	-0,598	0,043
NapL		1	-0,264	0,571	-0,019	0,179	0,367	-0,665
AcyGR			1	0,199	-0,252	0,128	-0,402	0,621
AcyL				1	0,275	0,115	0,545	-0,154
AceGR					1	-0,251	0,504	0,092
AceL						1	0,302	0,334
FlrGR							1	-0,171
FlrL								1
AntL								
PheGR								
PheL								
FltGR								
FltL								
PyrGR								
PyrL								
BaAGR								
BaAL								
CHRGR								
CHRL								
BkFBbFGR								
BkFBbFL								
DhAGR								
DhAL								

Nastavak Tabele PCS5.							
Varijable	AntL	PheGR	PheL	FltGR	FltL	PyrGR	PyrL
U	0,036	0,375	-0,246	-0,161	-0,072	0,228	0,037
NapGR	-0,065	0,100	-0,626	0,157	0,217	0,073	-0,046
NapL	-0,457	0,211	0,018	-0,399	-0,217	0,035	-0,102
AcyGR	-0,144	-0,195	-0,252	-0,061	0,684 [*]	-0,520	0,221
AcyL	-0,480	0,068	-0,069	0,047	-0,190	-0,309	-0,044
AceGR	-0,538	0,442	0,079	0,355	-0,043	-0,553	0,252
AceL	0,186	0,619	-0,013	-0,605	0,186	0,121	0,173
FlrGR	0,018	0,372	-0,026	-0,197	-0,474	0,060	-0,293
FlrL	0,096	0,188	-0,197	0,039	0,479	-0,495	0,255
AntL	1	-0,334	-0,172	-0,144	-0,347	0,743 [*]	-0,568
PheGR		1	-0,004	-0,184	0,221	-0,194	0,470
PheL			1	-0,184	0,161	-0,029	0,595
FltGR				1	-0,286	-0,056	0,021
FltL					1	-0,568	0,695 [*]
PyrGR						1	-0,476
PyrL							1
BaAGR							
BaAL							
CHRGR							
CHRL							
BkFBbFGR							
BkFBbFL							
DhAGR							
DhAL							

Nastavak Tabele PCS5.								
Varijable	BaAGR	BaAL	CHRGR	CHRL	BkFBbFGR	BkFBbFL	DhAGR	DhAL
U	0,046	-0,277	-0,155	0,289	0,586	-0,327	-0,755*	-0,804**
NapGR	0,035	-0,107	0,198	0,495	-0,161	-0,204	-0,195	-0,636
NapL	0,079	0,266	-0,392	-0,313	0,332	0,400	0,141	-0,052
AcyGR	-0,476	-0,429	0,029	0,590	0,381	0,255	-0,527	-0,238
AcyL	0,095	0,432	0,071	-0,341	0,512	0,440	-0,404	0,118
AceGR	0,503	0,630	0,300	-0,444	-0,326	0,287	0,286	0,675*
AceL	-0,194	-0,597	-0,632	0,456	0,440	-0,125	-0,438	-0,627
FlrGR	0,081	0,410	-0,257	-0,340	-0,066	0,404	0,068	0,207
FlrL	-0,305	-0,431	0,052	0,677*	-0,011	-0,109	-0,393	-0,222
AntL	-0,419	-0,357	-0,159	0,324	-0,278	-0,305	-0,082	-0,410
PheGR	0,436	-0,063	-0,254	0,065	0,061	-0,080	-0,088	-0,165
PheL	0,249	-0,241	-0,219	-0,523	0,450	-0,238	0,236	0,536
FltGR	0,616	0,613	0,993**	-0,379	-0,234	-0,392	-0,254	0,229
FltL	-0,188	-0,603	-0,245	0,445	0,287	0,173	-0,078	0,013
PyrGR	0,047	-0,094	-0,089	-0,133	-0,085	-0,444	-0,049	-0,400
PyrL	0,450	-0,326	0,004	-0,127	0,491	-0,260	-0,136	0,245
BaAGR	1	0,496	0,551	-0,676*	0,045	-0,457	-0,082	0,279
BaAL		1	0,592	-0,640	-0,386	0,230	0,210	0,466
CHRGR			1	-0,334	-0,203	-0,350	-0,282	0,207
CHRL				1	-0,109	0,050	-0,232	-0,676*
BkFBbFGR					1	-0,138	-0,596	-0,174
BkFBbFL						1	0,351	0,332
DhAGR							1	0,561
DhAL								1

