

Masena spektrometrija omjera izotopa u okolišnoj forenzici

Rakić, Leon

Undergraduate thesis / Završni rad

2024

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:149:881423>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-31**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PRIJEDIPLOMSKI STUDIJ

Leon Rakić

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, rujan, 2024.

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

Kandidat Leon Rakić

Predao je izraden završni rad dana: 12. rujna 2024.

Povjerenstvo u sastavu:

dr. sc. Lidija Furač, viša predavačica, Sveučilište u Zagrebu Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije

doc. dr. sc. Matija Cvetnić, Sveučilište u Zagrebu Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije

izv. prof. dr. sc. Petar Kassal, Sveučilište u Zagrebu Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije

mr. sc. Marinko Markić, viši predavač, Sveučilište u Zagrebu Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije (zamjena)

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

Završni ispit održat će se dana: 17. rujna 2024.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PRIJEDIPLOMSKI STUDIJ

Leon Rakić

MASENA SPEKTROMETRIJA OMJERA IZOTOPA U OKOLIŠNOJ FORENZICI

ZAVRŠNI RAD

Mentorica: dr. sc. Lidija Furač, v. pred.

Članovi povjerenstva: dr. sc. Lidija Furač, v. pred.

doc. dr. sc. Matija Cvetnić

izv. prof. dr. sc. Petar Kassal

Zagreb, rujan, 2024.

Zahvaljujem svojoj mentorici prof. dr. sc. Lidiji Furač na izdvojenom vremenu, stručnom vodstvu, savjetima i pomoći pri izradi ovoga rada. Zahvaljujem na svom prenesenom znanju tijekom dosadašnjeg studiranja.

Zahvaljujem svojoj obitelji na velikoj podršci, naročito roditeljima koji su uvijek tu za mene. Njima posvećujem ovaj rad i nadam se još takvih :)

SAŽETAK

Forenzika okoliša bavi se istragama onečišćenje okoliša sa svrhom određivanja vrste onečišćivala, pripadajućega izvora onečišćenja i samog počinitelja. Onečišćenje okoliša koje se smatra kažnjivim dijelom, narušava okoliš i zdravlje organizama. Jedna od analitičkih tehnika koju istražitelji koriste prilikom traganja za izvorom onečišćenja u okolišu je masena spektrometrija omjera izotopa. Masenom spektrometrijom omjera izotopa nastoji se odrediti izotopni sastav neke tvari na temelju stabilnih izotopa lakših elemenata. Stabilni izotopi koji su prisutni u tvarima, služe kao prostorni obilježivači ili forenzički rečeno izotopni otisci prstiju. Na temelju izotopnih otisaka moguće je ući u trag onečišćenja policikličkih aromatskih ugljikovodika, kloriranih alifatskih ugljikovodika, polikloriranih aromatskih ugljikovodika, n-alkanima, metil-tertbutil eteru, pesticidima, eksplozivima i drugim onečišćivalima u okolišu. Cilj ovoga rada je opisati tehniku masene spektrometrije omjera izotopa kao forenzički alat u rješavanju postojećih onečišćenja okoliša.

ključne riječi: stabilni izotopi, masena spektrometrija omjer izotopa (IRMS), okolišna forenzika, izotopni otisak, onečišćenje, okoliš

ABSTRACT

Isotope ratio mass spectrometry in environmental forensics

Environmental forensics deals with environmental pollution investigations with the purpose of determining the type of pollutant, the associated source of pollution and the perpetrator. Environmental pollution, which is considered a punishable offense, damages the environment and the health of organisms. One of the analytical techniques that investigators use when searching for the source of pollution in the environment is isotope ratio mass spectrometry. Isotope ratio mass spectrometry is used to determine the isotopic composition of a substance based on stable isotopes of lighter elements. Stable isotopes that are present in substances serve as spatial markers or, in forensic terms, isotopic fingerprints. On the basis of isotopic prints, it is possible to trace the pollution of polycyclic aromatic hydrocarbons, chlorinated aliphatic hydrocarbons, polychlorinated aromatic hydrocarbons, n-alkanes, methyl-tertbutyl ether, pesticides, explosives and other pollutants in the environment. The aim of this paper is to describe the isotope ratio mass spectrometry technique as a forensic tool in solving existing environmental pollution.

keywords: stable isotopes, isotope ratio mass spectrometry (IRMS), environmental forensics, isotopic print, pollution, environment

SADRŽAJ:

1. UVOD.....	1
2. OPĆENITO O IZOTOPIMA	2
2.1. Izotopni delta zapis.....	3
2.2. Referenti materijali.....	3
2.3. Izotopno odjeljivanje.....	5
2.3.1. Mehanizam ravnotežnog odjeljivanja.....	5
2.3.2. Mehanizam kinetičkog odjeljivanja.....	6
2.4. Izotopne delta vrijednosti stabilnih izotopa u okolišu	7
2.4.1. Izotopi vodika.....	7
2.4.2. Izotopi kisika.....	8
2.4.3. Izotopi dušika.....	8
2.4.4. Izotopi ugljika.....	9
2.4.5. Izotopi sumpora.....	10
2.4.6. Izotopi klora.....	11
3. MASENA SPEKTROMETRIJA OMJERA IZOTOPA	13
3.1. Ukupna analiza stabilnih izotopa.....	15
3.1.1. Maseni spektrometar omjera izotopa s dvostrukim ulazom.....	15
3.1.2. Maseni spektrometar omjera izotopa s elementarnim analizatorom.....	15
3.2. Izotopna analiza specifična za spoj.....	16
3.2.1. Maseni spektrometar omjera izotopa s plinskom kromatografijom.....	16
3.2.2. Maseni spektrometar omjera izotopa s tekućinskom kromatografijom	17
3.3. Izotopna analiza specifična za položaj.....	17
3.3.1. Maseni spektrometar omjera izotopa s GC-P-GC sučeljem.....	18
3.4. Primjene masene spektrometrije omjera izotopa.....	18
4. OKOLIŠNA FORENZIKA	20
4.1. Izvori onečišćenja.....	21
4.2. Onečišćivala.....	22
4.3. Terenski rad i laboratorijska analiza.....	23
4.3.1. Uzimanje otisaka prstiju.....	24
4.3.1.1. Izotopni otisci prstiju.....	25
4.4. Studije onečišćenja u okolišu.....	28
4.4.1. n-alkani.....	29

4.4.2. Metil-tertbutil eter.....	30
4.4.3. Benzen, toluen, etilbenzen i ksileni.....	31
4.4.4. Policiklički aromatski ugljikovodici.....	33
4.4.5. Klorirani alifatski ugljikovodici.....	35
4.4.6. Poliklorirani aromatski ugljikovodici.....	37
4.4.7. Pesticidi.....	39
4.4.8. Eksplozivi.....	41
5. ZAKLJUČAK.....	44
6. POPIS LITERATURE	45
POPIS KRATICA I SIMBOLA.....	56
POPIS PRILOGA.....	59

1. UVOD

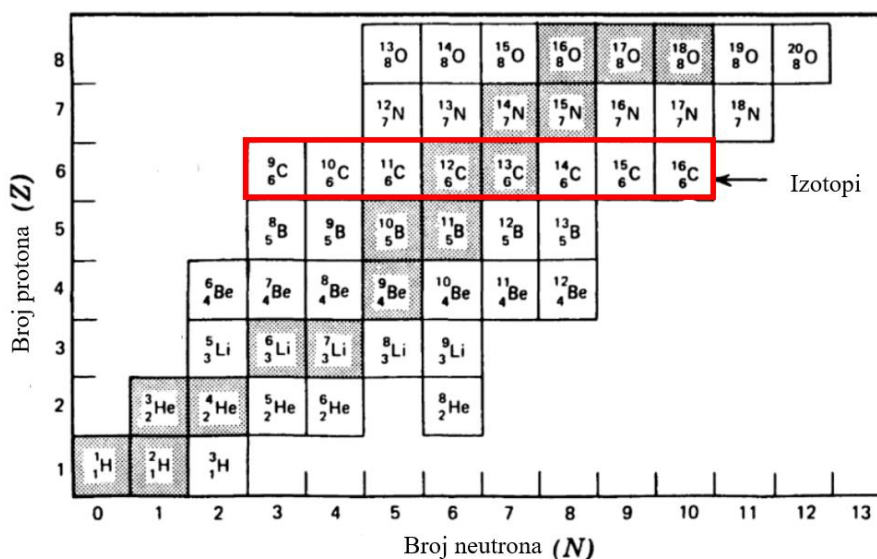
Forenzika okoliša bavi se istragama vezanim za onečišćenje okoliša. Antropocen ili tzv. „nedavno doba čovjeka“ definira se kao nova epoha od 50-ih godina prošlog stoljeća u kojem su čovjekove aktivnosti počele značajno onečišćavati Zemljinu površinu i atmosferu.[1] Onečišćivala svojom prisutnošću u okolišu uzrokuju štetu i narušavaju zdravlje ljudi. Istražitelji okolišne forenzike u svrhu pronalaska odgovorne strane, prikupljaju informacije o izvoru onečišćenja, samom onečišćivalu i vremenu istjecanja. Jedan od alata kojima se istražitelji koriste jesu izotopni sastavi kao obilježivači. Izotopni sastavi nestabilnih izotopa pružaju informacije o vremenu koje onečišćivalo provede u okolišu. Izotopni sastavi stabilnih izotopa pružaju informacije o izvoru i transformacijama onečišćivala.[2]

Masena spektrometrija omjera izotopa jedna je od analitičkih tehnika kojima se analiziraju izotopni sastavi neke tvari na temelju stabilnih izotopa lakših elemenata. Prema načinu uvođenja uzorka postoji tehnologija dvostrukog ulaza i kontinuiranog toka. Tehnologija kontinuiranog toka danas se najviše primjenjuje zbog svoje brže izvedbe, mogućnosti korištenja različitih sučelja kao što su elementarni analizator, jedinice za plinsku i tekućinsku kromatografiju. Ovom se tehnologijom svaka komponenta ispitivanog uzorka separira i potom prelazi u jedinstveni plin. Spektrometar koji vrši analizu i detekciju signala, napredniji je i moćniji od uobičajenog masenog spektrometra. Rezultati se moraju pažljivo interpretirati u skladu s drugim dostupnim informacijama o kemijskom sastavu.

U ovome radu bit će dan pregled korištenja stabilnih izotopa i masene spektrometrije omjera izotopa u forenzici okoliša na primjerima onečišćenja policikličkim aromatskim ugljikovodicima, kloriranim alifatskim ugljikovodicima, polikloriranim aromatskim ugljikovodicima, pesticidima, eksplozivima i drugim onečišćivalima.

2. OPĆENITO O IZOTOPIMA

Prema nukleonskom broju, općeniti pojam nuklid označava atom s određenim brojem protona i neutrona u jezgri. Izotopi su vrsta nuklida istog elementa koji se razlikuju prema broju neutrona. Međunarodna unija za čistu i primijenjenu kemiju (engl. *International Union of Pure and Applied Chemistry, IUPAC*) izdaje „Periodni sustav elemenata i izotopa“ kojim se naglašavaju jedinstvena nuklidna svojstva svakog elementa.[3] S obzirom na broj neutrona, lakši izotop koji je zastupljeniji u prirodi ima jednak broj protona i neutrona. Teži izotop u odnosu na lakši ima jedan ili nekoliko neutrona više. Izotopi se prema stabilnosti dijele na nestabilne, to jest one izotope za koje je eksperimentalno dokazan radioaktivni raspad te stabilne izotope kod kojih takav raspad izostaje.[4] Stabilnost pojedinog izotopa odgovara omjeru protona i neutrona. Prema nuklidnoj karti (Slika 1.), izotopi manje atomske mase postižu najveću stabilnost kada je broj neutrona približno jednak broju protona (dijagonala crnih polja). Kako atomska masa raste, omjer postaje sve veći, izotopi postaju sve nestabilniji (bijela polja).[5] Područje koje prati dijagonalu naziva se „dolinom stabilnosti“, iako se nakon kalcija to područje udaljava od same dijagonale zbog viška neutrona. Prema parnosti, elementi s parnim brojem protona imaju više izotopa od elemenata s neparnim brojem. Olovo je posljednji element sa stabilnim izotopima.[6] Molekule koje imaju isti sastav atoma, molekulsku masu, a različit položaj izotopa nazivaju se izotopnim izomerima ili izotopomerima.[7] Nastavak poglavlja objašnjava kojom se veličinom izotopni sastavi izražavaju prema postojećim standardima te priroda odjeljivanja izotopa. Trenutno je poznato 253 stabilna izotopa i 36 radioaktivnih izotopa s dužim vremenom poluraspada.[8]



Slika 1. Nuklidna karta [5]

2.1. Izotopni delta zapis

Izotopni sastav na temelju stabilnih izotopa izražava se prema preporukama Povjerenstva za zastupljenost izotopa i atomske mase (engl. *Commission on Isotopic Abundances and Atomic Weights*, CIAAW). Bezdimenzijski **izotopni omjer (R)** broja težih izotopa prema broju lakših dan je prema relaciji (1) na primjeru ugljika:

$$R\left(\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}}\right) = \frac{N \cdot ^{13}\text{C}}{N \cdot ^{12}\text{C}} \quad (1)$$

Za potrebe uspoređivanja izotopnih omjera između pojedinih uzoraka razvijena je specifična veličina u odnosu na referentni materijal, međunarodnom definiranom nultom točkom od strane Međunarodne agencije za atomsku energiju (engl. *International Atomic Energy Agency*, IAEA). Relativna razlika izotopnog omjera poznata je kao **izotopni delta zapis (δ)**. Najčešće korištena veličina za potrebe izražavanja *vrijednosti izotopnog delta zapisa* na ljestvici širega raspona, jedan dio na tisuću dijelova, je promil (‰). Izotopni delta zapis prikazan je relacijom (2) na primjeru ugljika:

$$\delta^{13}\text{C}(\text{‰}) = \left(\frac{R\left(\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}}\right)_{\text{uzorak}} - R\left(\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}}\right)_{\text{referentni materijal}}}{R\left(\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}}\right)_{\text{referentni materijal}}} \right) \cdot 1000 \quad (2)$$

Potrebno je naglasiti kako instrumentima nije moguće odrediti apsolutne izotopne sastave jer su i izmjereni omjeri samo relativne količine. *Izotopne delta vrijednosti* mogu biti pozitivne i negativne. Ukoliko je izotopna delta vrijednost negativna, uzorak je osiromašen težim izotopom u odnosu na standard dok pozitivna delta vrijednost pokazuje njegovo obogaćivanje težim izotopom.[9, 10]

2.2. Referentni materijali

Referentni materijali koji se koriste za izračun *izotopnih delta vrijednosti* prikupljeni su iz niza prirodnih bogatstava, no tijekom vremena određeni materijali više nisu bili dostupni ili su iz drugih razloga zamijenjeni. Materijali koji su kalibrirani prema referentnim materijalima dijele se na primarne, sekundarne i tercijarne. Svaka sljedeća serija standardnih materijala unosi sve više mjernih nesigurnosti.[11]

Ishodišni standardni materijal za izotope kisika i vodika bila je bečka standardna oceanska voda (engl. *Vienna standard mean ocean water*, VSMOW) koja je nastala miješanjem destilirane oceanske vode (0° geografske širine i 180° geografske dužine). Među prvim primarnim

standardima koji su kalibrirani prema standardnoj oceanskoj vodi je otopljeni snijeg iz Nacionalnog parka Yellowston (identifikacijska oznaka NBS1a) koji nije imao dovoljno negativne izotopne delta vrijednosti da obuhvati sve kopnene vode. Stoga se kao drugi primarni standardni materijal koristi laka antarktička oborina (engl. *Standard light antarctic precipitation*, SLAP) koja je znatno osiromašenija teškim izotopima.[12]

Ishodišni standardni materijal za izotope ugljika je kalcijev karbonat uzet iz fosila izumrle lignje (belemnita) u regiji PeeDee Južne Karoline (engl. *PeeDee belemnite*, PDB). Iscrpljivanjem ovoga izvora, definiran je novi ishodišni standardni materijal, bečki PeeDee belemnita (engl. *Vienna PeeDee belemnite*, VPDB). Bečki PeeDee belemnita nije fizički stvaran materijal, ali je u odnosu na njega kalibriran primarni standard TS-vapnenc (identifikacijska oznaka NBS¹⁹). [13]

Atmosferski dušik predstavlja ishodišni standard za izotope dušika na temelju svojstva njegove ustaljenosti diljem svijeta. Zbog složenosti izoliranja atmosferskog dušika, danas se koristi novi primarni standard kao što je kalijev nitrat s vezanim atmosferskim dušikom (identifikacijska oznaka USGS32).[12]

Željezov sulfid iz minerala troilita pronađenog u meteoritu „Kanjon Diablo“ predstavlja ishodišni standard za izotope sumpora. Međutim takav materijal je izotopno nehomogen. Primarni standardni materijal u odnosu na fizički nepostojan bečki Kanjon Diablo troilit (engl. *Vienna Cañon Diablo troilite*, VCDT) je srebrov sulfid (identifikacijska oznaka IAEAS-1).[14]

Standardni srednji oceanski klorid (engl. *Standard mean ocean chloride*, SMOC) duže je vrijeme predstavljao ishodišni standardni materijal za izotope klora, ali početkom 21. stoljeća pokazalo se kako njegova vrijednost nije ustaljena na svim geografskim položajima i na nekim mjestima doseže 1%. Kao novi primarni standard korišten je posebno pripremljen natrijev klorid (identifikacijska oznaka NIST SRM 975a).[12]

Tablica 2.1. Međunarodni standardni referentni materijali [15, 16]

Br.	Izotopi	Referentni materijal	Izotopni omjer (R,‰)
1.	² H/ ¹ H	VSMOW	0,0001558
2.	¹⁸ O/ ¹⁶ O	VSMOW	0,0020052
3.	¹⁵ N/ ¹⁴ N	atmosferski dušik	0,0036765
4.	¹³ C/ ¹² C	VPDB	0,0112372
5.	³⁴ S/ ³² S	VCDT	0,0450045
6.	³⁷ Cl/ ³⁵ Cl	SMOC	0,3196770

2.3. Izotopno odjeljivanje

Razlike u fizikalnim i kemijskim svojstvima između izotopa (tzv. "izotopni učinak") nastaju zbog vrlo malih, ali značajnih razlika u masi. Na primjer, svojstva (gustoća, talište, vrelište, viskoznost) spojeva s težim izotopima, izraženija su od svojstava koja dolaze od lakših izotopa. Takva je zakonitost najviše primjetna za one elemente koje nazivamo lakim (vodik, kisik, dušik, ugljik, sumpor), a u periodnom sustavu imaju maseni broj manji od 50. Relativna razlika u masama njihovih izotopa veća je od one težih elemenata. Lakši izotopi su pokretljiviji te molekule s lakšim izotopima, prirodno imaju višu frekvenciju zbog koje je potrebna manja energija disocijacije za kidanje postojećih veza. Drugim riječima, reaktanti u reakcijama ostaju osiromašeni lakim izotopom koji se koncentrira u produktu. Takva se pojava u kojoj se teži i lakši izotopi relativno raspoređuju između postojećih faza (prilikom kemijskog, fizikalnog, biološkog procesa) mijenjajući izotopni omjer naziva **izotopno odjeljivanje**. Važno je naglasiti ukoliko je iskorištenje reakcije 100%, izotopnog odjeljivanja nema.[17] Proces odjeljivanja izotopa matematički se opisuje *izotopnim omjerom* dvaju spojeva (A i B) u kemijskoj ravnoteži (A=B) ili spojeva prije i nakon procesa fizikalno-kemijskog prijelaza (A → B):

$$\alpha_{A-B} = \frac{R_A}{R_B} \quad (3)$$

Faktor izotopnog odjeljivanja (α) iz relacije (3) vrlo je mala brojevná vrijednost te se koristi za izračun **koeficijenta izotopnog obogaćivanja ili osiromašjenja (ϵ)** kojim se lakše predočava sudbina izotopa u odnosu na polazni reaktant. Dva postojeća mehanizma kojim se stabilni izotopi mogu odjeljivati su ravnotežni i kinetički mehanizam.[18]

2.3.1. Mehanizam ravnotežnog odjeljivanja

Ravnotežno odjeljivanje izotopa uzrokovano je razlikama u termodinamičkim svojstvima. Ono opisuje preraspodjelu izotopa između različitih spojeva do trenutka kada se uspostavi stanje ravnoteže u kojemu je izotopni omjer stalan. Brzine reakcija uravnoteženog stanja u oba smjera su identične, što potvrđuje stalan omjeri izotopa između dva spoja pri nekoj temperaturi.[6] Kvalitativna pravila koja opisuju ravnotežno odjeljivanje izotopa su sljedeća:

- a) Učinak odjeljivanja se smanjuje povećanjem temperature, prema omjeru $\alpha \propto 1/T^2$ za većinu tvari.