** - Korelacija je značajna na nivou 0,01 (dvostrani test)

* - Korelacija je značajna na nivou 0,05 (dvostrani test)

U – udaljenost; GR – grančica; L - list

Tabela PCS6. Pearson-ove korelacije za ispitivane varijable kod nadzemnih delova HH

Varijable	NapPS	AcyPS	AcePS	FlrPS	AntPS	PhePS	FltPS	PyrPS
U	-0,002	0,206	0,201	0,572	-0,163	-0,150	-0,357	-0,239
NapPS	1	0,235	0,238	-0,351	0,225	-0,144	-0,059	0,213
AcyPS		1	-0,238	-0,096	0,103	-0,069	0,050	-0,223
AcePS			1	0,095	-0,529	0,668*	0,350	0,111
FlrPS				1	0,225	-0,221	-0,302	-0,356
AntPS					1	-0,511	-0,084	-0,199
PhePS						1	0,828**	-0,251
FltPS							1	-0,268
PyrPS								1
BaAPS								
CHRPS								
BkFBbFPS								
DhAPS								
NapL								
AcyL								
AceL								
FlrL								
AntL								
PheL								
FltL								
PyrL								
BaAL								
CHRL								
BkFBbFL								
DhAL								

Nastavak Tabele PCS6.								
Varijable	BaAPS	CHRPS	BkFBbFPS	DhAPS	NapL	AcyL	AceL	FlrL
U	-0,125	0,482	-0,181	0,003	-0,601	0,028	0,351	0,489
NapPS	0,155	0,136	0,732*	-0,311	0,314	-0,444	0,183	0,796*
AcyPS	-0,162	0,752*	0,300	0,027	-0,278	0,296	-0,346	0,136
AcePS	-0,009	0,018	-0,068	-0,122	0,298	0,207	0,181	0,436
FlrPS	0,436	-0,046	-0,501	0,295	-0,408	0,229	0,108	-0,072
AntPS	0,678*	-0,294	0,299	-0,162	-0,044	-0,162	-0,270	-0,128
PhePS	-0,114	-0,112	0,064	0,040	0,152	0,546	-0,268	-0,071
FltPS	0,257	-0,235	0,295	-0,011	0,348	0,681*	-0,277	-0,278
PyrPS	-0,280	0,239	-0,301	-0,610	0,657	-0,282	0,291	0,040
BaAPS	1	-0,545	0,237	0,206	0,287	0,255	0,141	-0,129
CHRPS		1	-0,144	-0,292	-0,226	0,141	-0,072	0,273
BkFBbFPS			1	0,068	0,094	-0,215	0,012	0,486
DhAPS				1	-0,258	0,240	0,189	-0,174
NapL					1	0,121	0,278	-0,106
AcyL						1	-0,133	-0,500
AceL							1	0,344
FlrL								1
AntL								
PheL								
FltL								
PyrL								
BaAL								
CHRL								
BkFBbFL								
DhAL								