- b) Izotopno odjeljivanje najizraženije je za lake elemente i izotope s velikom razlikom masa.
- c) Teži izotopi se koncentriraju u spojevima gdje taj element stvara jače kemijske veze ili ima energetski povoljnije mjesto. Jačina kemijske veze raste porastom oksidacijskog stanja, smanjenjem koordinacijskog broja, vezanjem lakših elemenata periodnog sustava (ionske i kovalentne veze) i vezanjem prijelaznih elementa s nižim spinom. Povoljnija energetska mjesta za teže izotope između faza raspodjele su uvijek gušći medij uz neke iznimke.[19]

2.3.2. Mehanizam kinetičkog odjeljivanja

Kinetičko odjeljivanje izotopa opisuju ireverzibilne reakcije koje se prema definiciji ne mogu tretirati metodama klasične termodinamike jer brzine reakcije u oba smjera nisu jednake. Prema drugome poimanju ireverzibilnosti, u takvim je reakcijama produkt svojim nastankom izdvojen iz sustava bez daljnjeg doticaja s reaktantom. Na primjer, isparavanje vode s izuzimanjem pare, difuzija plinova, apsorpcija, bakterijsko propadanje biljaka ili brzo taloženje kalcita. Kao što je prije naglašeno, produkt uvijek biva obogaćen lakšim izotopom zbog svoje manje mase i time uzročno veće brzine. Početna pretpostavka su dva izotopa s istom kinetičkom energijom $E=mv^2$. Za dva izotopa (1 i 2) masa m_1 i m_2 , njihova brzine v_1 , v_2 odnose se prema relaciji (4):

$$\frac{v_1}{v_2} = \frac{\sqrt{m_2}}{\sqrt{m_1}} \quad (4)$$

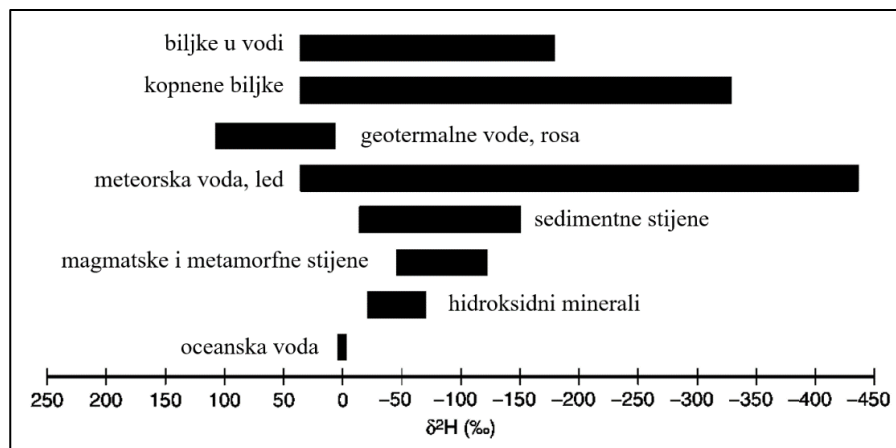
Iz relacije (4) vidljivo je kako su omjeri brzina dva izotopa obrnuto proporcionalni kvadratu njihove mase.[19,18] Biološki se procesi za razliku od kemijskih i fizikalnih procesa mogu kategorizirati kao većinski ireverzibilne reakcije. Time predstavljaju izvrstan primjer kinetičkog odjeljivanja. Organizmi pribjegavaju koristiti lakše izotope zbog niže energije koju moraju uložiti u kidanje veza. Reakcija ovisi o koncentracijama produkata, reaktanata, stanju okoliša te metaboličkim transformacijama neke vrsta organizma. Općenito pravilo metaboličkih transformacija nalaže kako sporiji metabolički procesi pokazuju izraženije odjeljivanje od onih bržih, jer organizam ima dovoljno vremena da bude selektivniji s namjerom uštede unutarnje energije.[10]

2.4. Izotopne delta vrijednosti stabilnih izotopa u okolišu

Okoliš je prirodno, svako drugo okruženje organizama i njihovih zajednica uključivo čovjeka. Takvo okruženje omogućuje organizmima postojanje i njihov daljnji razvoj.[20] Prethodno opisana priroda izotopa u okolišu poprma vidljivi značaj jer procesi koji se zbivaju u okolišu prate stabilni izotopi lakših elementa ključnih za atmosferske, hidrološke, geološke i biološke sustave. Služe kao *obilježivači* kod kruženja tvari, a riječ je o stabilnim izotopima vodika, kisika, dušika, ugljika, sumpora i klora.[21] Tako sirovine koje čovjek uzima za proizvodnju vlastitih dobara sadrže izotopne sastave mjesta preuzimanja iz okoliša. U sljedećim potpoglavljima sažet je kratak pregled *izotopnih delta vrijednosti* stabilnih izotopa koje su polazna točka u istraživanjima i interpretaciji izotopnih sastava.

2.4.1. Izotopi vodika

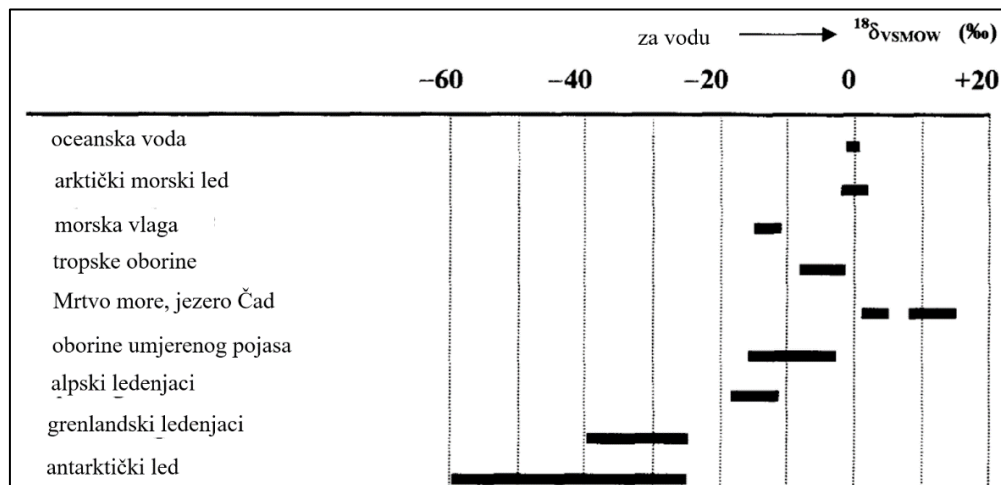
Vodik je element koji se sastoji od dva stabilna izotopa, ^1H (99,985%) i ^2H (0,015%).[22] Najveće količine lakšeg izotopa (^1H) prisutno je u isparenim površinskim vodama, dok onaj teži (^2H) zaostaje u tekućoj vodi. U polarnom ledu prisutno je vrlo malo teškog izotopa.[18] Njihovo kruženje unutar okoliša vezano je uz hidrološki ciklus koji obuhvaća vodu u svim njezinim agregatnim stanjima na Zemljinim oceanima, morima, rijekama, jezerima, podzemnim vodama i obliku vodene pare. Proces (isparavanja, kondenzacije, taloženja, sublimacije) mijenjaju izotopne sastave u ovisnosti na geografski položaj, nadmorsku visinu, temperaturu i udaljenost od obale. Na temelju praćenja odjeljivanja izotopa vodika, kisika u oborinama, razvijaju se globalne karte izotopnog sastava oborinske vode. Karte omogućuje razlikovanje oborina širom svijeta na temelju vrijednosti $\delta^2\text{H}$ i $\delta^{18}\text{O}$. Prikladne su za određivanje izvora istih izotopa unutar živih organizama koji vodu koriste za svoj rast.[23, 24]



Slika 2. Prikaz ljestvice delta vrijednosti izotopa vodika [25]

2.4.2. Izotopi kisika

Kisik je element koji ima tri stabilna izotopa, ^{16}O (99,76%), ^{17}O (0,035%) i ^{18}O (0,2%). [22] Uz vodik čini sljedeću važnu komponentu u proučavanju hidrološkog ciklusa. Teži je izotop (^{18}O) najzastupljeniji u jezerima (slanim) i podvrgnutim visokom stupnju isparavanja. [18] Voda većinski isparava iz oceana stvarajući paru s negativnijom $\delta^{18}\text{O}$ vrijednošću od oceana. Kako se para kreće prema unutrašnjosti kontinenta, kondenzacijom se stvara kiša s pozitivnijom $\delta^{18}\text{O}$ vrijednošću od oblaka. Na oborinske sustave utječu čimbenici krajolika. [26] Prema tome $\delta^{18}\text{O}$ vrijednosti postaju sve negativniji što se kiša više udaljava od glavnog izvora isparavanja. U pojasu umjerene klime $\delta^{18}\text{O}$ vrijednosti nalaze se u intervalu od -30‰ do +30‰. Unutar oceana koji čine najveći svjetski rezervoar vode, sadržaj ^{18}O u njegovom površinskom sloju je ujednačen i varira u intervalu od -0,5‰ do +0,5‰. U tropskim krajevima u vodama postoje veća odstupanja u pozitivnijim *izotopnim delta vrijednostima* zbog jakog isparavanja. Polarni krajevi s druge strane imaju negativnije *izotopne delta vrijednosti* zbog topljenja vode iz izotopno lakšeg snijega i leda. Praćenje izotopa kisika unutar živih organizama izrazito su složena i zahtijevaju detaljna istraživanja. [27]

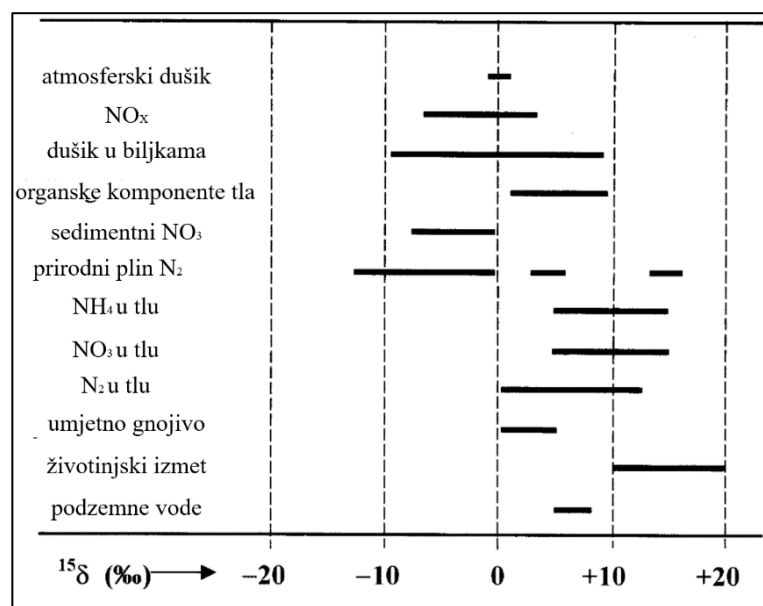


Slika 3. Prikaz ljestvice delta vrijednosti izotopa kisika [18]

2.4.3. Izotopi dušika

Dušik je element koji se sastoji od dva stabilna izotopa, ^{14}N (99,63%) i ^{15}N (0,37%). [22] Najveći svjetski spremnik dušika je atmosfera, odnosno atmosferski dušik. Većina procesa u prirodi kod kojih dolazi do odjeljivanja izotopa dušika pripadaju kinetičkom mehanizmu osim otapanja dušika u vodi gdje se postiže ravnotežna reakcija. Najvažnije reakcije kojima dušik u

različitim molekulskim oblicima kruži okolišem su nitrifikacija (oksidacija amonijaka u nitrat i nitrit), denitrifikacija (redukcija nitrata, nitrita u dušik) i fiksacija dušika (prevođenje dušika u organske spojeve).[18, 28] Učinkovitost izotopa dušika da se asimiliraju u biljkama navedenim procesima znatno ovisi o vrsti biljaka i tla. Umjetna gnojiva kod kojih su $\delta^{15}\text{N}$ vrijednosti u intervalu od 3‰ do 6‰ rezultiraju slabijom asimilacijom dušika u biljkama. Organska gnojiva, gdje su iste izotopne delta vrijednosti u intervalu od 8‰ do 20‰ pokazuju znatno veća obogaćivanja dušikom. Životinje koje se nalaze u vrhu hranidbenog lanca imaju veće $\delta^{15}\text{N}$ vrijednosti od nižih pripadnika istog lanca.[29]

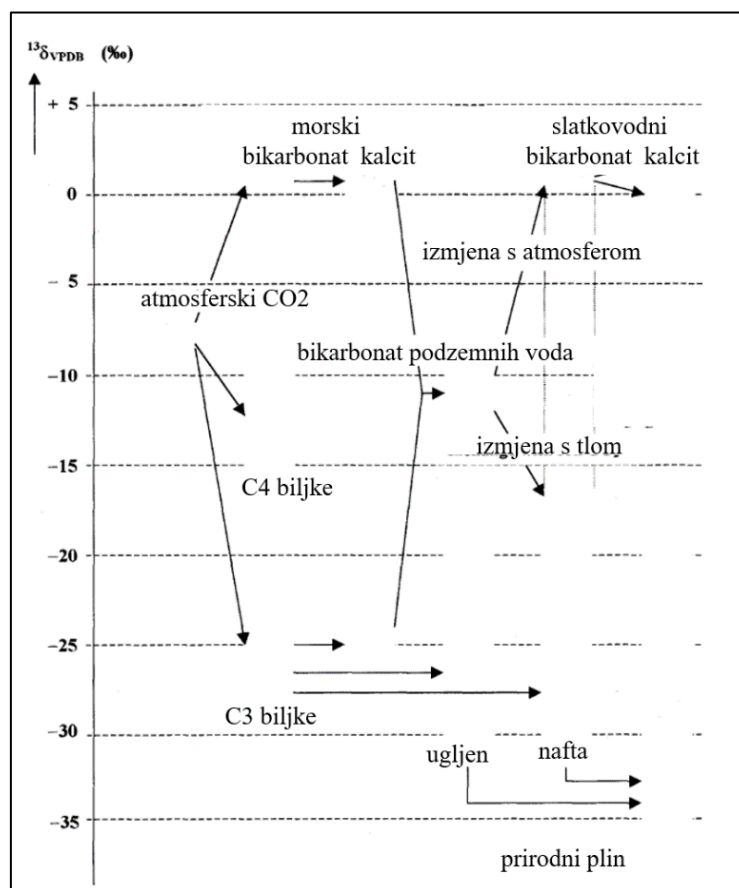


Slika 4. Prikaz ljestvice delta vrijednosti izotopa dušika [18]

2.4.4. Izotopi ugljika

Ugljik je kemijski element koji ima dva stabilna izotopa, ^{12}C (98,9%) i ^{13}C (1,1%).[22] U okolišu se izotopi ugljika najčešće odjeljuju ravnotežnim mehanizmom između faza kojima postižu ravnotežu (ugljkov dioksid ↔ voda ↔ karbonatna kiselina ↔ kalcijev karbonat). Kinetičko odjeljivanje izotopa ugljika povezano je s asimilacijom ugljikova dioksida u biljkama, otapanjem ugljikova dioksida u morskoj vodi te bakterijska razgradnja organske tvari u metan.[18] Ugljikov dioksid koji se nalazi u atmosferi, izotopno je osiromašen težim izotopom (-7‰). Ubrzanim razvojem čovjekova djelovanja na okoliš bilježe se velike promjene u atmosferi. Više $\delta^{13}\text{C}$ vrijednosti ugljikova dioksida prisutne su u oceanskom zraku daleko od kontinenta, dok se one negativnije $\delta^{13}\text{C}$ vrijednosti nalaze na samome kontinentu (-25‰).[30]

Atmosferski ugljikov dioksid nalazi se u ravnoteži s otopljenim oceanskim bikarbonatom. Kalcit koji se posljedično taloži ima $\delta^{13}\text{C}$ vrijednosti u intervalu od 2,0 ‰ do 2,5‰.[31] U biljkama su $\delta^{13}\text{C}$ vrijednosti niže od onih vrijednosti asimiliranog ugljikova dioksida. Intenzitet odjeljivanja ovisi o klimi i fotosintetskom putu biljke. Hatch-Slack fotosintetski put C4 biljaka (trska, kukuruz) ima $\delta^{13}\text{C}$ vrijednosti u intervalu od -10‰ do -15‰. Calvin–Bensonov fotosintetski put C3 biljaka (riža, ječam, pšenica) ima $\delta^{13}\text{C}$ vrijednosti u intervalu od -25‰ do -32‰. CAM (engl. *Crassulacean acid metabolism*) biljke poput sukulenata imaju širi interval $\delta^{13}\text{C}$ vrijednosti od -10‰ do -34‰. Izgaranjem fosilnih goriva vrijednosti variraju oko -27‰.[32,47] Obogaćivanje izotopima ugljika kod životinja izravno je povezano s hranom koju konzumira, vrstom metabolizma i pozicijom u hranidbenom lancu.[29]

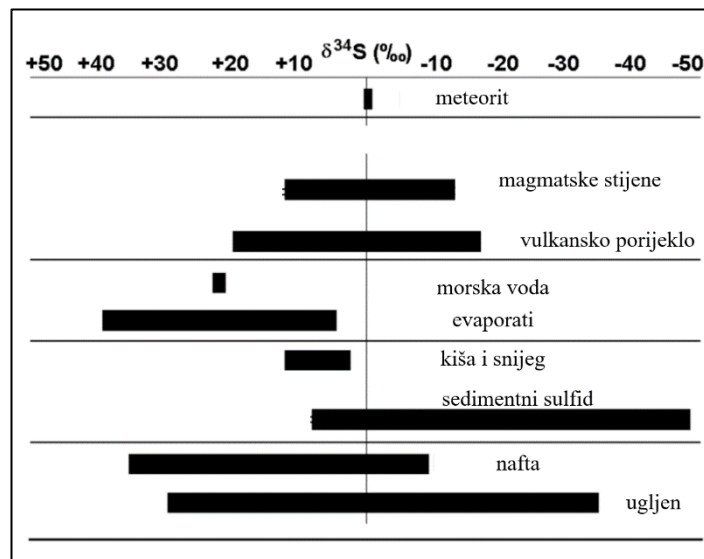


Slika 5. Prikaz ljestvice delta vrijednosti izotopa ugljika [18]

2.4.5. Izotopi sumpora

Sumpor je kemijski element koji ima četiri stabilna izotopa, ^{32}S (95,02%), ^{33}S (0,75%), ^{34}S (4,21%) i ^{36}S (0,02%).[22] Sumpor u meteoritima i magmatskim stijevama ima $\delta^{34}\text{S}$ vrijednosti

u uskom intervalu blizu 0‰. Vulkanski plinovi, stijene, sedimenti obično imaju širi raspon od -10‰ do 10‰. Vulkani osim što izbacuju elementarni sumpor u atmosferu, djeluju kao pumpe za morsku vodu i druge izvore sumpornih spojeva.[33,34] Stoga su oceani sljedeći globalni spremnik sumpora. Oceanski sulfat ima vrijednosti oko 20‰, a prenosi se iz oceana u atmosferu djelovanjem valova koji stvaraju aerosol. Općenito su sulfati u okolišu obogaćeni ^{34}S , a sulfidi osiromašeni (ravnotežno odjeljivanje). U kontinentalnoj vegetaciji izotopne delta vrijednosti kreću se u intervalu od 2‰ do 6‰, a znatno se razlikuje od maritimne vegetacije gdje su te vrijednosti u intervalu od 19‰ do 30‰.[29] Biljke asimiliraju sulfat iz tla ili sumporov dioksid iz atmosfere putem lišća.[22] Glavni izvor sulfata koji se miješa s oborinama je morska voda, vulkanske erupcije, biogeni spojevi nastali truljenjem i dimetil sulfid.[35] Upravo je zbog tih karakteristika sumpor vrlo dobar obilježivač neke geografske regije.



Slika 6. Prikaz ljestvice delta vrijednosti izotopa sumpora [36]

2.4.6. Izotopi klora

Klor je element koji ima dva stabilna izotopa, ^{35}Cl (75,5%) i ^{37}Cl (24,5%).[22] Glavni spremnici klora na Zemlji su oceanska voda, evaporiti¹ i Zemljina kora. Geokemijski se klor smatra konzervativnim elementom jer ostaje u svojem jednovalentnom oksidacijskom stanju. Između izotopa klora postaje male razlike u masama, stoga se slabije odjeljuju u okolišu što je vrlo korisno za izotopno razlikovanje izvora voda kao i otopljenih tvari.[37] Teži izotop (^{37}Cl)

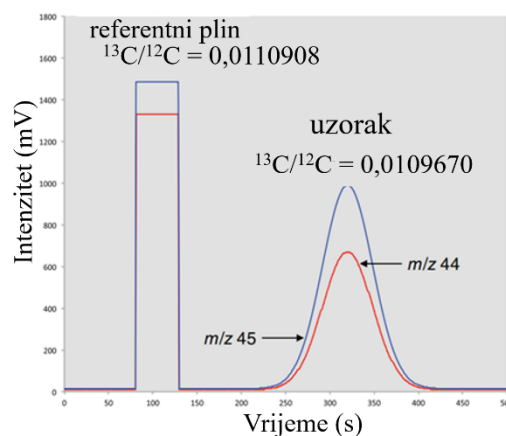
¹ sedimentne naslage stvorene taloženjem soli iz njihovih vodenih otopina

preferirano preuzimaju mineralne strukture zbog jačeg vezivanja klora u čvrste faze u odnosu na vodene faze.[38] Taloženje i otapanje evapornih minerala dominantni su procesi za odjeljivanje izotopa klora u sedimentnim bazenima.[39] Osim taloženja i otapanja, često su tu prisutni procesi difuzije i ionske filtracije oceanske vode kroz tlo.[40] Slatke podzemne vode mogu imati pozitivne i negativne vrijednosti $\delta^{37}\text{Cl}$ u odnosu na oceansku vodu. Slane podzemne vode postaju izotopno obogaćenije ^{37}Cl s povećanjem dubine.[41] Izotopi klora imaju važnu ulogu u rastu, fotosintezi i aktivaciji enzima u biljkama. Često se primjenjuje u poljoprivrednim gnojivima. Iz biljaka se u tlo vraćaju putem lišća ili truljenjem organske tvari. [42]

3. MASENA SPEKTROMETRIJA OMJERA IZOTOPA

Masena spektrometrija omjera izotopa (engl. *isotope ratio mass spectrometry*, IRMS) analitička je tehnika uvedena nakon razvoja spektrometrije masa. Ovom se tehnikom analizira organski i anorgansku materiju u svrhu dobivanja točnih i preciznih izotopnih delta vrijednosti stabilnih izotopa.[26] Analize stabilnih izotopa (engl. *stable isotope analysis*, SIA) ovom se tehnikom provode od 1940-ih. Moguće je analizirati lakše elemente.[43] Lakši elementi (vodik, kisik, dušik, ugljik, sumpor, klor) i njihovi izotopi koji se istražuju IRMS tehnikom opisani su u prethodnome poglavlju.

Uzorci koji se analiziraju moraju biti pretvoreni u plin. Maseni spektrometri koji se koriste za izotopnu analizu sastoje se od tri osnovna dijela, a to su ionizacijska komora, magnet i sakupljači iona (Slika 8.a).[44] Plinoviti uzorci ulaze u ionizacijsku komoru. Tamo se zbog električnog snopa stvaraju pozitivni ioni. Izlaskom iz ionizacijske komore, dolazi do ubrzavanja pozitivnih iona djelovanjem električnog polja. Ulaskom iona u magnetsko polje, počinje otklanjanje prema omjeru mase i naboja (m/z). Ioni se prikupljaju sakupljačima, odnosno Faradayevim čašicama. Računalo integrira prikupljene odazive svakog sakupljača za izračun izotopnog omjera i izotopnih delta vrijednosti prema referentom materijalu. Instrument koristi i referentni plin za kalibraciju koji se razlikuje od onog standardnog plina za izotopni delta zapis. Referentni plinovi se razlikuju ovisno o uzorcima.[45,46] Na primjer, analizom plina CO_2 neke tvari prikupljena su tri osnova signala svakog izotopomera ($^{12}\text{C}^{16}\text{O}_2$, $^{13}\text{C}^{16}\text{O}_2$, $^{12}\text{C}^{18}\text{O}^{16}\text{O}$) odgovarajućih omjera m/z (47, 7, 48). Dobiveni kromatogram (Slika 7.) prikazuje signal referentnog plina (kvadratna krivulja) i signal uzorka (Gaussova krivulja).[46, 49] Glavne razlike prema kojima se IRMS spektrometar razlikuje od običnog spektrometra masa je širi raspon mjerenja omjera m/z , konstantni uvjeti ionizacije, Faradayeve čašice za istovremeno određivanje više izotopa i individualna pojača signala. [44,29,11]

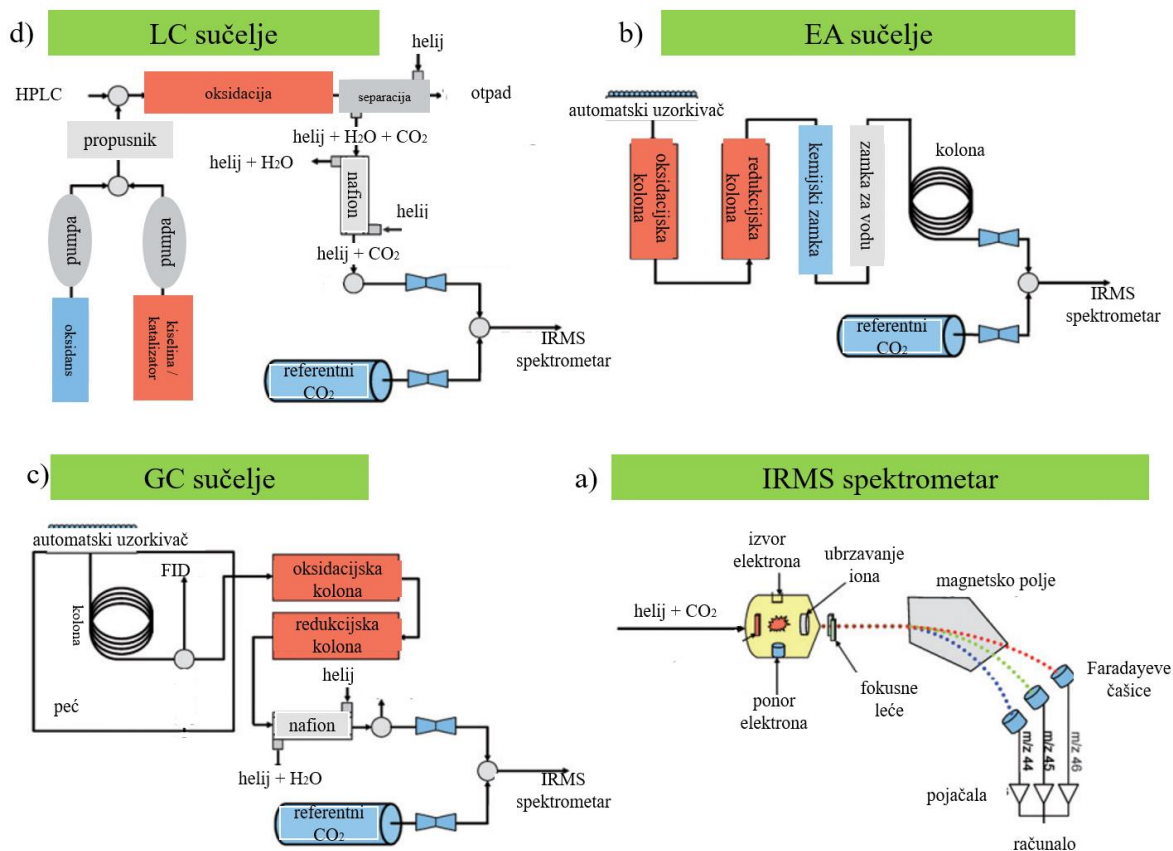


Slika 7. IRMS kromatogram [49.]

Tablica 3.1. Jedinствени plinovi stabilnih izotopa i pripadajući omjeri m/z [29]

Stabilni izotopi	Jedinствен plin	m/z
vodik	H ₂	2, 3
dušik	N ₂	28, 29, 30
kisik	CO	28, 29, 30
ugljik, kisik	CO ₂	44, 45, 46
sumpor	SO ₂	64, 66

Prema načinu uvođenja plinovitog uzorka i referentnog plina razvijene su dvije IRMS tehnologije. Prva je starija tehnologija, masena spektrometrija omjera izotopa s dvostrukim ulazom (engl. *dual inlet isotope ratio mass spectrometry* DI-IRMS), u kojoj se referentni plin i off-line pripremljen čisti plina uzorka naizmjenično unose u IRMS spektrometar. Druga je novija tehnologija, masena spektrometrija omjera izotopa kontinuiranog toka (engl. *continuous flow isotope ratio mass spectrometry*, CF-IRMS), u kojoj se uzorak priprema on-line i prevodi u jedinствен plin (Tablica 3.1.). Tako pripremljeni plin uzorka na plinu nosaču kontinuirano ulazi s referentnim plinom u IRMS spektrometar. Tehnologija dvostrukog ulaza



Slika 8. Shematski prikaz IRMS spektrometra (a) s sučeljem elementarnog analizatora (b) te sučeljima za plinsku (c) i tekućinsku kromatografiju (d) [47]

daje preciznije rezultate, no međutim češće je korištena tehnologija kontinuiranog toka koja je izvedbeno brža i koristi sučelja poput elementarnog analizatora, jedinice za plinsku i tekućinsku kromatografiju.[50,11] U nastavku se tumače analize stabilnih izotopa pomoću instrumenata IRMS tehnologija dvostrukog ulaza i kontinuiranog toka.

3.1.Ukupna analiza stabilnih izotopa

Ukupna analiza stabilnih izotopa (engl. *bulk stable isotope analysis*, BSIA) može se provoditi korištenjem masenog spektrometra omjera izotopa s dvostrukim ulazom ili s elementarnim analizatorom kao sučeljam. Izotopne delta vrijednosti dobivene ovom analizom predstavljaju izotopni sastav iz svih komponenti u smjesi.[50] Izotopni omjeri na kraju analize su prosječni izotopni omjeri bez obzira radi li se o čistoj tvari ili smjesi.[11]

3.1.1. Maseni spektrometar omjera izotopa s dvostrukim ulazom

Maseni spektrometar omjera izotopa s dvostrukim ulazom ima jednostavnu izvedbu. Instrument koristi uzorke pripremljene tako da budu čisti plinovi. Čisti plinoviti uzorak kao i referentni plin nalaze se u posebnim spremnicima. Plinovi se iz oba spremnika uz djelovanje mjeheva kreću kapilarama prema točki spajanja. Nakon točke spajanja slijedi IRMS spektrometar. Mjehovi rade naizmjenično i tako omogućuju unos jednakih količina oba plina. Trenutno je jedini IRMS instrument koji može biti korištena u analizi izotopa klora.[11]

3.1.2. Maseni spektrometar omjera izotopa s elementarnim analizatorom

Maseni spektrometar omjera izotopa s elementarnim analizatorom (engl. *elemental analyzer – isotope ratio mass spectrometry*, EA-IRMS)(Slika 8.b) primjenjiv je za širok raspon uzoraka. Proces započinje vaganjem uzoraka na analitičkoj vagi. Čvrsti uzorci i nehalapljive tekućine unose se u srebrne ili kositrene kapsule. Na početku se nalaze dvije kolone (oksidacijska i redukcijaska kolona), koje mogu biti serijski povezane ili spojene u jednu kolonu. Kolone sadržavaju specifična punjenja (katalizatori i vezivni oksidi). Izgaranjem u prvoj oksidacijskoj koloni uz prisutnost kisika, temperatura mora doseći dovoljno visoku vrijednost (oko 1800°C) kako bi se kapsule raspale. Proces redukcije koji uslijedi u drugoj koloni obično se provodi elementarnim bakrom visoke čistoće i tu se dušikovi oksidi reduciraju u elementarni dušik.

Nastala voda uklanja se zamkom za vodu (magnezijev perklorat). Kemijska zamka koristi se prema potrebi za uklanjanje plinova kao što je ugljikov dioksid. Plinoviti uzorak potom ulazi u kolonu kao za plinsku kromatografiju gdje se produkti izgaranja separiraju. Tako separirani produkti iz sučelja ulaze u IRMS spektrometar.[11] Plin nosač (helij) koji se uvodi prije prvog kontakta s ionizacijom koristi se za razrjeđivanje plinova nastalih izgaranjem uzorka.[29] Njegova druga važna uloga je sprječavanje difundiranja plinovitog sumpora unatrag te sprječavanje reakcije s zaostalim kisikom kojima bi nastao sumporov (III) oksid.[48] Prvi korak prilikom korištenja EA-IRMS-a je izgaranje uzorka unutar kolona, a tek nakon izgaranja slijedi separacija produkata izgaranja.[46]

3.2. Izotopna analiza specifična za spoj

Izotopna analiza specifična za spoj (engl. *compound specific isotope analysis*, CSIA) može se provoditi korištenjem masenog spektrometra omjera izotopa sa sučeljim za plinsku ili za tekućinsku kromatografiju. Izotopne delta vrijednosti dobivene ovom analizom predstavljaju izotopni sastav specifičnog spoja koji se nalazi unutar smjese.[50] Izotopni omjeri dobiveni na kraju analize odgovaraju jednom specifičnom spoju koji se odvajaju u funkciji vremena.[11]

3.2.1. Maseni spektrometar omjera izotopa s plinskom kromatografijom

Masnim spektrometrom omjera izotopa s plinskom kromatografijom (engl. *gas chromatography - isotope ratio mass spectrometry*, GC-IRMS) (Slika 8.c) moguće je odrediti oko 15% svih organskih spojeva. Uzorak koji se analizira, ubrizgava se automatskim uzorkivačem i prenosi plinom nosačem (helij) u kromatografsku kolonu. Razdjelnik na kraju kolone plinskog kromatografa šalje preko 95% separiranog uzorka u kolonu za izgaranje. Ostavljena je i mogućnost da se uzorak analizira detektorom plamene ionizacije (engl. *flame ionization detector*, FID) za dobivanje informacija o kemijskom sastavu ukoliko se uzorak preusmjeri tamo umjesto u kolonu za zagrijavanje. U koloni za izgaranje koja je ispunjena metalnim oksidima, platinastim katalizatorom (850 °C i 1100 °C), dolazi do pretvorbe prethodno separiranog uzorka u plinove. Redukcijska kolona reducira dušikove okside u elementarni dušik te uklanja višak kisika. Višak vode uklanja se prolaskom kroz dio cijevi izgrađenog od ionske polimerne membrane (nafion) u protustruji helija. Tako pripremljeni plinoviti uzorak uvodi se u IRMS spektrometar. Između sučelja i IRMS spektrometra nalazi se

razdjelnik koji omogućava smanjenje tlaka. U istraživanjima se GC-IRMS najčešće koristi za analizu izotopa ugljika u spojevima organskog porijekla.[11] Međutim, ukoliko se analiziraju izotopi dušika u spoju, potrebno je ukloniti nastali ugljikov dioksid (kao produkt izgaranja ugljika) iz struje plina jer mogu nastati neželjene interferencije.[51] Visokotemperaturna pretvorba (engl. *high-temperature conversion*, HTC) uvedena je u instrument za potrebe analize izotopa kisika te ubrzo i izotopa vodika. Kvantitativna piroliza visokotemperaturne pretvorbe omogućuje prelazak organskog kisika i vodika u ugljikov monoksid i elementarni vodik.[52] Proces pirolize za kisik događa se u platinastom umetku (1280 °C), a za vodik u keramičkoj epruveti (1450 °C).[29]

3.2.2. Maseni spektrometar omjera izotopa s tekućinskom kromatografijom

Maseni spektrometar omjera izotopa s tekućinskom kromatografijom (engl. liquid chromatography - isotope ratio mass spectrometry, LC-IRMS) (Slika 8.d) kao svoje osnovno sučelje koristi tekućinsku kromatografiju visoke djelotvornosti (engl. *high performance liquid chromatography*, HPLC).[11] Za usporedbu s plinskom kromatografijom gdje inertan plin nosač ne ometa izgaranje uzorka, tekuća faza nastalog eluata iz HPLC sprječava njegov izravan ulazak u kolonu za izgaranje. Idejno rješenje bila je mokra kemijska oksidacija (uvođenje oksidansa s katalizatorom) koja organske spojeve eluata pretvara u ugljikov dioksid. U sljedećoj separacijskoj jedinici helijem se odvaja ugljikov dioksid iz tekućeg eluata. U predzadnjem koraku, prije nego plinoviti ugljikov dioksid dođe do IRMS spektrometra, zamka za vodu (nafion) uklanja zaostalu vodenu paru.[53] Drugo ograničenje instrumenta nakon tekućeg eluata su organska otapala koja bi se standardno koristila u pripremi mobilne faze. Naime, organska se otapala ne mogu koristiti jer bi stvarala dodatni pozadinski ugljikov dioksid. Sastav mobilne faze strogo je ograničen na anorganske kiseline, baze i pufere topljive u visokokvalitetnoj mili-Q vodi. Posljednje ograničenje je činjenica kako se LC-IRMS-om analiziraju samo izotopi ugljika. Instrument se koristi za analize brojnih bioloških važnih spojeva.[54]

3.3. Izotopna analiza specifična za položaj

Izotopna analiza specifična za položaj (engl. *position specific isotope analysis*, PSIA) smatra se vrhuncem analize stabilnih izotopa. Temelji se na analizi izotopa u fragmentima pojedinih

spojeva, što je u osnovi analiza specifičnih spojeva na intramolekularnoj razini.[55] Izotopi u fragmentima bilježe sve procese povezane s nastankom i razvojem molekule.[56]

3.3.1. Maseni spektrometar omjera izotopa s GC/P/GC sučeljem

Corso T. N i suradnici (1997) razvili su sustav GC/P/GC-IRMS (engl. *gas chromatography/pyrolysis /gas chromatography- isotope ratio mass spectrometry*) spajanjem dvije GC kolone preko komore za pirolizu. Smatra se prvim instrumentom za izotopnu analizu specifičnu za položaj. Iako je instrument od tada poznat, danas je sama tehnologija i dalje tek u svojim povojima.[57, 58] Uzorak se injektira u prvi plinski kromatograf, gdje se ciljani spoj odvaja od smjese unutar kapilarne kolone. Spoj od interesa zatim ulazi u komoru za pirolizu (550 °C), to jest kapilaru izrađenu od taljenog silicija i okruženu keramičkom peći. Fragmenti se zatim grijanom cijevi prenose do drugog plinskog kromatografa (-40 °C). Temperatura se postupno povećava (do 290 °C), a pojedini se fragmenti odvajaju na kapilarnoj koloni. Nakon odvajanja, fragmenti ulaze u peć za izgaranje ispunjene oksidiranim bakrom (850 °C) te na kraju ulaze u IRMS spektrometar.[58]

3.4. Primjene masene spektrometrije omjera izotopa

Masena spektrometrija omjera izotopa kao analitička tehnika pronašla je svoju široku primjenu u brojnim područjima forenzike. Najčešće se koristi za utvrđivanje geografskog podrijetla, razlikovanje izvora tvari i otkrivanje ilegalnih dodataka.[59]

U prehrani se istražuje autentičnost, porijeklo i kontaminacija proizvoda. Na primjer, moguće je utvrditi sadržava li neki proizvod prirodne ili umjetne zaslađivače. Prirodni zaslađivači imaju drugačiji izotopni sastav od umjetnih, jer su to biljke poput kukuruzna (C4), šećerne repe (C3) ili trske (C4).[47] Porijeklo mesa ili mlijeka, vezano je za izotope ugljika, kisika i vodika koji dolaze od hrane koju govedo jede.[29] Proizvođači vina imaju najveće baze podataka o izotopnim delta vrijednostima vina kako bi dokazali autentičnost svojeg proizvoda.[59,29] U farmaciji, krivotvoreni lijekovi ne moraju sadržavati farmaceutski aktivne sastojke ili mogu imati deklaracijski netočan popis sastojak, netočne količine, nečistoće i lošu bioraspoloživost. Krivotvoreni lijekovi štete pacijentima, zdravstvenom sustavu i gospodarstvu.[60] Na temelju stabilnih izotopa moguće je razlikovati farmaceutski proizvod prema proizvođaču i proizvodnoj seriji.[61] U antropologiji i arheologiji mnoge IRMS studije ispituju odnos ljudskih ostataka s

geografskim porijeklo ili prehrambenim navikama. Kako postoji karta kojom se izotopima (vodika i kisika) prate globalne oborine, postoji karta kojom se izotopima ugljika prati ljudsko stanovništvo iz uzoraka tkiva i vlasi kose.[79] Kriminalistika prati ilegalne droge od njihovog uzgoja, sinteze do puteva distribucije.[47] Forenzika dokumenata IRMS instrumentima provjerava rukopise, ispravnost ovjerenih dokumenata, potpisa i autentičnost novca.[62,15] Forenzika divljih životinja i biljaka koristi IRMS instrumente u istraživanju ilegalne trgovinu biljkama i životinjama na crnom tržištu. Osim toga tehnika služi za određivanje geografskog podrijetla i kretanje životinja u prirodi.[47] Kontaminacija okoliša predmet je istraživanja forenzike okoliša. U takvim se istraživanjima postavlja nekoliko ključnih pitanja: „*Koja je tvar ispuštena u okoliš?; Kada je došlo do ispuštanja?; Može li se ispuštenoj tvari u okolišu odrediti izvor?*“.[63]