Nastavak Tabele PCS6.								
Varijable	AntL	PheL	FltL	PyrL	BaAL	CHRL	BkFBbFL	DhAL
U	0,534	-0,440	0,211	-0,119	0,515	0,047	-0,260	-0,405
NapPS	0,148	0,075	0,122	-0,234	-0,401	0,089	-0,462	-0,644
AcyPS	0,744*	-0,079	0,660	0,283	0,139	0,822**	-0,297	-0,278
AcePS	-0,202	-0,554	-0,464	-0,796*	0,318	-0,425	0,060	-0,281
FlrPS	-0,081	-0,144	-0,320	-0,245	0,763*	-0,366	0,334	0,318
AntPS	-0,226	0,652	-0,194	0,204	-0,021	-0,171	-0,199	0,300
PhePS	-0,096	-0,526	-0,284	-0,443	0,135	-0,148	0,093	0,079
FltPS	-0,214	-0,036	-0,243	-0,073	0,048	-0,147	-0,187	0,360
PyrPS	-0,381	0,434	-0,148	0,028	-0,089	-0,143	-0,252	-0,253
BaAPS	-0,471	0,455	-0,421	-0,005	0,188	-0,518	-0,034	0,572
CHRPS	0,670*	-0,199	0,541	0,120	0,333	0,654	-0,365	-0,559
BkFBbFPS	0,304	0,041	0,347	0,108	-0,646	0,272	-0,407	-0,302
DhAPS	0,238	-0,335	0,326	0,170	-0,085	0,215	0,602	0,398
NapL	-0,638	0,503	-0,332	-0,015	-0,187	-0,341	-0,176	0,181
AcyL	-0,018	-0,045	-0,053	0,138	0,592	0,025	-0,026	0,556
AceL	-0,029	0,081	0,158	0,199	-0,102	-0,236	-0,245	-0,110
FlrL	0,405	-0,411	0,184	-0,430	-0,197	0,074	-0,322	-0,858**
AntL	1	-0,473	0,858**	0,260	-0,080	0,834**	-0,210	-0,536
PheL		1	-0,118	0,563	-0,141	-0,177	-0,375	0,416
FltL			1	0,630	-0,359	0,902**	-0,234	-0,340
PyrL				1	-0,276	0,462	-0,348	0,311
BaAL					1	-0,256	0,071	0,241
CHRL						1	-0,092	-0,343
BkFBbFL							1	0,348
DhAL								1

** - Korelacija je značajna na nivou 0,01 (dvostrani test)

* - Korelacija je značajna na nivou 0,05 (dvostrani test)

U – udaljenost; PS – pužeće stablo; L - list

Prilog 2: Biografija autora

Биографија аутора

Образовање и стручно усавршавање

Александра Д. Паплудис (девојачко Грујић), рођена је 06.12.1989. године у Бору, где је завршила основну школу и Гимназију „Бора Станковић“. Технички факултет у Бору, Универзитета у Београду уписала је школске 2008/2009. године на студијском програму Технолошко инжењерство, модул Инжењерство заштите животне средине. Основне академске студије завршила је 17.05.2013. године, одбраном завршног рада под називом: „Фиторемедијација земљишта контаминираних перзистентним органским загађивачима“, са оценом 10. Просечна оцена током основних академских студија била је 8,06. Кандидат Александра Паплудис је проглашена за студента генерације. Мастер академске студије, на студијском програму Технолошко инжењерство, на Техничком факултету у Бору, Универзитета у Београду, уписала је школске 2016/2017. године, а завршила 30.01.2018. године, одбраном мастер рада „Садржај мангана у виновој лози (*Vitis vinifera* L.) из Борског региона – аспекти фиторемедијације и биомониторинга“, са просечном оценом у току студија 9,88 и оценом 10 на мастер раду. Докторске академске студије, на студијском програму Технолошко инжењерство, на Техничком факултету у Бору, Универзитета у Београду, уписала је школске 2018/2019. године. Говори и пише енглески и француски језик.

Радни однос на Техничком факултету у Бору, Универзитета у Београду, засновала је 01.02.2019. године на одсеку за Технолошко инжењерство, као сарадник у звању асистента за ужу научну област Хемија, хемијска технологија и хемијско инжењерство. Као избрани асистент, активно је учествовала у припреми и извођењу лабораторијских и рачунских вежби на следећим предметима: Органска хемија, Механичке операције, Заштита животне средине, Операције преноса топлоте и масе, Отпадне воде, Екологија, као и на организовању и вођењу Стручне праксе.