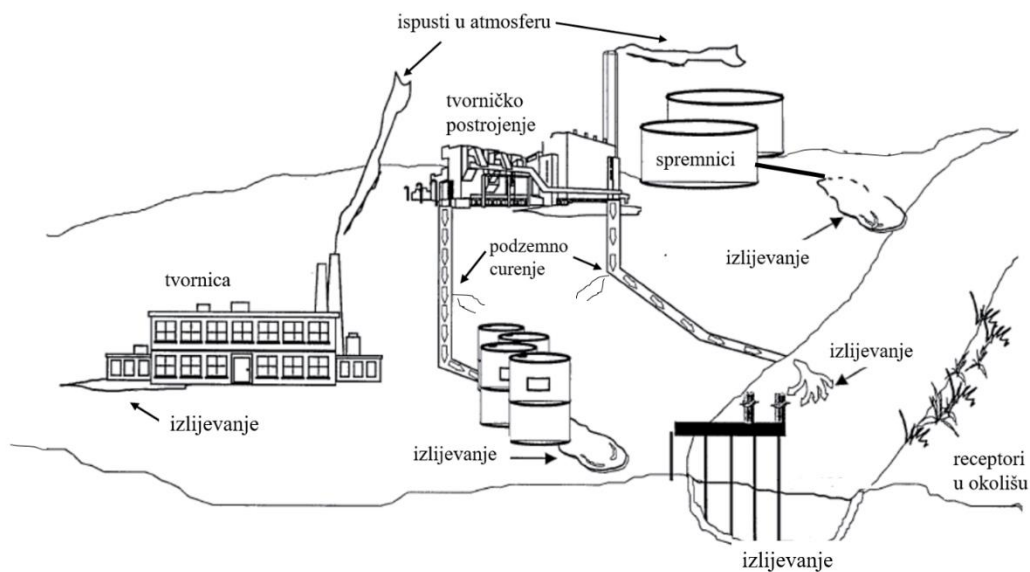
4. OKOLIŠNA FORENZIKA

Forenzika okoliša usmjerena je na identificiranje počinitelja onečišćenja kao počinitelja kaznenog djela, određivanje izvora onečišćenja i samog onečišćivala ispuštenog u okoliš za procjenu opsega nastale štete.[64] U usporedbi s kriminalistikom, zajednička je točka pravosudni sustav koji traži dokaze za rješavanje sporova. Međutim okolišna forenzika za razliku od kriminalistike svoje primjene koristi na znanstvenim istraživanjima i sanaciji nastale štete.[55] Presudni događaji koji su uvjetovali brzom razvoju ove znanosti osim kaznenog zakona bila je i globalna svijest o opasnostima narušavanja okoliša. Globalna svijest o opasnostima koje mogu prouzročiti neka onečišćivala pojavljuje se u drugoj polovini 20. stoljeća nakon ekoloških havarija koje su odjeknule međunarodnom zajednicom. Među prvim incidentima bio je Londonski smog iz 1952. koji je u kratkome vremenu prema procjenama usmrtio oko 12 000 ljudi.[65] Nekoliko godina kasnije (1956.) u japanskom gradiću Minamati, dolazi do trovanja metil-živom ispuštenoj iz industrijskog pogona u vodu. Procjena ljudskih žrtava, 2265 ljudi, a flora i fauna bile su uništene.[66] Godine 1967. slijedi prvi veliki izljev nafte iz supertankera Torrey Canyon u Atlantskom oceanu koji pokreće polemike istraživanja sudbine naftnih onečišćivala u moru. Posljedično izlivanju 119 000 tona sirove nafte, uginulo je preko 25 000 morskih ptica i drugih morskih organizama.[67] Dva mjeseca nakon potonuća supertankera održana je Stockholmska konferencija koja je označila buđenje čovjekove svijesti o sudbini onečišćivala u okolišu. Vremenom su određeni mnogi zakonski okviri.[68] Područje okolišne forenzike kao dio forenzičke znanosti pojavilo se 1980-ih kao odgovor na iste zakonske okvire donesene u svrhu traženja naknada štete i ozljeda uzrokovanim onečišćenjem okoliša.[69]

Forenzičke se istrage okoliša u praksi sastoje od tri elementa. Prvi element je stjecanje informacija terenskim radom, laboratorijskim analizama onečišćivala i karakterizacija njihovih puteva u okolišu od pripadajućeg izvora. Drugi element čine vremenski okviri od trenutka ispuštanja onečišćivala do njegovog transporta na mjesto uzorkovanja. Prva dva elementa obuhvaćaju informacije vezane za okoliš dok treći element predstavlja njihovu sintezu kojom se pridonosi određivanju odgovornosti.[70] Prvi je element najvažniji iz perspektive istražitelja, jer je ključ za rješavanje bilo kojeg forenzičkog slučaja kvalitetan dokaz.[55] Kako bi istražitelj mogao započeti svoj istragu, mora dobro razumjeti forenzičko značenje izvora onečišćenja i prirodu onečišćivala.

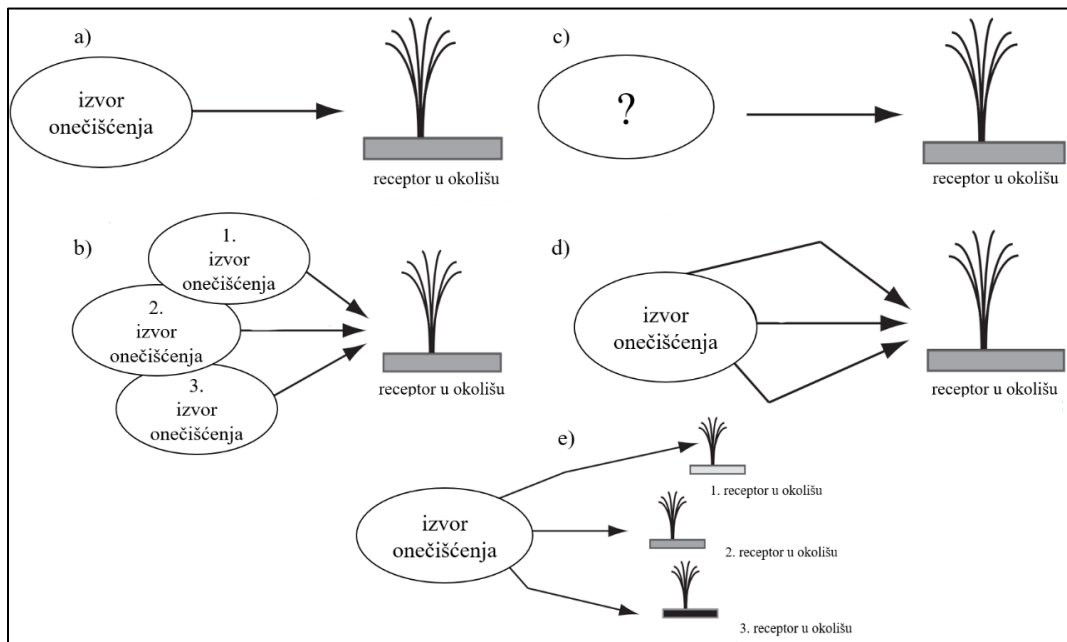
4.1. Izvori onečišćenja

Izraz „izvor“ u forenzičkoj terminologiji odnosi se na točku ispuštanja onečišćivala, a ne na samog počinitelja. Utvrđivanje izvora onečišćenja često je problem u forenzičkim istraživanjima okoliša. U jednoj su krajnosti svi potencijalni izvori poznati prema kemijskom sastavu, lokaciji i povijesti. U drugoj krajnosti ništa od svega navedenog nije poznato sa sigurnošću.[71]



Slika 9. Izvori onečišćenja [72]

Izvor onečišćenja (Slika 9.) u vodenom okolišu prema vrsti može biti točkasti ili difuzni. Točkasti izvor onečišćenja predstavlja točno određeno mjesto kao što su ispusti iz industrija, energetskih postrojenja, odlagališta otpada, obrade voda, ribogojilišta ili jednostavno istjecanje nafte iz cjevovoda. Difuzni izvor onečišćenja predstavlja mjesto gdje onečišćivalo istječe u velikim količinama te je raspršeno na veliko područje. Takve je izvore teže odrediti i zaustaviti. Onečišćenje tla s pripadajući izvorima onečišćenja dobrim su dijelom vezani uz onečišćenje njegove vodene faze. Izvori onečišćenja zraka povezuju se s izgaranjem fosilnih goriva, industrijskim procesima poput rafinerijskih, petrokemijskih prerada, proizvodnje gnojiva, cementa i drugih materijala. Oni se pak mogu kategorizirati kao točkasti, površinski i difuzni. Točkasti izvor onečišćenja zraka ima posebno oblikovan ispust poput dimnjaka kojim se ispušta znatna količinu onečišćivala. S druge su strane površinski izvori onečišćenja zraka mjesta gdje se ispuštaju manje količine onečišćivala. Difuzni izvori ispuštaju onečišćivalo bez posebno oblikovanog ispusta.[73]



Slika 10. Mogući slučajevi puteva kojima onečišćivalo iz izvora dolazi do receptora u okolišu [15]

Putevi kojima onečišćivala dolaze do receptora u okolišu važni su istražitelju kako bi uspješno modelirao i time interpretirao rezultate. Moguće je izdvojiti pet najčešćih slučajeva s kojima se istražitelji suočavaju.[15] U prvome slučaju (Slika 10.a) postoji jedan izvor onečišćenja i jedan put kojim to onečišćivalo dolazi do jednog receptora u okolišu. To je najjednostavniji slučaj. U drugome slučaju (Slika 10.b) postoji više izvora onečišćenja s pripadajućim putevima kojim onečišćivalo dolazi do jednog receptora u okolišu. Moguće je da svi izvori ispuštaju isto onečišćivalo, ali i ne mora biti. U trećem slučaju (Slika 10.d) postoji jedan izvor onečišćenja i više puteva kojima to onečišćivalo dolazi do jednog receptora u okolišu. Na primjer, onečišćivalo do receptora može doći podzemnim vodama, zrakom ili hranidbenim lancem. U četvrtom slučaju (Slika 10.e) postoji jedan izvor onečišćenja i više puteva kojima onečišćivalo dolazi do različitih receptora u okolišu. Različiti receptori (biljke, životinje, ljudi) imaju i različitu reakciju kojom akumuliraju onečišćivalo. U posljednjem slučaju (Slika 10.c) onečišćivalo je prisutno u okolišu, ali se ne može otkriti sam izvor onečišćenja.

4.2. Onečišćivala

Onečišćivala okoliša predstavljaju tvari koje zbog svojih svojstava, količine i unošenja u okoliš imaju štetno djelovanje na zdravlje ljudi, biljni i životinjski svijet.[20] Onečišćivala se mogu uže podijeliti prema podrijetlu (antropogena i prirodna), svojstvima (kemijska, fizikalna i biološka), mediju širenja (vodena, atmosferska...) i štetnim učincima.[74] U radu se

onečišćivalo odnosi na kemijske tvari (prirodnog ili antropogenog podrijetla) koje su ispuštene u okoliš. Prema podacima, na tržištu postoji više od 100 000 kemikalija.[69]

Okolišna forenzika propisuje načine postupanja prema skupinama onečišćivala. Svojstva kemijskih onečišćivala uvjetuju pristupu kojim se uzorkuju iz okoliša, analiziraju u laboratoriju, ali i stavljaju pod međunarodni nadzor. Neke od točaka prema kojima se pojedina onečišćivala svrstavaju u određene skupine jesu:

- a) stupanj postojanosti u okolišu
- b) sklonost bioakumulaciji
- c) svojstva pogodna za njihov transport na velike udaljenosti od pripadajućeg izvora
- d) stupanj štetnosti za okoliš i ljudsko zdravlje

Sama procjena stupnja postojanosti nekog onečišćivala u okolišu veći je problem od njezinog transporta. Kako bi se onečišćivalo smatralo postojanim, poluživot kemikalije u vodenom mediju mora biti duži od 60 dana ili 180 dana ako se radi o tlu. Nadalje sklonost bioakumulaciji određuje faktor bioakumulacije (engl. *bioconcentration factor*, BCF) koji označava odnos između količine onečišćivala koju neki organizam zadržava unutar sebe i one količine koja postoji u okolišu.[75] Kada je u pitanju transport na velike udaljenosti (najmanje nekoliko stotina kilometara), zrak se smatra glavnim medijem kojim se onečišćivalo najlakše prenosi u bilo kojem smjeru. Potom slijede vodeni mediji (oceani, rijeke, ledenjaci, oborine), životinje koje migriraju i tako dalje. Ovisno o fizikalno-kemijskim svojstvima, onečišćivala imaju svoj takozvani prostorni domet ili karakterističnu udaljenost putovanja. Na primjer, onečišćivala mogu biti postojana, ali ne mogu prijeći dug put od svog izvora uz svojstva poput teže hlapljivosti u atmosferi ili dobre topljivosti u vodi. Stupanj štetnosti za okoliš i ljudsko zdravlje koje prouzrokuju toksična svojstva onečišćivala provjeravaju se nizom ekotoksikoloških testova.[76] Program Ujedinjenih naroda za okoliš kategorizirao je niz kemikalija kao postojane, bioakumulativne i toksične (engl. *persistent bioaccumulative and toxic*, PBT).[69]

4.3. Terenski rad i laboratorijska analiza

Istraga okolišne forenzike počinje traženjem dostupnih informacija koje mogu uključivati povijesnu dokumentaciju, fotografije iz zraka, postojeće podatke o ispitivanom okolišu i zakone.[55] Pravni tim istražitelja prvi mora razumjeti opseg slučaja i dati smjernice terenskom timu o potrebnim dokazima za sudska vještačenja. Terenski tim istražitelja nadalje u suradnji s

laboratorijskim timom razvija koncept uzorkovanja i skladištenja uzoraka. U odnosu na uobičajeno uzorkovanje u okolišu, okolišna forenzika od istražitelja zahtjeva strogu dokumentaciju koja se provodi u kriminalistici. Istražitelj mora imati terensku vodootpornu bilježnicu, kontrolni list, dnevnik uzorkovanja, dnevnik analize terena, dnevnik fotografija i GPS zapise. Bilješke se vode kronološki, iscrpno i s neizbrisivom tintom. Pogreške se parafiraju. Svaki pokušaj brisanja ili uklanjanja papira smatra se prikrivanjem. Prilikom terenskog rada svaki istražitelj ima jednokratno odijelo za cijelo tijelo. Uzorkuju se mjesta onečišćenja i čisti uzorci potencijalnih izvora. Međunarodna kriminalističko-policajska organizacija (engl. *The International criminal police organization*, INTERPOL) izdaje priručnik za uzorkovanje.[78] Uzorci se označavaju sigurnosnim pečatom (traka, naljepnica, vrećica) i prilikom transporta stavljaju u posebne hladnjake. Fotografijom se dodatno sve zabilježi. Sva se dokumentacija duplicira nekoliko puta. U laboratorijskoj analizi prvi je korak potpisivanje dokumenata kojim istražitelj preuzima odgovornost za daljnje postupke. Uzorci se pripremaju modernim postupcima ekstrakcije za krute, tekuće i plinovite uzorke. Pripremljeni uzorci su potom spremni za uzimanje otisaka.[77,78,64]

4.3.1. Uzimanje otisaka prstiju

Uzimanje otisaka prstiju (engl. *fingerprinting*) naziv je za skup analiza kojima se nastoji uspostaviti korelacija između analiziranog onečišćivala s njihovim izvorom i vremenom ispuštanja. Ovim se analizama nastoji okarakterizirati onečišćivala, kvantificirati njihove koncentracije i odrediti njihove puteve u okolišu.[80] Sa stajališta kemije obično se uzimaju tzv. „*kemijski i izotopni otisci prstiju*“. **Kemijski otisak** daje informaciju o koncentraciji i strukturne informacije onečišćivala dok specifičniji **izotopni otisak** daje izotopni sastav i informaciju o sudbini onečišćivala od pripadajućeg izvora. Između kemijskog i izotopnog otiska ne postoji korelacija. Uzorak može imati visoku kemijsku koncentraciju, a niske izotopne delta vrijednosti. Međutim oba se otiska neupitno koriste tijekom analize u stvaranju punog profila ispitivanog onečišćivala. Korištenjem dva različita pristupa dobivaju se dvije neovisne linije dokaza. Ukoliko postoji neslaganje kada je u pitanju izvor onečišćenja između rezultata neke od analiza, istražitelj mora učiniti sljedeće:

- a) Započeti analizu ispočetka i prikupiti više informacija. Ne preporučuje se treća vrsta analize kao nova linija dokaza.

- b) Uvjeren u ispravnost dobivenih rezultata obje analize, istražitelj dodaje određenu prednost jednoj liniji dokaza. Ako su kemijski otisci onečišćivala u dva uzorka slična, dok su njihovi izotopni otisci različiti, ne treba nužno zaključiti da rezultati nisu valjani. Veći prioritet ima izotopni otisak jer oni postižu veću razinu specifičnosti izvora dok kemijski otisak daje potvrdu. Kemijski i izotopni otisak isto tako mogu upućivati na isti izvor. U tom je trenutku možda lakše objasniti dokaz dobiven onom jednostavnijom kemijskom analizom od one izotopne zbog složenosti tumačenja izotopnog odjeljivanja.

Istražitelj na kraju bilo koje analize mora sagledati i širu sliku bez zanemarivanja detalja. Svi prikupljeni podaci često nisu homogeni i često su međusobno proturječni. Računalni program se oslanja na postojeće pravilnosti, ali stručni istražitelj uzima u obzir proturječne podatke koji mogu poništiti tu pravilnost. Kvalitetna forenzička istraga općenito zahtjeva prepoznavanje bitnih detalja unutar šire slike.[55]

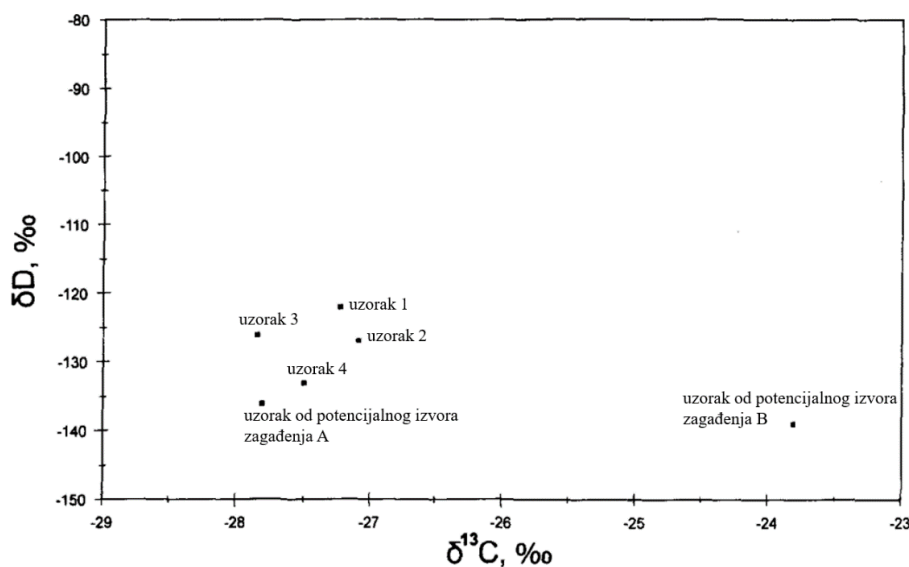
4.3.1.1. Izotopni otisci prstiju

Istražitelj mora dobro poznavati rad na IRMS instrumentima i interpretirati rezultate kako bi izotopni otisci bili kvalitetan dokaz. Za uzimanje **izotopnih otisaka prstiju** koriste se sve osnovne analize stabilnih izotopa čiji su IRMS instrumenti opisani u trećem poglavlju. Analize stabilnih izotopa su:

- a) ukupna analiza stabilnih izotopa (BSIA)
- b) izotopna analiza specifična za spoj (CSIA)
- c) izotopna analiza specifična za položaj (PSIA)

Smjese onečišćivala prvo se analiziraju ukupnom analizom stabilnih izotopa. Njezina prednost je veća preciznost, ali su glavni nedostaci gubitak važnih informacija i potrebne veće količine uzorka. Analiza specifična za spoj daje nešto manje precizne izotopne otiske. Međutim potrebne su manje količine uzorka te omogućuje praćenje procesa transformacije u okolišu. Zbog tih je karakteristika najčešće korištena analiza. Nakon dužeg vremenskog perioda ipak postaje sve teže pratiti transformacije onečišćivala u okolišu. Tada je vrlo korisna analiza specifična za položaj kojom je dovoljno pronaći određenu funkcionalnu skupinu koja je i nakon dužeg vremenskog perioda ostala ista u odnosu na ostatak molekule onečišćivala. U okolišnoj forenzici se trenutno samo ukazuje na njezinu omedavnu primjenu. Koristeći jednostavnu analogiju, smjesa onečišćivala predstavlja cigleni zid u kojemu je svaka cigla određeno

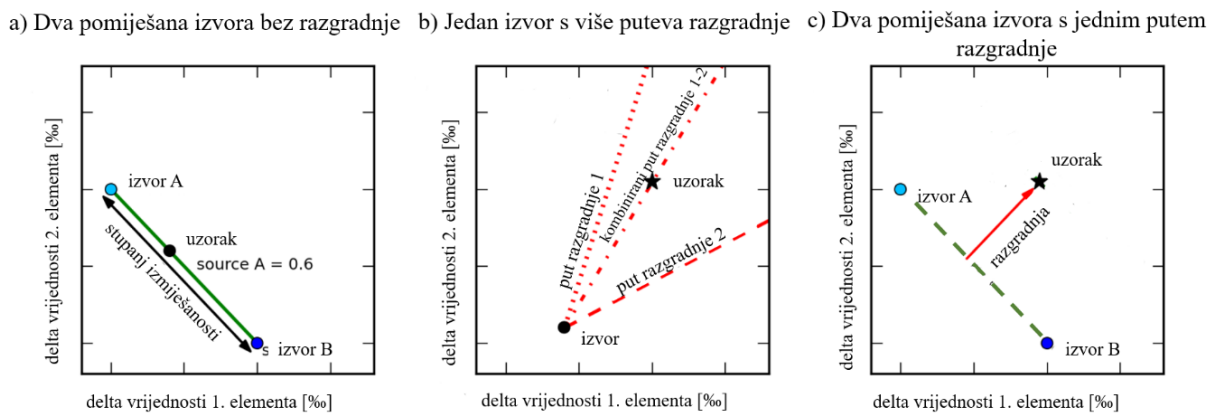
onečišćivalo. Ukupna analiza stabilnih izotopa opisuje prosječnu boju cigli, izotopna analiza specifična za spoj opisuje boju svake cigle, dok analiza specifična za položaj opisuje nijanse unutar svake pojedine cigle.[55] Istražitelj koji koristi bilo koji od navedenih IRMS instrumenata za uzimanje otisaka mora biti svjestan potreba, ograničenja koje nameće pravosudni sustav. Svaki postupak s pripadajućim instrumentom mora se temeljiti na čvrstoj znanstvenoj podlozi i ispuniti kriterije podobnosti utvrđene pravosudnim sustavom.[81] Instrumenti IRMS-a i dokazi temeljeni na izotopnim otiscima ispunjavaju kriterije prihvatljivosti čime imaju veći značaj kao dokazni materijal.[82]



Slika 11. Dijagram raspršenosti izotopnih delta vrijednosti dva stabilnih izotopa [83]

Kada je u pitanju odabir elementa čiji će se izotopi analizirati nekom od analiza, vrijedi pravilo kako neovisno o vrsti analize, istražitelj analizira izotopne delta vrijednosti više različitih elemenata.[55] Rezultati se prikazuju grafičkim prikazom odnosno dijagramom raspršenosti izotopnih delta vrijednosti kao na slici 11.[83] Takav prikaz može sadržavati izotopne delta vrijednosti jednog, dva ili više stabilnih izotopa različitih elemenata. Takvi višekomponentni prikazi rješavaju problem kao što je preklapanje izotopnih delta vrijednosti jednog uzorka s mjesta onečišćenja s dva ili više potencijalnih izvora. U nekim se znanstvenim literaturama idealno preklapanje ili podudaranje definira razlikom od 1‰ do 3‰. Međutim ukoliko čisto onečišćivalo kojeg proizvodi tvornica „X“ ima približno jednake izotopne delta vrijednosti s istim onečišćivalom pronađenim u okolišu, ne mora značiti kako je pronađeno onečišćivalo u okolišu proizvela ista tvornica.[72] Istražitelj je dužan s forenzičkog stajališta i za uzorke

bliskih izotopnih delta vrijednosti pretpostaviti kako potječu od više potencijalnih izvora dok se ne dokaže suprotno.[55,70] Kako bi istražitelj potvrdio svoje sumnje, interpretacija podataka s grafičkih prikaza zahtjeva razumijevanje procesa odjeljivanja izotopa u prirodi i poznavanje izotopnih delta vrijednosti u okolišu. Najčešći razlozi odstupanja jesu transformacije u okolišu. Metodom modeliranja i matematičkim zakonitostima potrebno je provjeriti transformacije kojima su onečišćivala preko mehanizama odjeljivanja u okolišu poprimila nove izotopne delta vrijednosti.[55]



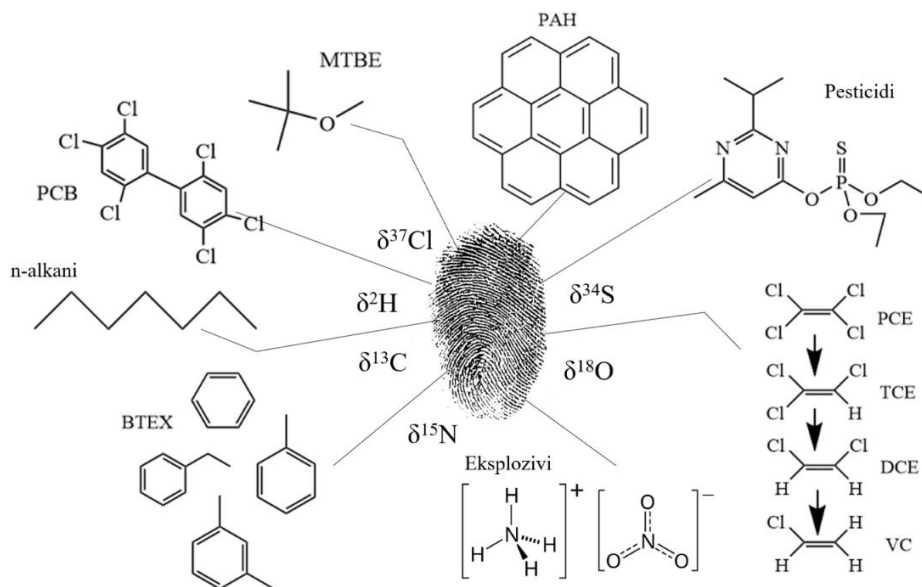
Slika 12. Putevi miješanja i razgradnje onečišćivala [82]

Gotovo uvijek postoji opasnost od gubitka postojećih tragova.[81] Kako prolazi sve više vremena od trenutka istjecanja onečišćivala iz izvora, sve je manja točnost i preciznosti rezultata. Na svome putu onečišćivalo mijenja prvobitni izotopni sastav transformacijama kao što su fizikalni procesi, kemijske ili biološke razgradnje. Ukoliko transformacijama razgradnje nastaju novi spojevi, dobiva se i više otisaka koji mogu navesti na pogrešne zaključke.[63,55,71] Od fizikalnih procesa treba istaknuti miješanje više izvora onečišćenja. Na primjer, onečišćivala iz dva izvora mogu se samo pomiješati bez razgradnje. Moguće je da se tako dobivena smjesa onečišćivala početi razgrađivati. Međutim točka miješanja mogla je uslijediti tek nakon razgradnje onečišćivala. Tada bi se pomiješali produkti razgrađenih onečišćivala. Onečišćivalo koje se razgrađuje može imati put kombinirane razgradnje (Slika 12.). Onečišćivalo može biti i u potpunosti uklonjeno iz okoliša što na kraju dovodi do zaključka kako kaznenog dijela protiv okoliša nikada nije niti bilo.[84] Parametri koji utječu na neke transformacije su pH, temperatura, redoks potencijal, aerobni, anarobni uvjeti i ukupni organski ugljik.[81]

Kako je već prije naglašeno, kemijski otisci nadopunjuju izotopne. IRMS instrumentima nije moguće istovremeno odrediti izotopne delta vrijednosti i vrste pojedinih onečišćivala prisutnih u uzorku. Iako je IRMS vrlo moćan alat u laboratoriju, potrebno je upamtiti kako nije svemoćan! IRMS je samo jedna linija neovisnih dokaza.[85] Prema Fretwlllovim riječima, izotopne delta vrijednosti treba uzimati u zdravoj dozi opreza i drugih podataka.[10]

4.4. Studije onečišćenja u okolišu

Istrage u okolišnoj forenzici su prema zakonu povjerljivi dokumenti.[71] Međutim studije onečišćenja svojim istraživačkim radom osiguravaju napredak okolišnoj forenzici u korištenju IRMS tehnike i analiza stabilnih izotopa. Analize stabilnih izotopa pomoću IRMS-a, općenito imaju naglasak na onečišćivala organskog porijekla. Prema Petrisoru u istragama forenzike okoliša provode se analize sljedećih organskih onečišćivala: n-alkani, MTBE, BTEX, poliklorirani aromatski ugljikovodici, klorirani alifatski ugljikovodici i policiklički aromatski ugljikovodici. Osim organskih onečišćivala, tu je i nekoliko anorganskih spojeva poput sulfata i nitrata.[86] Trenutno su u razvoju primjene na pesticide, eksplozive, farmaceutike i mikroplastiku.



Slika 13. Primjene stabilnih izotopa u okolišnoj forenzici

U nastavku su izdvojene studije koje koriste IRMS tehniku i analize stabilnih izotopa u otkrivanju izvora onečišćenja (Slika 13.). U nastojanju usporedbe svake studije s principima okolišne forenzike, metodama analize i sinteze proučeni su svi segmenti koji su manje ili više zaslužni za konačan ishod otkrivanja izvora onečišćenja.

4.4.1. n-alkani

Alkani su zasićeni ravnolančani ugljikovodici koji potječu iz vrlo složenih organskih smjesa poput nafte. Razlikuju se prema broju ugljikovih atoma (npr. C₄ za četiri ugljika) u lancu. Alkani od C₁ do C₄ su plinovi, a koriste se u proizvodnji plastike i drugih polimernih materijala. Alkani od C₅ do C₁₂ su tekućine koje se koriste kao goriva ili otapala za čišćenje. Svi alkani iznad C₁₂ su krutine koje se koriste kao maziva, teška goriva i premazi (katran, asfalt). Kako raste lanac ugljika, alkani postaju sve teže topljivi u vodi. Međutim u okolišu se kreću kroz tlo istiskujući zrak i vodu. Kancerogeni su u visokim koncentracijama.[87]

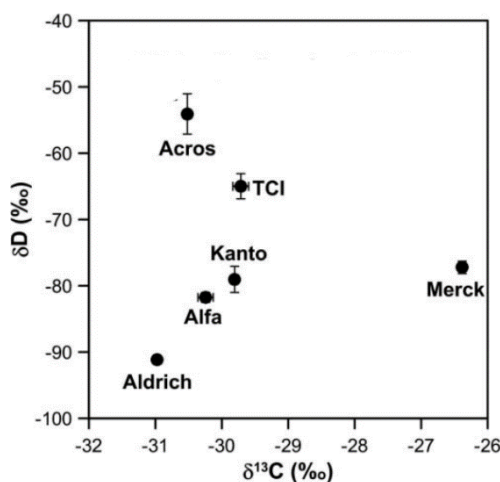
K. M. Rogers i M. M. Savard (1999) istražili su onečišćenje n-alkanima u riječnom sedimentu rijeke St. Lawrence pokraj grada Québeca (Prilog 1.). Rijeka je plovna za mnoge brodove. Potencijalni izvor onečišćenja n-alkanima bilo je teško loživo ulje za brodove. Rijeka pod utjecajem vodenih strujanja omogućuje raspršivanje izljeva na široko područje. Prve dvije lokacije (1,3) uzorkovanja sedimenta bile su u neposrednoj blizini dvije stanice za pretovar teškog loživog ulja s obale na brodove. Druge dvije lokacije (2,2a) bile su blizu kontaminiranog spremnika nafte. Posljednje dvije lokacije (4 na zapadu, 5 na istoku) bile su jako udaljene od spremnika i stanica za pretovar. Sedimenti uzeti kao uzorci bili su površinski (do 10 cm dubine) i podzemni (od 10 do 40 cm dubine). Čist uzorak loživog ulja također je uzet za laboratorijsku analizu. Za kemijske otiske kojima su definirani prisutni n-alkani korišten je GC-MS. Za izotopnu analizu specifičnog spoja kojom su definirane $\delta^{13}\text{C}$ vrijednosti pojedinih n-alkana (od C₁₁ do C₃₁) korišten je GC-IRMS. Lokacije u blizini kontaminiranog spremnika nafte kao i kod lokacija za pretovar imale su najveće $\delta^{13}\text{C}$ vrijednosti u intervalu od -28,2‰ do -25,8‰. Teško loživo ulje kao čist uzorak imalo je slične ustaljene $\delta^{13}\text{C}$ vrijednosti u intervalu od -28,8‰ do -27,6‰. Na udaljenoj lokaciji 4, sediment je imao najmanje $\delta^{13}\text{C}$ vrijednosti u intervalu od -30,4‰ do -31,3‰. Lokacija 4 svojim je izotopnim delta vrijednostima pokazivala odstupanje. Zbog malih razlika izotopnih delta vrijednosti ostalih lokacija zaključeno je kako su svi n-alkani porijeklom iz istog izvora. Kemijski biomarkeri kao što su sterani svojom su prisutnošću dodatno dokazali povezanost između čistog teškog loživog ulja s uzorcima na lokacijama 1, 2, 2a i 3. Proces biorazgradnje dokazan je izotopnim obogaćenjem n-alkana u dubljem sedimentu. K. M. Rogers i M. M. Savard (1999) zaključuju kako se onečišćenje n-alkanima širi na mjestu pretovara teško loživog ulja na brodove. Kako je lokacija 4 imala drugačiji izotopni otisak, onečišćenje se širi od grada Québeca prema lokaciji 5 na istok.[88]

Tijekom uzorkovanja izljeva sirove nafte ili njezinih derivata, potrebno je prostorno odrede granice izljeva. Uobičajeni analitički instrumenti koji se koriste tijekom forenzičke

laboratorijske analize naftnih uzoraka jesu GC-MS i GC-IRMS. Pomoću GC-MS određuje se kemijski sastav na temelju kojega se razmatra koji n-alkani ulaze u izotopnu analizu GC-IRMS-om. Oni n-alkani koji imaju manji broj ugljikovih atoma, podložniji su biorazgradnji, stoga su izotopni otisci učinkovitiji za n-alkane dužeg ugljikovog lanca.[63] U studiji K. M. Rogersa i M. M. Savarda (1999) analizirani su n-alkani od C₁₁ do C₃₁. Izotopne delta vrijednosti ugljika za sirovu naftu općenito se nalaze oko -30‰ što se slaže s izmjerenim delta vrijednostima na istraživanim lokacijama. Za lokaciju 4 koja ima nešto niže $\delta^{13}\text{C}$ vrijednosti (-31,3‰) ne može se tvrdi kako nema povezanost s nekim potencijalnim izvorom. Učinak biorazgradnje potrebno je dodatno modelirati. U ovoj su studiji izotopni otisci bili sporedna linija dokaza kojom se nije mogao definirati izvor (spremnik nafte ili stanica za pretovar). Međutim biomarkerima kao drugom linijom dokaza potvrđen je izvor, odnosno stanica za pretovar. Ukoliko bi isti koncept umjesto na teško loživo ulje trebao primijeniti na benzin[63], biomarkeri ne bi bili pouzdani jer izostaju u naftnim derivatima nižih vrelišta. U tom slučaju potrebno je uvoditi dodatne izotope i linije dokaza.

4.4.2. Metil-tertbutil eter

Metil-tertbutil eter (MTBE) koristio se kao aditiv u benzinu od 1970-ih kao zamjena za olovo u svrhu povećanja oktanskog broja. Kao rezultat njegovog intenzivnog korištenja, curenjem goriva iz podzemnih spremnika dolazilo je do onečišćenja vode i u manjoj mjeri onečišćenja zraka.[89] MTBE je hlapljiva, zapaljiva i bezbojna tekućina na sobnoj temperaturi. Njegova dobra topljivost u vodi omogućuje mu lako prodiranje u vodene tokove, međutim njegova postojanost čini vodu neprikladnom za potrošnju dugo vremena.[90]



Slika 14. $\delta^{13}\text{C}$ - $\delta^2\text{H}$ vrijednosti čistih uzoraka MTBE-a različitih proizvođača [91]

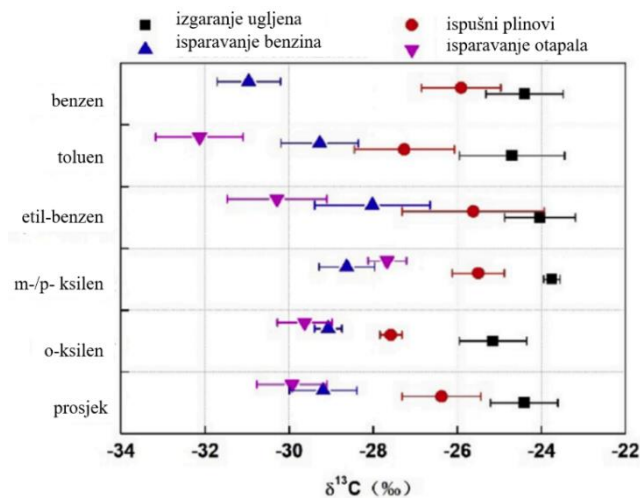
Woo Jin Shin i suradnici (2013) proveli su istraživanje na čistim uzorcima MTBE-a različitih proizvođača. Čisti MTBE uzorci prikupljeni su od šest proizvođača porijeklom iz SAD-a (Acros, Aldrich, Alfa), Europe (Merck) i Japana (Kanto, TCI). Izotopnom analizom specifičnog spoja analizirane su $\delta^{13}\text{C}$ (GC-IRMS) dok su $\delta^2\text{H}$ vrijednosti analizirane ukupnom analizom stabilnih izotopa (EA-IRMSa s visokotemperaturnom pretvorbom). Izmjerene $\delta^{13}\text{C}$ vrijednosti nalaze se u intervalu od -31‰ do -26‰ prema VPDB, a $\delta^2\text{H}$ vrijednosti od -101‰ do -54‰ prema VSMOW. Grafički predloženi rezultati mjerenja (Slika 14.) pokazali su kako se MTBE razlikuje prema proizvođaču koji koristi različite sirovine (C_3, C_4 sirovine).[91]

Studija Woo Jin Shina i suradnika (2013) pokazuje kako je moguće razlikovati uzorke MTBE-a prema sirovini i procesu kojim je napravljen. Posebni naglasak stavljen je na moguće varijacije izotopnih delta vrijednosti istog proizvođača na dnevnoj bazi zbog manjih promjena u proizvodnji.[91] Sa stajališta okolišne forenzike radi se u kvalitetnom postupku analize u kojemu su korištena dva IRMS instrumenta za različite vrste analiza stabilnih izotopa. Rezultati koji su predloženi dijagramom raspršenosti izotopnih delta vrijednosti izotopa dvaju elemenata daju veću sigurnost u razlikovanju pripadajućih izvora. Međutim uzorci koji su u ovoj studiji analizirani nisu bili podvrgnuti okolišnim uvjetima u kojima su prisutne mnoge transformacije. MTBE prisutan u realnom uzorku benzina dio je smjese onečišćivala poput benzena, toluena, n-alkana i drugih ugljikovodika. Kako se radi o komponenti benzina, biomarkeri korišteni u prethodnoj studiji n-alkana nisu od veće pomoći u pronalaženju potencijalnog izvora. Ipak, MTBE se slabije izotopno odjeljuje procesima otapanja ili isparavanja. Podliježe jako sporoj biorazgradnji i prema tome su izotopni otisci učinkoviti u istragama onečišćenja. Još neke studije koje su pružile uvid u proces biorazgradnje, pokazale su kako se cijepanjem ^{12}C - ^{12}C veze pospješuje obogaćenje zaostalog MTBE-a.[88] Eksperimentalno su Hunkeler D. i suradnici (2001) potvrdili izotopno obogaćivanje ^{13}C izotopima nakon anaerobne biorazgradnje (>95%) za 5,1‰ do 6,9‰ pri čemu nastaje tertbutanol (TBA).[92] Modeliranjem procesa biorazgradnje i korištenjem dodatnih instrumenata za određivanje kemijskog sastava, istražitelj lako može pronaći izvor MTBE-a.

4.4.3. Benzen, toluen, etilbenzen i ksileni

Hlapljivi organski spojevi benzena (B), toluena (T), etil-benzena (E) i (o-,m-,p-) ksileni (X) čine skupinu onečišćivala (BTEX) koja se koriste kao industrijska otapala. Najčešće su u pitanju tiskarske industrije, industrije kože, proizvodnja guma, boje i agrokemikalija. U okoliš

dospijevaju istjecanjem iz podzemnih spremnika goriva kao MTBE, ispiranjem s odlagališta otpada i kao izljev industrijskih postrojenja . Posebno se ističu svi rafinerijski procesi vezani za industriju nafte. Najveće količine BTEX koje dospijevaju u okoliš dolaze tijekom incidenta u transportu nafte, odnosno njezinog izlijevanja iz cjevovoda ili tankera. BTEX su dobro topljivi u vodi i imaju sposobnost lakog prijelaza između faza. Vrlo brzo hlape u atmosferu i brzo se transformiraju u druge spojeve što otežava njihovo praćenje. Svi ovi spojevi su kancerogeni i štetni za organizam.[93,94]



Slika 15. $\delta^{13}\text{C}$ vrijednosti uzoraka četiri izvora emisije BTEX-a [95]

Yinghui Li i suradnici (2020) proučavali su BTEX iz četiri izvora emisije (izgaranje ugljena, ispušni plinovi vozila, isparavanje benzina i otapala) u atmosferi tijekom zime u kineskom gradu Taiyuanu. Za izotopno uzimanje otisaka (analiza specifična za spoj) korišten je GC-IRMS uz dodatak termičke desorpcijske jedinice zbog lake hlapljivosti uzoraka. Rezultati su prikazani na Slici 15., gdje se nalaze izotopne delta vrijednosti ugljika prema VPDB za svaku komponentu iz pojedinog izvora emisije. Vrijednosti $\delta^{13}\text{C}$ bile su intervalu od -23,8‰ do -25,2‰ za izgaranje ugljena, od -25,2‰ do -27,6‰ za ispušne plinove vozila, od -28‰ do -30,9‰ za isparavanje benzina te od -27,7‰ do -32,1‰ za isparavanje otapala. Yinghui Li i suradnici (2020) dodatno su odredili izotopne delta vrijednosti BTEX komponenti u zraku središnjeg, ruralnog i prigradskog dijela grada. U ruralnom dijelu $\delta^{13}\text{C}$ vrijednosti bile su intervalu od -24,8‰ do -26,2‰. U prigradskom dijelu $\delta^{13}\text{C}$ vrijednosti bile su intervalu od -23,9‰ do -25,4‰. U središnjem dijelu $\delta^{13}\text{C}$ vrijednosti bile su intervalu od -24,8‰ do -26,9‰. Razlike prosječne vrijednosti $\delta^{13}\text{C}$ bila su veća od 0,3‰ što čini manju razliku između tih lokacija. Uspoređujući rezultate s drugim gradovima, Yinghui Li i suradnici (2020) zaključili

su kako je prosječna $\delta^{13}\text{C}$ vrijednost grada Taiyuana bila je slična vrijednostima Toronta. Izmjerene koncentracije BTEX, odnosno kemijski otisci dokazali su umjereno onečišćenje zraka. U konačnom određivanju uzroka onečišćenja, izračunati su omjeri benzena prema toluenu (B/T). U ruralnom (1,75), središnjem (1,70) i prigradskom (1,51) dijelu grada prosječni omjer B/T bili su znatno viši od 0,5, što je ukazivalo na izgaranje ugljena.[95]