Стечено научно-истраживачко искуство

Кандидат Александра Д. Паплудис била је члан комисије за попис ситног инвентара и амбалаже у употреби на Техничком факултету у Бору 2019. године, као и члан комисије за попис основних средстава 2024. године. Члан радне групе за спровођење SWOT анализе на Техничком факултету у Бору, Универзитета у Београду, за потребе израде Извештаја о самовредновању и оцени квалитета установе и студијских програма, била је 2019. године. У циљу промоције Техничког факултета у Бору учествовала је на 63. Међународном сајму технике и техничких достигнућа, одржаном у Београду маја 2019. године, под покровитељством Министарства просвете, науке и технолошког развоја. Била је и члан радне групе која врши промоцију Факултета код ученика средњих школа у школској 2020/21. години.

Александра Д. Паплудис учествовала је у догађајима посвећеним популаризацији науке: „Тимочки Научни Торнадо – ТНТ“ (2019., 2020. и 2021. године). Била је члан организационих одбора међународних конференција International Conference Ecological Truth and Environmental Research: EcoTER 2019, 2020 и 2022, као и члан организационог одбора Студентске конференције техничких наука: ISC 2021 (7th International Student Conference on Technical Science) и ISC 2025 (9th International Student Conference on Technical Science). Била је и технички уредник Зборника студентске секције EcoTERS 2022. Члан је Српског хемијског друштва, Подружнице у Бору.

Учествовала је и у реализацији пројекта финансираног од стране Министарства, науке, технолошког развоја и иновација Републике Србије по уговорима: 1) број: 451-03-65/2024-03/200131 и 2) број: 451-03-137/2025-03/200131 о реализацији и финансирању научно-истраживачког рада НИО Техничког факултета у Бору (Универзитет у Београду), током 2024. и 2025. године.

Александра Д. Паплудис је аутор, или коаутор радова публикованих у међународним часописима (катеорије M21x2 и M22x2), у једном водећем националном часопису категорије M24, затим у више часописа националног значаја (катеорије M51x3 и M53x1), као и бројних саопштења са конференција међународног значаја (катеорија M33x16).

Публиковани радови који садрже резултате докторске дисертације су:

Рад у међународном часопису категорије M22

1. **A. Papludis**, S. Alagić, S. Milić, J. Nikolić, S. Jevtović, V. Stankov Jovanović, G. Stojanović (2025) Chemometric Evaluation of 16 Priority PAHs in Soil and Roots of *Syringa vulgaris* and *Ficus carica* from the Bor Region (Serbia): An Insight into the Natural Plant Potential for Soil Phytomonitoring and Phytoremediation, *Environments*, 12(8), 256.

<https://doi.org/10.3390/environments12080256>; (IF (2025) = 4.223)

Саопштење са међународног скупа штампано у целини категорије M33

1. **A. Papludis**, S. Alagić, S. Milić (2020) Detection of PAHs as micro-pollutants in environmental soil and plant samples, 28th International Conference Ecological Truth and Environmental Research 2020, Kladovo, Serbia, 16.06.2020 - 18.06.2020, Proceedings, 111–115, ISBN: 978-86-6305-104-1.

2. **A. Papludis**, S. Alagić, S. Milić, I. Zlatanović, M. Filipović, J. Nikolić, V. Stankov Jovanović (2022) The content of dangerous contaminants PAHs in the soil and roots of *Hedera helix* in Slatina (Bor's municipality), 29th International Conference Ecological Truth and Environmental Research - EcoTER'22, University of Belgrade, Technical faculty in Bor, Sokobanja, Serbia, 21-24 June 2022, Proceedings, 137–141, ISBN 978-86-6305-123-2.

3. **A. Papludis**, S. Alagić, S. Milić, J. Nikolić, D. Medić, Z. Stević, V. Stankov Jovanović (2023) A consideration of phenanthrene presence in Bor's municipality based on its content in leaves and stems of *Hedera helix* L., 11th International Conference on Renewable Electrical Power Sources, Belgrade, Serbia, October 2 and 3, 2023, Proceedings, 239–243, ISBN 978-86-85535-16-1.