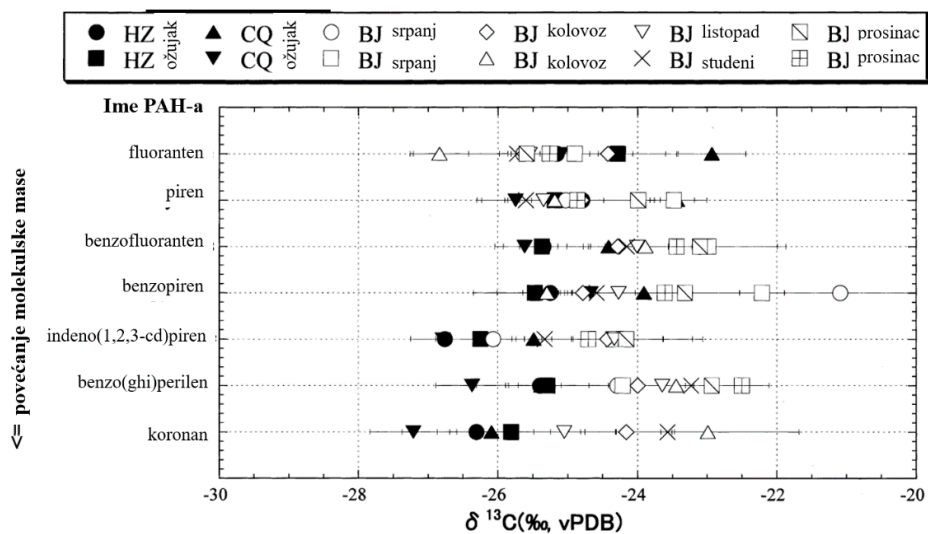
Prednost u istraživanju onečišćenja atmosfere je izostanak mogućnosti biorazgradnje. Moguća je samo kemijska razgradnja pod utjecajem svjetlosti. Svi navedeni potencijalni izvori imaju karakterističan ispušni, to jest točkasti izvor kojim BTEX ulaze u atmosferu. Za takvu je vrstu izvora najbolja analiza specifična za spoj koju su Yinghui Li i suradnici (2020) koristili. Međutim važno je uočiti kako ovdje nema receptora u okolišu, uzorci su uzeti propuhivanjem u epruvete. Izotopi se stoga odjeljuju ravnotežnim mehanizmom procesima izgaranja ili isparavanja pripadajućih izvora. Uz ljestvice delta vrijednosti izotopa ugljika izvornih sirovina bilo bi jednostavno modelirati. Rezultati (Slika 15.) pokazuju kako se na temelju $\delta^{13}\text{C}$ izvori emisija mogu razlikovati međusobno te se podudaraju s izmjerenim vrijednostima u atmosferi. Međutim bez dodatnih podataka na temelju izotopa teško je odrediti glavni izvor emisije koji najviše doprinosi prisutnom onečišćenju zraka. Za određivanje glavnog izvora BTEX-a korišten je kemijski otisak (omjer benzena prema toluenu) kao dokaz kojim se izgaranje ugljena smatra glavnim izvorom onečišćenja tijekom zime. Stoga su u ovoj su studiji kemijski omjeri bili presudni indikatori kojima je potvrđen potencijalni izvor. Istražitelji okolišne forenzike trebali bi obratiti pažnju na fotokemijski učinak razgradnje koji može utjecati na izotopne sastave i kemijske omjere.

4.4.4. Policiklički aromatski ugljikovodici

Policiklički aromatski ugljikovodici (engl. *polycyclic aromatic hydrocarbons*, PAH) su skupina onečišćivala koja uključuje veliki broj različitih spojeva koji nastaju tijekom nepotpunog procesa izgaranja nafte, plina, ugljena, otpada ili drugih tvari organskog porijekla. Sastavni su dio ispušnih plinova iz automobila, a prirodnim putem u atmosferu dospijevaju erupcijama vulkana i šumskim požarima. U industrijskim se pogonima pronalaze tijekom proizvodnje boje, plastike i pesticida. Osim onečišćenja zraka, najveću opasnost predstavljaju za vodeni okoliš. Iako se svi PAH-ovi ne otapaju u vodi, većina se veže za čvrste čestice i taloži na dnu u obliku sedimenta.[74] PAH-ovi opaženi u okolišu imaju dva (naftalen) do šest prstena (koronan).

Njihova molekulska masa uvjetuje njihovoj hlapljivosti, topljivosti, otpornosti na razgradnju i toksičnost.[96]

Tomoaki Okuda i suradnici (2002) proučavali su atmosferske PAH-ove i njihove izvore izgaranja u uzorcima aerosola prikupljenima u Pekingu (BJ), Chongqing (CQ) i Hangzhou (HZ) tijekom dvije godine (Prilog 3.). Neki od pronađenih PAH-ova bili su fluoranten, piren, krizen, koronan, benzofluoranten, benzo(e)piren, benzo(a)piren, indeno(1,2,3-cd)piren i benzo(ghi)perilen. Za prikupljanje izotopnih otisaka provedena je analiza stabilnih izotopa specifična za spoj pomoću GC-IRMS-a. Prosječne izotopne $\delta^{13}\text{C}$ vrijednosti ugljika tijekom proljeća u Chongqing bile su u intervalu od -22,9‰ do -27,2‰ te za Hangzhou od -24,2‰ do -26,8‰. U Pekingu su tijekom ljetna prosječne $\delta^{13}\text{C}$ vrijednosti bile u intervalu od -21,1‰ do -26,1‰, a zimi od -22,5‰ do -25,7‰. Fluoranten i piren koji imaju po četiri aromatska prstena, imali su slične $\delta^{13}\text{C}$ vrijednosti u sva tri grada. Značajne razlike uočene su kod benzo(ghi)perilena i indeno(1,2,3-cd)pirena koji imaju po šest i sedam aromatskih prstena. Prema tim izotopnim otiscima gradovi su podijeljeni u dvije skupine. Prva skupinu činio je Peking, a drugu skupinu Chongqing i Hangzhouom. Primijećeno je i kako su PAH-ovu u drugoj skupini bili izotopno osiromašeni s povećanjem molekulske mase dok su oni u prvoj skupini pokazali suprotan trend (Slika 16.). Trend izotopnog obogaćenja Tomoaki Okuda i suradnici (2002) objašnjavaju većim količinama ispušnih plinova iz automobila dok trend osiromašenja objašnjavaju većim doprinosom izgaranja ugljena. Izotopno odjeljivanje ovisilo je načinu izgaranja. Kemijskim su otiscima Tomoaki Okuda i suradnici (2002) potkrijepili pripadnost oba izvora PAH-a. Omjer benzo(a)piren prema krizenu ima težnju biti veći u ispušnim plinovima dizelskih motora nego kod izgaranja ugljena.[97]



Slika 16. $\delta^{13}\text{C}$ vrijednosti PAH-ova s povećanjem molekulske mase[97]

Slično prethodnoj studiji BTEX, istraživanjem atmosfere moguće je zanemariti biorazgradnju, Uzorci su prikupljeni upuhivanjem zraka u spremnik velikog volumena što može prouzrokovati odjeljivanje zbog temperature radnog stroja. Analizom specifičnom za spoj dobivene su $\delta^{13}\text{C}$ vrijednosti PAH-ova za tri grada. Prosječne $\delta^{13}\text{C}$ vrijednosti nisu mogle razlikovati gradove, međutim one pojedinih PAH-ova jesu. Uz kemijske otiske kao drugu liniju podataka, zapaženi su trendovi između molekulske mase i izotopnog obogaćenja kao rezultat načina nastajanja PAH-ova. Posljednji korak prema okolišnoj forenzici bilo bi modeliranje transformacija i traženje već poznatih izotopnih delta vrijednosti polaznih sirovina koje izgaraju (ugljen i ispušni plinovi). Omjer benzo(a)piren prema krizenu, Tomoakia i suradnike (2002) naveo je da potvrde sumnje o izvoru onečišćenja. Uvođenje dodatnog izotopa drugog elementa mogli bi pospješiti studiju zbog različitog geografskog položaja tri grada. Izotopne delta vrijednosti pojedinačnih PAH-ova ostaju stabilne tijekom atmosferskih procesa kao što su isparavanje i fotokemijska razgradnja. Jianjun Li i suradnici (2023) upozoravaju na moguće oksidacijske procese PAH-ova s nekim atmosferskim oksidansima. Rezultat takvih procesa jesu molekulski teže (kancerogenije) čestice i manje promjene u izotopnom sastavu.[98]

4.4.5. Klorirani alifatski ugljikovodici

Tetrakloeten (PCE), trikloreten (TCE), dikloreten (DCE) i vinil klorid (VC) pripadaju skupini kloriranih alifatskih ugljikovodika koji na kratkom ugljikovodičnom lancu imaju barem jedan atom klora. Klorirani alifatski ugljikovodici koriste se od 1940-ih u brojnim industrijama kao rashladna sredstva, maziva, izolatori, otapala te nastavljaju biti veliki problem kao onečišćivala okoliša. Kako su ovi spojevi guste tekućine bez vodene faze, imaju visoku tendenciju zadržavanja u sustavima podzemnih voda i sposobnost migracije na velike udaljenosti.[99] Imaju i izraženu toksičnost. Prilikom procesa biorazgradnje PCE se biorazgrađuje u TCE. TCE se nastavlja biorazgrađivati u DCE, a DCE se konačno biorazgrađuje u VC. U svakome koraku biorazgradnje moguća je kemijska razgradnja koja rezultira dekloriranjem i time stvara niz drugih spojeva. Proces ovih transformacija znatno otežavaju izotopno praćenje jer se odvijaju vrlo brzo, ovise o redoks funkcijama tla i prisutnim mikroorganizmima.[100,101]

Orfan S. Stash i suradnici (2009) istražili su VC u podzemnim vodama grada Ferrare u Padskoj nizini. Jugozapadno od grada nalazi se ugašena petrokemijska tvornica uz kanal Boicelli koji se ulijeva u rijeku Pad (Prilog 2.). Uzorci podzemnih voda prikupljeni su bušotinama unutar

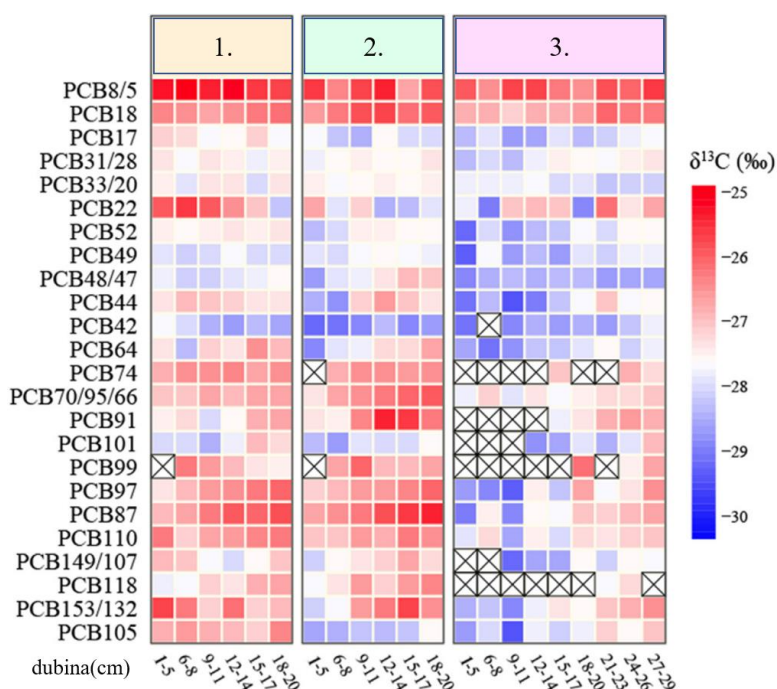
vodonosnika² ispod tvornice i okolnih mjesta. Kemijski otisci kod tvornice pokazali su visoke koncentracije TCE-a, PCE-a, cis DCE i VC-a. Vrijednosti $\delta^{13}\text{C}$ (analiza specifična za spoj) određene su GC-IRMS-om. Vrijednosti $\delta^{37}\text{Cl}$ (ukupna analiza stabilnih izotopa) određene su DI-IRMS-om. Prema VPDB-u $\delta^{13}\text{C}$ vrijednosti za VC kretale su se u intervalu od -73‰ do -52,2‰, a $\delta^{37}\text{Cl}$ vrijednosti prema SMOC-u u intervalu od 2‰ do 7,5‰. Najmanje izotopne delta vrijednosti za oba izotopa (-73‰ i 2‰) zabilježene su kod tvornice dok se izotopno obogaćenje bilježi tokom podzemne vode što ukazuje na biorazgradnju. Prisutnost metana Orfan S. Stashu i suradnicima (2009) potvrđuje sumnju kako se VC u konačnici kemijski razgrađuje u metan i ugljikov dioksid. Na temelju podataka zaključili su kako VC nije primarni produkt tvornice, ali je zato nusprodukt otpada koji se tamo nalazi.[102]

U odnosu na prethodne studije (MTBE-a, BTEX-a, PAH-ova) ovdje je problem transformacija u okolišu izraženiji. Svaki produkt nastao biorazgradnjom i kemijskom razgradnjom daje svoj izotopni otisak. U studiji postoji jedan potencijalni izvor i jedan put kojim onečišćivalo dolazi do receptora u okolišu. Kada su u pitanju izljevi u podzemne vode, istražitelji moraju ispitati svojstva tla kao što su pH, otopljeni kisik, električna vodljivost, redukcijski potencijal i temperatura. Neka od tih svojstava utječe i moguće transformacije. Ekstremni pH rasponi, visoka temperatura, niska razina otopljenog kisika, visoka vodljivost ukazuje na kontaminaciju. Prema tome se određuju prostorne granice izljevaja, a uzorci se uzimaju prema potencijalnom izvoru kako bi se dobio rastući gradijent. Orfan S. Stash i suradnici (2009) proveli su dvije vrste analiza stabilnih izotopa te su određene su delta vrijednosti izotopa dvaju elemenata (ugljika i klora). Višekomponentna analiza pridonosi kvalitetnijim rezultatima. Na temelju izmjerenih koncentracija, pronađenih spojeva (metan, ugljikov dioksid) i izotopnih otisaka potvrđena je biorazgradnja VC. Prema tome se u zaključku ugašena tvornica smatra izvorom VC. Iako je zaključak vjerojatno točan s obzirom na sve analize, u okolišnoj je forenzici potrebno više dokaza o samoj transformaciji PCE-a do VC i drugih produkata. Pronađeni metan i ugljikov dioksid mogli su doći od drugog izvora koji može biti sasvim prirodan. Potrebno je modelirati transformacije u okolišu, naročito za zahtjevna onečišćivala poput kloriranih alifatskih ugljikovodika. Ipak, studija je dobar primjer korištenja DI-IRMS-a u analizi izotopa klora.

² sloj tla koji provodi podzemne vode

4.4.6. Poliklorirani aromatski ugljikovodici

Poliklorirani bifenili (PCB) pripadaju grupi sintetskih aromatskih polikloriranih ugljikovodika. Osnovu molekule čine dvije fenilne skupine koje se kloriraju. Ovisno o sadržaju klora PCB-i dolaze u različitim agregatnim stanjima. Bezbojni su do svijetložuti, bez okusa i mirisa. Slabo su topljivi u vodi, ali su dobro topljivi u lipidima. Imaju slabu elektrovodljivost, visoku termostabilnost, otpornost na medije različitog pH, vatrootpornost te otpornost na oksidaciju. Oni su postojana onečišćivala okoliša. Godinama su se koristili kao rashladne tekućine u transformatorima, tekućina za prijenos topline u električnim radijatorima, hidraulična ulja. Dodatci su plastičnim masama, papiru, asfaltu, gumi, smoli, bojama za brodove i zaštitnim premazima za drvo. Procjenjuje se kako je atmosfera opterećena s preko 1,2 milijuna proizvedenog PCB-a. Često se pronalazi u jajima ptica, masnom tkivu sisavaca, ribama i drugim organizmima. U ljudsko se tijelo unosi preko kože i probavnog sustava.[74]



Slika 17. $\delta^{13}\text{C}$ vrijednosti za kongerene PCB-a u sedimentu[93]

Chenchen Huang i suradnici (2020) proučavali su PCB-i kongerene³ u sedimentu jezera koje se nalazi u blizini postrojenja za reciklažu elektroničkog otpada u južnoj Kini. Sakupljeni uzorci sedimenta s tri lokacije unutar jezera pripremljeni su u laboratoriju za izotopnu analizu specifičnu za spoj. Kongeneri prisutni u uzorcima sedimenta (ukupno 159) utvrđeni su GC-MS-

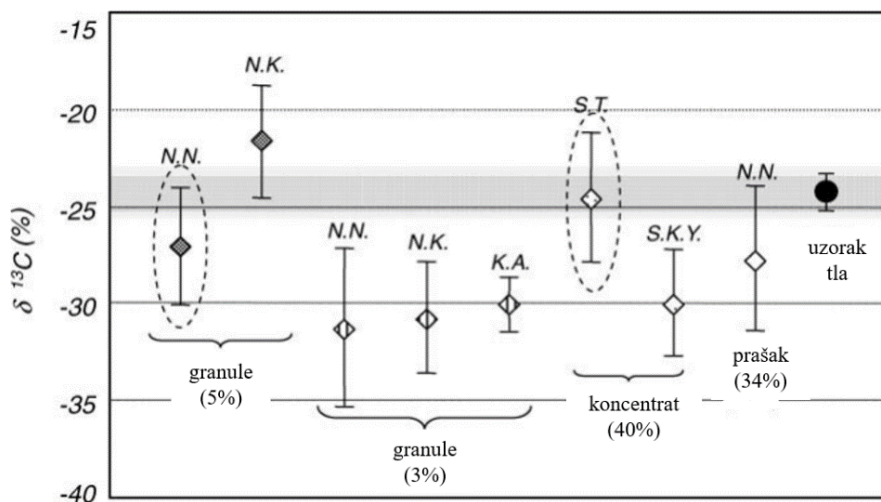
³ tvari međusobno povezane podrijetlom, strukturom ili funkcijom

om. Pomoću GC-IRMS-a analizirano je ukupno 24 kongenera PCB-a, to jest njihove $\delta^{13}\text{C}$ vrijednosti u svakom uzorku. Rezultati su prikazani na slici 17., gdje je za svaki kongener na određenoj dubini sedimenta prikazana $\delta^{13}\text{C}$ vrijednost. Na svim je lokacijama većina kongenera pokazivala izotopno obogaćenje s porastom dubine, što je ukazivalo na biorazgradnju. Međutim lokacija 3 pokazuje vrlo niske izotopne delta vrijednosti u površinskim slojevima sedimenta što je razlikuje od lokacija 1 i 2. U proučavanju biorazgradnje uzrokovane deklorirajućim bakterijama (roda *Dehalococcoides*), određena je njihova koncentracija, svojstvo kiralnosti te je matematički izračunat faktor dekloriranja. Lokacija 3 je opet odstupala u odnosu na prve dvije lokacije. Na temelju rezultata Chenchen Huang i suradnici (2020) pretpostavili su kako svi kongeneri PCB-a na lokacijama 1 i 2 imaju isti izvor koji se razlikuje od izvora na lokaciji 3. U zaključku ukazuju kako je za potvrdu drugog izvora lokacije 3 potrebno provesti dodatno istraživanje.[93]

Prvo neistraženo pitanje je put kojim onečišćivalo od potencijalnog izvora dolazi do sedimenta u jezeru. Drugo pitanje jesu lokacije uzorkovanja, jer u studiji nije prikazana slijepa karta ili satelitski snimak terena s obilježenim lokacijama uzorkovanja. Analizom stabilnih izotopa pomoću GC-IRMS-a zaključuje se kako lokacija 3 pokazuje odstupanje od ostalih lokacija zbog nižih izotopnih delta vrijednosti u površinskom sedimentu. Porastom dubine dolazi do biorazgradnje na svim lokacijama. Studija koju su proveli Chenchen Huang i suradnici (2020) pokazuje dobar primjer istraživanja biorazgradnje PCB-a uzorkovan deklorirajućih bakterija. Istražitelj okolišne forenzike uvijek mora modelirati procese biorazgradnje te objasniti odstupanja između lokacija kako bi pronašao pripadajući izvor. Chenchen Huang i suradnici (2020) primijetili su neracemske sastave u dubini sedimenta što je dokaz stereoselektivnog posredovanja mikroorganizama. Koncentracije PCB-a s porastom dubine sedimenta opadaju, osim kod lokacije 3 gdje su najviše koncentracije određene na 20 cm dubine. Faktor dekloriranja se također smanjuje porastom dubine, osim kod lokacije 3 gdje raste do 30 cm. Odstupanja lokacije 3 mogu biti uzrokovana drugačijim mikroorganizmima ili migracijama onečišćivala. Korak modeliranja podrazumijevao bi korelaciju svih istraženih parametara s izotopnim delta vrijednostima. Trenutno se može samo potvrditi kako onečišćenje postoji i kako je prisutna biorazgradnja. Dokaza o povezanosti onečišćenja bilo koje lokacije s postrojenjem za reciklažu nema jer nema analiziranog uzorka s točke izvora.

4.4.7. Pesticidi

Pesticidi su velika skupina spojeva koji se dijele prema namjeni suzbijanja (mikrobiocidi, fungicidi, herbicidi, zoocidi, homocidi), primarnom mjestu ulaska u organizam (oralni, kontakti, fumigantni) i kemijskom sastavu (anorganski, organski). Procjenjuje se kako se godišnje u svijetu proizvede 50 do 60 milijuna tona različitih pesticida. Osnovna uloga pesticida je suzbijanje štetnika, nametnika, korovne vegetacije u svrhu povećanja proizvodnje hrane. Međutim kasnije je utvrđeno kako pesticidi ne djeluju selektivno samo na štetnike, nametnike, korov već i na sav živi svijet. Postojanost u okolišu je drugačija za svaki pesticid, od jednog dana do pedeset godina.[74] Primarni izvori su poljoprivreda, šumarstvo dok se ostaci dalje prenose vjetrom, oborinama, vodama i hranidbenom mrežom. Analize stabilnih izotopa pronašle su značajnu primjenu u određivanju njihovih izvora, ali je za dobivanje točnih delta vrijednosti potrebna veća količina uzorka. [104]



Slika 18. $\delta^{13}\text{C}$ vrijednost uzorka i potencijalnih izvora diazinona [105]

Hiroto Kawashima i Yasuhiro Katayama (2010) proveli su istraživanje o pesticidima koji se koriste na tlu rižinih polja u japanskom gradu Yurihonjou. Uzorci tla (ukupno 164 uzoraka) prikupljeni su s četiri rižina polja od kraja svibnja do kraja listopada. Zemljišta A i B smještene su u blizini kanala za navodnjavanje, dok su zemljišta C i D bila nešto udaljenija (Prilog 4.). Uz kanal za navodnjavanje nalazi se i mala farma koja se bavi svinjogojstvom. Kemijske analize ilovastog tla pokazale su kako je pH tla 5,45 (povoljno za mikroorganizme), a kapacitet kationske izmjene 28,46 mEq. Prikupljene su i informacije o korištenim pesticidima od vlasnika rižinih polja u slučaju da se u uzorcima otkrije nepoznati pesticid. Osim informacija o vrstama

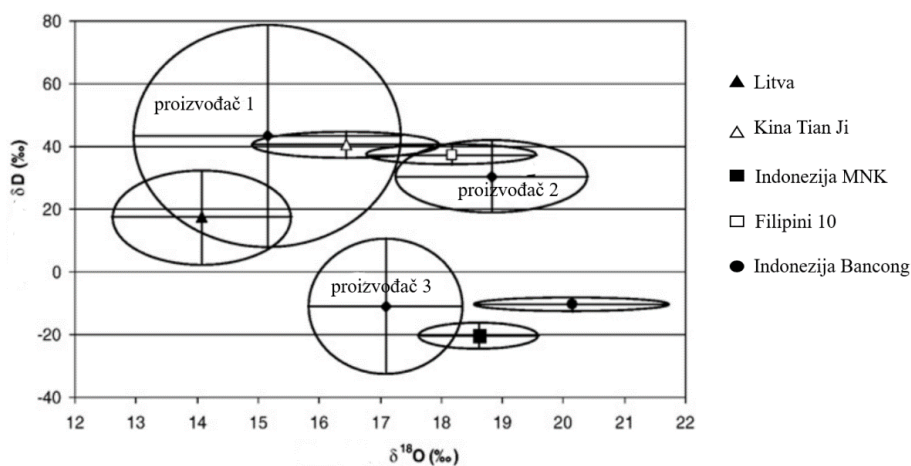
pesticida, zabilježene su količine, datumi prskanja i ciljevi korištenih pesticida. Njihove koncentracije su praćene GC-MS-om. Početkom kolovoza pojavile su se koncentracije neevidentiranog organofosfatnog insekticida diazinona. Na zemljištu A izmjerena je najveća koncentracija diazinona 8. kolovoza. Nadalje, korištenjem GC-IRMS-a u izotopnoj analizi specifičnoj za spoj, analizirane su $\delta^{13}\text{C}$ vrijednosti prema NBS¹⁹ za uzoraka tla i potencijalnih izvora diazinona. Mnogi komercijalni proizvodi koji se prodaju u Japanu sadrže diazinon. Diazinon se mogao pronaći u 5% diazinon granulama (proizvođači N.N., N.K.), 3% diazinon granulama (proizvođači N.N., N.K., K.A.), 40 % diazinon koncentratu (proizvođači S.T., S.K.Y.) i 34% diazinon prašku (proizvođač N.N.). Rezultati analize stabilnih izotopa prikazani su na slici 18. Kawashima i Katayama (2010) utvrdili su statističkim testovima kako 5% diazinon granule i 40 % diazinon koncentrat imaju jednake izotopne otiske kao uzorci tla s rižinih polja. Diazinon je u potpunosti nestao s rižinih polja do 17. kolovoza zbog kiselosti tla koja ubrzava biorazgradnju. [105]

Pesticidi su vrlo toksična onečišćivala okoliša u odnosu na onečišćivala prijašnjih studija. Agencija za zaštitu okoliša (engl. *Environmental protection agency*, EPA) prema toksičnosti kategorizira pesticide u četiri kategorije pri čemu je četvrta najopasnija. Diazinon pripada trećoj kategoriji, a zabranjen je u mnogim zemljama zbog neuroloških poremećaja i ostataka koji se brzo prenose u okolišu.[106,107] Istražitelji savjetuju pažljivo rukovanje ovim pesticidom. Studija Kawashime i Katayame (2010) započinje planiranjem terena za uzorkovanje. Uzorci se prikupljaju konstantno četrdeset jedan dan. Veći broj uzorka (164) kroz duži vremenski period prikupljanja pridonosi većem stupanj točnosti mjerenja. Teren je dobro proučen, jer bi strani pesticidi mogli doći putem kanala za navodnjavanje. Potencijalni izvori stranih pesticida koji se nalaze uz kanal jesu polja drugih poljoprivrednika ili farma. Ispitane informacije o korištenim pesticidima olakšava definiranje stranih pesticida, odnosno onih pesticida koji se mogu pojaviti na nekom ispitivanom zemljištu bez da su prije evidentirani. Kemijski otisci pesticida iz uzoraka tla, odnosno njihove koncentracije izmjerene su GC-MS-om. Pojavom stranog diazinona, istražitelji okolišne forenzike bi odradili analizu stabilnih izotopa kao što su to učinili Kawashima i Katayama u studiji (2010). Diazinon u svojoj strukturi sadržava različite atome (dušik, sumpor, kisik, ugljik, vodik), stoga je moguća i poželjna analiza različitih izotopa. U studiji su analizirane samo izotopne delta vrijednosti ugljika dobivene GC-IRMS-om. Čisti uzorci diazinona koji su vjerojatno korišteni na potencijalnim izvorima, nabavljeni su iz obližnjih trgovina. Prema rezultatima prikazanim u dijagramu raspršenja delta vrijednosti izotopa ugljika, razlika od 1‰ do 3‰ smatra se podudaranjem između uzorka tla i uzoraka

čistog proizvoda dva proizvođača. Nestanak diazinona s rižinih polja uzrokovan je biorazgradnjom u kiselom tlu čiji je pH izmjeren na početku studije. Kawashimova i Katayamina studija (2010) najbliži je primjer istrage u okolišnoj forenzici. Posljednje pitanje kojim se istražitelji moraju suočiti je počinitelj koji je koristio granule i koncentrat na svojem imanju.

4.4.8. Eksplozivi

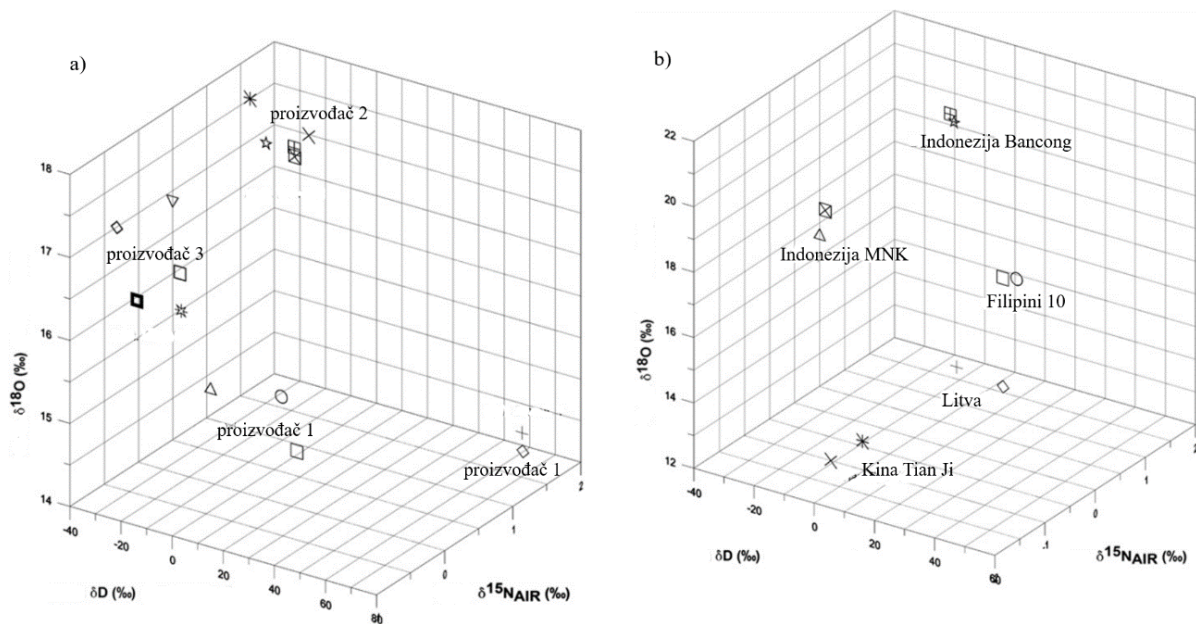
Eksploziv je kemijski spoj ili smjesa spojeva u kojima se pod djelovanjem vanjske sile oslobađa energija (u obliku topline, eksplozija) i plinovi velikog tlaka s razarajućim učinkom. Koriste se u građevinskoj industriji, rudarstvu, ali i kao dio ratne opreme. Glavne skupine eksploziva jesu barut, brizantni i inicijalni eksploziv.[108] Neki od poznatih eksploziva jesu TNT, RDX i HMX. Onečišćenje okoliša ovim spojevima podrazumijeva njihove nusprodukte koji nastaju tijekom eksplozije, ali i razgradnjom u okolišu. Eksplozivi se tako mogu pronaći u tlu, morskom sedimentu, podzemnim i površinskim vodama. Vrlo se sporo razgrađuju u okolišnim sustavima, stoga se smatraju postojanim onečišćivalima.[109]



Slika 19. Dijagramom raspršenosti delta vrijednosti izotopa vodika i kisika za australijske proizvođače i prekomorske uzorke [110]

Sarah J. Benson i suradnici (2009) proučavali su amonijev nitrat kao dio eksplozivnih spojeva koji često završe u okolišu. Čisti uzorci amonijevog nitrata prikupljeni su od tri glavna australijska proizvođača te iz prekomorskih zemalja (oznake: „Filipini 10“, „Litva“, „Kina Tian Ji“, „Indonezija MNK“, „Indonezija Bancong“). Izotopni sastav zrna amonijevog nitrata

analiziran je pomoću EA-IRMS-a (ukupna analiza stabilnih izotopa) u svrhu dobivanja $\delta^{15}\text{N}$, $\delta^{18}\text{O}$, $\delta^2\text{H}$ vrijednosti. Prema izotopima dušika, proizvođači 1 i 2 imali su širi intervali $\delta^{15}\text{N}$ vrijednosti od proizvođača 3. Između tih intervala nisu utvrđene granice kojima bi se proizvođači razlikovali. Uzorci iz prekomorskih zemalja imaju sličnu prosječnu $\delta^{15}\text{N}$ vrijednost (oko 5,7‰). Zato je dijagram raspršenosti izotopnih delta vrijednosti za izotope kisika i vodika pokazao jasne razlike između sva tri australijska proizvođača. U istom su dijagramu dodane izotopne delta vrijednosti uzoraka prekomorskih zemalja. Preklapanjem izotopnih delta vrijednosti, prekomorski su uzorci povezani s pripadajućim proizvođačima (Slika 19.). Preklapanja izotopnih delta vrijednosti bila su sljedeća; proizvođač 3 s uzorkom „Indonezija MNK“; proizvođač 2 s uzorkom „Filipini 10“; proizvođač 1 s uzorcima „Kina Tian Ji“, „Litva“ i „Filipini 10“. Uzorak „Indonezija Bancong“ nije pripao niti u jednu skupinu, stoga je odbačen. Međutim Sarah J. Benson i suradnici (2010) trebali su riješiti pitanje preklapanje uzoraka „Filipini 10“ s dva izvora. Problem je bio riješen uvođenjem 3D dijagramom raspršenosti izotopnih delta vrijednosti triju elemenata (Slika 20.). Svi su prekomorski uzorci amonijevog nitrata bili povezani s pripadajućim proizvođačem.[110]



Slika 20. 3D dijagramom raspršenosti delta vrijednosti izotopa vodika, kisika i dušika za a) australijske proizvođače i b) prekomorske uzorke [110]

U cilju studije bilo je ukazati na primjenu IRMS tehnike u istragama eksploziva i postojeće nedostatke. Provedbom ukupne analize stabilnih izotopa korišten je EA-IRMS te su određene izotopne delta vrijednosti izotopa triju elemenata. Studija je odličan primjer koji pokazuje kako

je korištenjem višekomponentnih prikaza moguće riješiti problem preklapanja izotopnih delta vrijednosti jednog uzorka s dva ili više potencijalnih izvora. Prvi je problem predstavljao široki intervali $\delta^{15}\text{N}$ vrijednosti zbog kojega je došlo do preklapanja između uzoraka amonijevog nitrata tri australijska proizvođača. Isti je problem riješen korelacijom izotopa vodika i kisika u dijagramu raspršenosti. Drugi problem nastaje preklapanjem izotopnih delta vrijednosti u istom dijagramu između jednog prekomorskog uzorka i dva australijska proizvođača. Rješenje je bilo uvođenje trećeg izotopa, odnosno 3D dijagram raspršenosti izotopnih delta vrijednosti izotopa kisika, vodika i dušika. U pogledu istražitelja, neki su prekomorski uzorci (npr. „Litva“) imali veću razliku od 1‰ do 3‰ što bi se smatralo podudaranjem ili preklapanjem. Za takve uzorke nije isključena mogućnost da pripadaju nekom drugom proizvođaču. Međutim zabrinjavajući nedostatak kojeg Sarah J. Benson i suradnici (2009) naglašavaju jest velika promjena u izotopnim vrijednostima koja nastaje aktivacijom eksploziva. Dvanaest godina poslije njihove studije, Qing Wang i suradnici (2021) objavili su slično istraživanje s 2,4,6- trinitrotoluena (TNT) koji svojom aktivacijom onečisti tlo vojnog poligona. Uputili su na isti problem i prijeko potrebno evidentiranje izotopnih delta vrijednosti nakon aktiviranja pojedinog eksploziva.[109]

5. ZAKLJUČAK

Izotopi su vrsta nuklida istog elementa koji se razlikuju prema broju neutrona. Lakši izotop nekog elementa ima jednak broj protona i neutrona. Teži izotop u odnosu na lakši ima višak neutrona. Druga podjela izotopa je prema stabilnosti. Stabilni izotopi služe kao prostorni obilježivači tvari u okolišu. Izotopni sastavi zapisuju se izotopnim delta zapisom, a pripadajuće izotopne delta vrijednosti mjere se tehnikom masene spektrometrije omjera izotopa.

Masena spektrometrija omjera izotopa (IRMS) je analitička tehnika kojom se određuje izotopni sastav nekoj tvari na temelju stabilnih izotopa lakših elemenata. S obzirom na način uvođenja plinovitog uzorka i referentnog plina razvijene su dvije IRMS tehnologije. Prva je starija tehnologija dvostrukog ulaza (DI-IRMS), a druga je novija tehnologija kontinuiranog toka (CF-IRMS). Tehnologija kontinuiranog toka ima bržu izvedbu i mogućnosti korištenja različitih sučelja kao što su elementarni analizator, jedinice za plinsku i tekućinsku kromatografiju. Pomoću instrumenata tehnologije kontinuiranog toka, u uzorku se određuju izotopi vodika, kisika, dušika, sumpora i ugljika. Tehnologija dvostrukog ulaza pogodna je i za određivanje izotopa klora. IRMS instrumentima nije moguće istovremeno odredit izotopni sastav i informacije o vrsti prisutnih analita.

Okolišna forenzika kao i druge forenzičke znanosti koriste IRMS tehniku za uspostavu korelacije između tvari i praćenje njihovih tragova. Prema tome okolišna forenzika nastoji odrediti povezanost između onečišćivala i izvora onečišćenja.

- Analizirani izotopni sastavi u forenzici okoliša nazivaju se izotopnim otiscima prstiju.
- Za kvalitetan izotopni otisak nekog onečišćivala potrebno je analizirati izotope više različitih elemenata.
- Izotopni otisak dobiven bilo kojim IRMS instrumentom služi kao jedna linija dokaza koja ne može biti presudna u donošenju zaključka o izvoru onečišćenja.
- Valjan dokaz o pripadnosti nekog onečišćivala određenom izvoru, osim podudaranja izotopnih delta vrijednosti zahtjeva od istražitelja niz dodatnih provjera, modeliranja i interpretacija istih.
- IRMS tehnika primjenjiva je u forenzičkim istragama n-alkana, MTBE-a, BTEX-a, PAH-ova, polikloriranih aromatskih ugljikovodika (PCB) i kloriranih alifatskih ugljikovodika (PCE, TCE, DCE, VC). U razvoju su primjene na pesticide, eksplozive, farmaceutike i mikroplastiku.

6. POPIS LITERATURE

- [1] <https://www.britannica.com/science/Anthropocene-Epoch> (pristup 19.8.2024.)
- [2] Aggarwal J., Habicht-Mauche J., Juarez C., Application of heavy stable isotopes in forensic isotope geochemistry: A review, *Applied Geochemistry*, **23**. (2008), 2658.-2666. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2008.05.016>
- [3] N. E. Holden, T. B. Coplen, J. K. Böhlke, M. E. Wieser, G. Singleton, T. Walczyk, S. Yoneda, P. G. Mahaffy, L. V. Tarbox., IUPAC Periodic Table of the Isotopes, *Chemistry International*, **33**. No.4. (2011), 10.-20.
- [4] N. E. Holden, Educational Outreach Efforts at the NNDC, *Nuclear Data Sheets*, **120**. (2014), 169. <https://doi.org/10.1016/j.nds.2014.07.037>
- [5] Kendall C., McDonnell J., Isotope tracers in catchment hydrology, *Elsevier Sc.*, Amsterdam, (1998), 53.-60.
- [6] Allegre C. J., Isotope Geology, *Cambridge University press*, Cambridge, (2008), 12.-13.
- [7] https://depts.washington.edu/stollgrp/publication/2007_stoll/2007_stoll.pdf (pristup; 3.7.2024.)
- [8] Norman E. Holden, Tyler B. Coplen, John K. Böhlke, Lauren V. Tarbox, Jacqueline Benefield, John R. de Laetera, Peter G. Mahaffy, Glenda O'Connorb, Etienne Rotha, Dorothy H. Tepper, Thomas Walczyk, Michael E. Wieser and Shigekazu Yoneda, IUPAC Periodic Table of the Elements and Isotopes (IPTEI) for the Education Community (IUPAC Technical Report), *Pure and Applied Chemistry*, **90**. (2018), 1836. <https://doi.org/10.1515/pac-2015-0703>
- [9] Coplen, T.B., Guidelines and recommended terms for expression of stable-isotope-ratio and gas-ratio measurement results, *Rapid Communications in Mass Spectrometry.*, **25**. (2011), 2538–2560. <https://doi.org/10.1002/rcm.5129>
- [10] Miljević N., Golobočanin D., Potential use of environmental isotopes in pollutant migration studies, *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju*, **58**. (2007), 251.-254. <https://doi.org/10.2478/v10004-007-0015-5>
- [11] Dunn P., Carter J., Good practice guide for isotope ratio mass spectrometry, FIRMS Network, UK, (2018), 1.-84.
- [12] Willi A. Brand, Tyler B. Coplen, Jochen Vogl, Martin Rosner and Thomas Prohaska, Assessment of international reference materials for isotope-ratio analysis (IUPAC Technical

Report), *Pure and Applied Chemistry*, **86**. (2014), 431.-447. <https://doi.org/10.1515/pac-2013-1023>

[13] Coplen, T. B., W. A. Brand, M. Gehre, M. Gröning, H. A. J. Meijer, B. Toman, and R. M. Verkouteren, New Guidelines for $\delta^{13}\text{C}$ Measurements, *Analytical Chemistry*, **78**. (2006), 2439-2441. <https://doi.org/10.1021/ac052027c>

[14] Beaudoin, G., B. E. Taylor, D. Rumble, and M. Thiemens, Variations in the Sulfur Isotope Composition of Troilite from the Cañon Diablo Iron Meteorite, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **58**. (1994), 4253.-4255. [https://doi.org/10.1016/0016-7037\(94\)90277-1](https://doi.org/10.1016/0016-7037(94)90277-1)

[15] Hester R. E., Harrison R. M., Environmental forensics and the importance of source identification , *Issues in Environmental Science and Technology* , **26**. (2008), 1.-16. <https://doi.org/10.1039/9781847558343>

[16] Manfred Groning, Handbook of Stable Isotope Analytical Techniques; International Stable Isotope Reference Materials, *Elsevier Sc.*, Amsterdam, (2004), 876. <https://doi.org/10.1016/B978-044451114-0/50042-9>

[17] Tiwari M., Ashutosh K. S., Devesh K. S., Chemostratigraphy; Stable Isotopes: Tools for Understanding Past Climatic Conditions and Their Applications in Chemostratigraphy, Elsevier, India, (2015), 67.-68. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-419968-2.00003-0>

[18] Mook W.G., Environmental isotopes in the hydrological cycle: Principles and applications, UNESCO, Paris, (2000), 31.-44.