4. **A. Papludis**, S. Alagić, S. Milić, J. Nikolić, I. Zlatanović, S. Jevtović, V. Stankov Jovanović (2024) Naphtalene screening in Bor's municipality based on its concentrations in leaves and stems of *Hedera helix* L., 31st International conference Ecological Truth & Environmental Research - EcoTER'24, University of Belgrade, Technical faculty in Bor, Sokobanja, Serbia, 18-21 June 2024, Proceedings, 38–42, ISBN 978-86-6305-152-2.

5. **A. Papludis**, S. Alagić, S. Milić, D. Medić, J. Nikolić, S. Jevtović, I. Zlatanović Đaić (2025) Distribution of PAHs in soils from the Bor region, taken from the rooting zone of poison ivy, The 56th International October Conference on Mining and Metallurgu, Bor Lake, Bor, Serbia, 22-25 October 2025, Proceedings/Zbornik, 624–627, ISBN: 978-86-6305-164-5.

Рад у водећем националном часопису категорије M51

1. **A. Papludis**, A. Simonović, S. Alagić (2022) The content of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil formed during incineracion of e-waste at the sites of its inadequate disposal and recycling, *Materials Protection/Zaštita Materijala*, ISSN 0351-9465, E-ISSN 2466-2585, 63(2), 165–176.

<https://doi.org/10.5937/zasmat2202165P>

2. A. Papludis, S. Alagić, S. Milić, D. Medić, I. Zlatanović, J. Nikolić, V. Stankov-Jovanović (2023) The capacities of *Hedera helix* from the Bor region for PAH accumulation in the root and implications for phytostabilization, ***Materials Protection/Zaštita Materijala***, ISSN 0351-9465, E-ISSN 2466-2585, 64(1), 13–21.

<https://doi.org/10.5937/zasmat2301013P>

Рад у националном часопису категорије М53

1. Aleksandra D. Papludis, Slađana Č. Alagić, Snežana M. Milić, Dragana V. Medić, Sonja S. Stanković, Vladan V. Nedelkovski, Aleksandar Z. Cvetković (2024) Phytomonitoring of pyrene of atmospheric origin in the rural and urban/industrial sites of Bor's municipality using leaves and stems of *Hedera helix* L., ***Chemia Naissensis***, ISSN 2620-1895, 6(2), 34–41.

<https://doi.org/10.46793/ChemN6.2.34P>

Prilog 3: Izjave autora

Изјава о ауторству

Име и презиме аутора: Александра Паплудис

Број индекса: 2/2018

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом:

Хеометријско одређивање 16 приоритетних полицикличних ароматичних угљоводоника у земљишту и биљним деловима бршљана, јоргована и смокве (сорте црна Петровача) из борског региона: Контекст фитомониторинга и фиторемедијације

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да дисертација у целини ни у деловима није била предложена за стицање друге дипломе према студијским програмима других високошколских установа;
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио/ла интелектуалну својину других лица.

Потпис аутора

У Београду, _____

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора: Александра Паплудис

Број индекса: 2/2018

Студијски програм: Технолошко инжењерство

Наслов рада: Хеометријско одређивање 16 приоритетних полицикличних ароматичних угљоводоника у земљишту и биљним деловима бршљана, јоргована и смокве (сорте црна Петровача) из борског региона: Контекст фитомониторинга и фиторемедијације

Ментор: проф. др Слађана Алагић

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла ради похрањења у **Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског назива доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис аутора

У Београду, _____

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

Хеометријско одређивање 16 приоритетних полицикличних ароматичних угљоводоника у земљишту и биљним деловима бршљана, јоргована и смокве (сорте црна Петровача) из борског региона: Контекст фитомониторинга и фиторемедијације

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду и доступну у отвореном приступу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство (CC BY)
2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)
3. Ауторство – некомерцијално – без прерада (CC BY-NC-ND)
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)
5. Ауторство – без прерада (CC BY-ND)
6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци.
Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве).

Потпис аутора

У Београду, _____

1. **Ауторство.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.

2. **Ауторство – некомерцијално.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.

3. **Ауторство – некомерцијално – без прерада.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.

4. **Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.

5. **Ауторство – без прерада.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.

6. **Ауторство – делити под истим условима.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.