[19] Edwin A. S., Applying Stable Isotope Fractionation Theory to New Systems, *Reviews in Mineralogy and Geochemistry* **55**. (2004), 67.-68. <https://doi.org/10.2138/gsrng.55.1.65>

[20] https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2013_06_80_1659.html (pristup 9.7.2024.)

[21] Kumar, B., Encyclopedia of Snow, Ice and Glaciers; Environmental Isotopes., *Springer*, The Netherlands, (2011), 261–262. 10.1007/978-90-481-2642-2_137

[22] Nier O. A., A Redetermination of the Relative Abundances of the Isotopes of Carbon, Nitrogen, Oxygen, Argon, and Potassium, *Physical Review*, **77**. (1950), 789.-793. <https://doi.org/10.1103/PhysRev.77.789>

- [23] Bowen, G. J., Wassenaar I. L., Hobson K. A., Global application of stable hydrogen and oxygen isotopes to wildlife forensics, *Oecologia*, **143**. (2005), 337.-348. [10.1007/s00442-004-1813-y](https://doi.org/10.1007/s00442-004-1813-y)
- [24] Bowen, G. J., Good, S.P., Incorporating water isoscapes in hydrological and water resource investigations, *WIREs Water*, **2**. (2015), 107.-119. <https://doi.org/10.1002/wat2.1069>
- [25] Dawson T. E., Siegwolf R. T. V., Using Stable Isotopes as Indicators, Tracers, and Recorders of Ecological Change: Some Context and Background, *Terrestrial Ecology*, **1**. (2007), 3.-18. [https://doi.org/10.1016/S1936-7961\(07\)01001-9](https://doi.org/10.1016/S1936-7961(07)01001-9)
- [26] Rodrigues C., Maia R.,Lauteri M., Brugnoli E., Máguas C., Stable Isotope Analysis, *Comprehensive Analytical Chemistry*, **60**. (2013), 77.-99. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-59562-1.00004-9>
- [27] Epstein S., Mayeda T., Variation of ^{18}O content of waters from natural sources, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **4**. (1953), 213.-224. [https://doi.org/10.1016/0016-7037\(53\)90051-9](https://doi.org/10.1016/0016-7037(53)90051-9)
- [28] Hubner H., The Terrestrial Environment; *Isotope effects of nitrogen in the soil and biosphere*, Elsevier Sc., Amsterdam (1986), 361.-426. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-42225-5.50014-0>
- [29] Kelly S. Brodie C., Hilkert A., Modern Techniques for Food Authentication; *Isotopic-Spectroscopic Technique - Stable Isotope-Ratio Mass Spectrometry (IRMS)*, Academic Press, UK, (2018), 349.-413. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814264-6.00011-6>
- [30] Keeling C. D., The concentration and isotopic abundances of atmospheric carbon dioxide in rural areas, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **13**. (1958), 322.-334. [https://doi.org/10.1016/0016-7037\(58\)90033-4](https://doi.org/10.1016/0016-7037(58)90033-4)
- [31] Mook W. G., Vogel J. C., Isotopic equilibrium between shells and their environment, *Science*, **159**. (1968), 874.-875. [10.1126/science.159.3817.874](https://doi.org/10.1126/science.159.3817.874)
- [32] Deines P., The Terrestrial Environment; Isotopic composition of reduced organic carbon, *Elsevier Sc.*, Amsterdam, (1980), 329.-340. [10.1016/B978-0-444-41780-0.50015-8](https://doi.org/10.1016/B978-0-444-41780-0.50015-8)
- [33] Sakai H., Fractionation of sulphur isotopes in nature, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **12**. (1957), 150.-169. [https://doi.org/10.1016/0016-7037\(57\)90025-X](https://doi.org/10.1016/0016-7037(57)90025-X)

- [34] Ohmoto H., Systematics of Sulfur and Carbon Isotopes in Hydrothermal Ore Deposits, *Economic Geology*, **67**. (1972), 551.-575. 10.2113/GSECONGEO.67.5.551
- [35] Nielsen, H., Isotopic composition of the major contributors to atmospheric sulfur, *Tellus*, **26**. (1974), 213.-220. <https://doi.org/10.1111/j.2153-3490.1974.tb01969.x>
- [36] Krouse H. R., Grinenko V. A., Stable isotopes in the assessment of natural and anthropogenic sulfur in the environment, *Wiley*, London, (1991), 8.-21.
- [37] Clark I., Fritz P., Environmental Isotopes in Hydrogeology, *CRC Press*, USA, (1997), 12.
- [38] Magenheimer A. J., Spivack A. J., Michael P. J., Gieskes J. M., Chlorine stable isotope composition of the oceanic crust: Implications for Earth's distribution of chlorine, *Earth and Planetary Science Letters* **131**. (1995), 427.-432. [https://doi.org/10.1016/0012-821X\(95\)00017-7](https://doi.org/10.1016/0012-821X(95)00017-7)
- [39] Eastoe C. J., Long A., Land L. S., J., Kyle R., Stable chlorine isotopes in halite and brine from the Gulf Coast Basin: brine genesis and evolution, *Chemical Geology*, **176**. (2001), 343.-360. [https://doi.org/10.1016/S0009-2541\(00\)00374-0](https://doi.org/10.1016/S0009-2541(00)00374-0)
- [40] Hendry M. J., Wassenaar L. I., Kotzer T., Chloride and chlorine isotopes (^{36}Cl and ^{37}Cl) as tracers of solute migration in a thick, clay-rich aquitard system, *Water Resources Research*, **36**. (2000), 285.-296. <https://doi.org/10.1029/1999WR900278>
- [41] Kaufmann R., Long A., Bentley H., Stanley D., Natural chlorine isotope variations, *Nature*, **309**. (1984), 338.-340. 10.1038/309338a0
- [42] Sun A., Xu Q., Xu S., Shen H., Sun J., Zhang Y., Separation and analysis of chlorine isotopes in higher plants, *Chemical Geology*, **381**. (2014), 21.-25. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2014.04.006>
- [43] Jochmann M. A., Schmidt T. C., Compound-specific Stable Isotope Analysis; Introduction to Compound-specific Isotope Analysis, *Royal Society of Chemistry*, UK, (2012), 1.-10. <https://doi.org/10.1039/BK9781849731577-00001>
- [44] Barrie A., Prosser S. J., Mass Spectrometry of Soils; Automated analysis of light-element stable isotopes by isotope ratio mass spectrometry, Marcel Dekker, USA, (1996), 151.- 168. https://doi.org/10.1007/0-387-27448-0_13

- [45] Kaklamanos G., Aprea E., Theodoridis G., Chemical Analysis of Food; Mass spectrometry: principles and instrumentation, Academic Press, UK, (2020), 525.- 552. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813266-1.00011-5>
- [46] Wieser M.E., Brand W.A., Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry; Isotope Ratio Studies Using Mass Spectrometry, Academic Press, The Netherlands, (2017), 488.-500. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.05243-4>
- [47] Muccio Z., Jackson G. P., Isotope ratio mass spectrometry, *Analyst*, **2.** (2009), 213.-222. 10.1039/b808232d
- [48] Mambelli, S., Brooks P. D., Sutka R., Hughes S., Finstad K. M., Nelson J. P., Dawson T. E., High-Throughput Method for Simultaneous Quantification of N, C and S Stable Isotopes and Contents in Organics and Soils, *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, **30.** (2016), 1743-1753. <https://doi.org/10.1002/rcm.7605>
- [49] <https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/CMD/Product-Bulletins/AR-IRMS-Forensic-Applications-SPEC0416-EN.pdf> (pristup; 3.7.2024.)
- [50] Benson S., Lennard C., Maynard P., Roux C., Forensic applications of isotope ratio mass spectrometry, *Forencis science international*, **157.** (2006), 1.-22. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2005.03.012>
- [51] Merritt D. A., Freeman K. H., Ricci M. P., Studley S. A., Hayes J. M., Performance and Optimization of a Combustion Interface for Isotope Ratio Monitoring Gas Chromatography/Mass Spectrometry, *Analytical Chemistry*, **67.** (1995), 2461. -2473. <https://doi.org/10.1021/ac00110a022>
- [52] Burgoyne T. W., Hayes J. M., Quantitative Production of H₂ by Pyrolysis of Gas Chromatographic Effluents, *Analytical Chemistry*, **70.** (1998), 5136.-5141. <https://doi.org/10.1021/ac980248v>
- [53] Krummen M., Hilker A. W., Juchelka D., Duhr A., Schluter H. J., Pesch R., A new concept for isotope ratio monitoring liquid chromatography/mass spectrometry, *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, **18.** (2004), 2260.-2266. 10.1002/rcm.1620
- [54] McCullagh J. S. O., Mixed-mode chromatography/isotope ratio mass spectrometry, *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, **24.** (2010),484.-494. <https://doi.org/10.1002/rcm.4322>

- [55] Petrisor I. G., *Environmental Forensics Fundamentals: A Practical Guide*, CRC Press, USA., (2014), 1.-149.
- [56] Lin Zhang, Yun Li, Wenmin Jiang, Yongqiang Xiong, Position-specific carbon isotopic composition of thermogenic propane: Insights from pyrolysis experiments, *Organic Geochemistry*, 166. (2022), 104379 <https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2022.104379>
- [57] Gauchotte-Lindsay C., Turnbull S. M., On-line high-precision carbon position-specific stable isotope analysis, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, **74**. (2016), 115.-125. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.07.010>
- [58] Corso T. N., Brenna J. T., High-precision position-specific isotope analysis, *PNAS*, **94**. (1997), 1049.-1050. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.4.104>
- [59] Förstel H., The natural fingerprint of stable isotopes use of IRMS to test food authenticity, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **388**. (2007), 542. 10.1007/s00216-007-1241-z
- [60] Elizabeth Pisani, WHO global surveillance and monitoring system for substandard and falsified medical products, Switzerland, (2017), 1.- 40.
- [61] Cristea G., Magdas D., Voica C., Feher, I., Stable isotope fingerprinting for pharmaceutical authentication. *Analytical Letters*, **50**. (2017), 2691.–2698. 10.1080/00032719.2016.1265534
- [62] Matos M. P. V., Jackson G. P., Isotope ratio mass spectrometry in forensic science applications, *Forensic Chemistry*, 13. (2019), 1.-11. <https://doi.org/10.1016/j.forc.2019.100154>
- [63] Philp R. P., Oil Spill Environmental Forensics Case Studies; Fifty Years of Petroleum Geochemistry: A Valuable Asset in Oil Spill Environmental Forensics, *Butterworth-Heinemann*, UK, (2018), 25.-48. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804434-6.00002-1>
- [64] Elkins K. M., *Introduction to Forensic Chemistry*, CRC Press, SAD, (2018), 1.-304.
- [65] Polivka B. J., The Great London Smog of 1952, *American Journal of Nursing*, **118**. (2018), 1.-5. 10.1097/01.NAJ.0000532078.72372.c3
- [66] Crichton R. R., *Biological Inorganic Chemistry; Metals in the Environment*, Elsevier China, (2012), 433.-445. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53782-9.00023-1>
- [67] Wells P. G., The iconic Torrey Canyon oil spill of 1967., Marking its legacy, *Marine Pollution Bulletin*, **115**. (2017), 1.-2. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.12.013>

- [68] <https://www.britannica.com/topic/United-Nations-Conference-on-the-Human-Environment> (pristup 14.7.2024.)
- [69] O'Sullivan G., Sandau C., Environmental Forensics for Persistent Organic Pollutants; Brief Overview: Discovery, Regulation, Properties, and Fate of POPs, *Elsevier*, UK., (2014), 1.-20.
- [70] Murphy B. L., Morrison R. D., Introduction to environmental forensics, third edition, *Academic Press*, UK, (2015) 1.-455.
- [71] Murphy B. L., Morrison R. D., Introduction to environmental forensics, second edition, *Academic Press*, UK., (2007), 1.-610.
- [72] Philip R. P., An overview of environmental forensics, *Geologica Acta*, **12**. (2014) 364. 10.13344/GeologicaActa2014.12.4.7
- [73] Kaštelan M. M., Petrović M., Analitika okoliša, Hinus, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Zagreb, (2013), 51.-107.
- [74] Springer O. P., Springer D., Otrovani modrozeleni planeti, Merdijani, Samobor, (2008) 59.-149.
- [75] Zaghi C., Conti M. E., Cecchetti G., White Paper on chemicals and Stockholm Convention on persistent organic pollutants; perspectives for environmental risk management, *International Journal of Risk Assessment and Management*, **3**. (2002), 234.-245. <https://doi.org/10.1504/IJRAM.2002.002555>
- [76] https://www.eurochlor.org/wp-content/uploads/2019/04/sd10-long_range_transport-final.pdf (pristup; 29.7.2024.)
- [77] Richards P. Sandau C., Environmental Forensics for Persistent Organic Pollutants; Sample Collection and Management for Environmental Forensic Investigations, *Elsevier*, UK., (2014), 141.-155.
- [78.] INTERPOL, Pollution Crime Forensic Investigation Manual. Volume I of II, France (2014), 1.-184.
- [79] Hülsemann F., Lehn C., Schneiders S., Jackson G., Hill S., Rossmann A., Scheid N., Dunn P.J.H., Flenker U., Schänzer W., Global spatial distributions of nitrogen and carbon stable isotope ratios of modern human hair, *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, **29**. (2015), 2111.–2121.

- [80] Petrisor I., Fingerprinting in Environmental Forensics, *Environmental Forensics*, **6**, (2005), 101.-102. <https://doi.org/10.1080/15275920590952702>
- [81] <https://hrcak.srce.hr/218898> (pristup 20.7.2024.)
- [82] Doyle S. Chau T.,Howa J., IRMS based evidence passes the test, *Science & Justice*, **63**, (2023), 743-746 <https://doi.org/10.1016/j.scijus.2023.10.002>
- [83] Kaplan I. R.,Galperin J., Lu S.-T., Lee R.-P., Forensic Environmental Geochemistry: differentiation of fuel-types, their sources and release time, *Organic Geochemistry*, **27**. (1997), 301.-302. [https://doi.org/10.1016/S0146-6380\(97\)87941-7](https://doi.org/10.1016/S0146-6380(97)87941-7)
- [84] Stefanie Rayana Lutz, Isotopic Fingerprints of Organic Pollutants - Quantifying Sources and Sinks of Organic Pollutants with Isotope Analysis from Aquifer to Catchment Scale, doctoral dissertation, Faculty of Earth and Life Sciences University Amsterdam, Amsterdam, (2015)
- [85] Slater G. F., Stable Isotope Forensics--When Isotopes Work, *Environmental Forensics*, **4**, (2003), 15. <https://doi.org/10.1080/15275920303485>
- [86] Petrisor I., Letter from the Managing Editor-How to Use Stable Isotope Analysis, *Environmental Forensics*, **7**, (2006), 187. <https://doi.org/10.1080/15275920600840321>
- [87] Kostecki P., Morrison R., Dragun J., Encyclopedia of Soils in the Environment; Hydrocarbons, *Academic Press*, SAD, (2005), 217.-220.
- [88] Rogers K. M., Savard M. M., Detection of petroleum contamination in river sediments from Quebec City region using GC-IRMS, *Organic Geochemistry*, **30**. (1999), 1560.-1568. [https://doi.org/10.1016/S0146-6380\(99\)00132-1](https://doi.org/10.1016/S0146-6380(99)00132-1)
- [89] Smallwood B. J., Philp R. P., Burgoyne T. W., The Use of Stable Isotopes to Differentiate Specific Source Markers for MTBE, *Environmental Forensics*, **2**, (2001), 215.-219. 215.-220. 10.1006/enfo.2000.0023
- [90] Oudijk G., Compound-Specific Stable Carbon Isotope Analysis of MTBE in Groundwater Contamination Fingerprinting Studies: The Use of Hydrogeologic Principles to Assess Its Validity, *Environmental Forensics*, **9**, (2008), 40.-43. <https://doi.org/10.1080/15275920801888194>

- [91] Woo-Jin Shin, Sin-Woo Lee, Su-Young Heo, Kwang-Sik Lee, Stable Isotopic Fingerprinting for Identification of the Methyl Tert-Butyl Ether (MTBE) Manufacturer, , *Environmental Forensics*, **14**. (2013), 36.-40. <https://doi.org/10.1080/15275922.2012.760179>
- [92] Hunkeler D., Butler B. J., Aravena R., Barker J. F., Monitoring biodegradation of methyl tert-butyl ether (MTBE) using compound-specific carbon isotope analysis, *Environmental Science & Technology*, **35**. (2001), 676.-680. 10.1021/es001338w
- [93] Fengsheng Su, Chungsyng Lu, Johnston K. R., Sukai Hu, Kinetics, Environanotechnology; Thermodynamics, and Regeneration of BTEX Adsorption in Aqueous Solutions via NaOCl-Oxidized Carbon Nanotubes, UK ,*Elsevier*, (2010), 71.-79. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-054820-3.00005-8>
- [94] Hernández-Ospina D. A., Osorio-González C. S., Miri S. Kaur Bra S., New perspectives on the anaerobic degradation of BTEX: Mechanisms, pathways, and intermediates, *Chemosphere*, 361. (2024), 1.-3. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2024.142490>
- [95] Yinghui Li, Yulong Yan, Dongmei Hu, Zhisheng Li, Aisheng Hao, Rumei Li, Cheng Wang, Yang Xu, Jingyuan Cao, Zhuocheng Liu, Lin Peng, Source apportionment of atmospheric volatile aromatic compounds (BTEX) by stable carbon isotope analysis: A case study during heating period in Taiyuan, northern Chinam, *Atmospheric Environment*, **225**. (2020), 1.-6. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2020.117369>
- [96] Kazuichi Hayakawa, Polycyclic Aromatic Hydrocarbons - Environmental Behavior and Toxicity in East Asia, *Springer*, Japan, (2018) 3.-5.
- [97] Tomoaki Okuda, Hidetoshi Kumata, Hiroshi Naraoka, Hideshige Takada, Origin of atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Chinese cities solved by compound-specific stable carbon isotopic analyses, *Organic Geochemistry*, **33**. (2002), 1737.-1745. [https://doi.org/10.1016/S0146-6380\(02\)00180-8](https://doi.org/10.1016/S0146-6380(02)00180-8)
- [98] Jianjun Li, Xiaoqing Wang, Odlazak Dai, Weining Qi, Haijiao Liu, Minxia Shen, Yali Liu, Xiao Guo, Yifan Zhang, Lu Li, Yue Cao, Lijuan Li, Yukun Chen, Qiao Feng, Molecular compositions and stable carbon isotopes ($\delta^{13}\text{C}$) of PAHs in wintertime PM_{2.5} in urban Xi'an, China: Implications for source distribution and atmospheric oxidation, *Atmospheric Research*, 292. (2023), 106890 <https://doi.org/10.1016/j.atmosres.2023.106890>

- [99] Beneteau K.M., Aravena R., Frapce S.K., Isotopic characterization of chlorinated solvents—laboratory and field results, *Organic Geochemistry*, **30**. (1999), 739.-740. [https://doi.org/10.1016/S0146-6380\(99\)00057-1](https://doi.org/10.1016/S0146-6380(99)00057-1)
- [100] Zimmermann J., Halloran L. J. S., Hunkeler D., Tracking chlorinated contaminants in the subsurface using compound-specific chlorine isotope analysis: A review of principles, current challenges and applications, *Chemosphere*, **244**. (2020), 1.-10. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125476>
- [101] Brown R. A., Mueller J. G., Seech A. G., Henderson J. K., Wilson J. T., Interactions between biological and abiotic pathways in the reduction of chlorinated solvents, *Remediation*, **20**., (2009) 9.-17. <https://doi.org/10.1002/rem.20226>
- [102] Orfan Shouakar-Stash, Frapce S. K., Aravena R., Gargini A., Pasini M., Drimmie R. J., Analysis of Compound-Specific Chlorine Stable Isotopes of Vinyl Chloride by Continuous Flow–Isotope Ratio Mass Spectrometry (FC–IRMS), *Environmental Forensics*, **10**. (2009), 299.-306. <https://doi.org/10.1080/15275920903347628>
- [103] Chenchen Huang, Yanhong Zeng, Xiaojun Luo, Ziheng Ren, Qihong Lu, Yankuan Tian, Shutao Gao, Shanquan Wang, Stuart Harrad, Bixian Mai, Tracing the sources and microbial degradation of PCBs in field sediments by a multiple-line-of-evidence approach including compound-specific stable isotope analysis, *Water Research*, **182**. (2020), 1.-6. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.115977>
- [104] Eun-Ji Won, Hee-Young Yun, Dong-Hun Lee, Kyung-Hoon Shin, Application of Compound-Specific Isotope Analysis in Environmental Forensic and Strategic Management Avenue for Pesticide Residues, *Molecules*, **26**. (2021), 2.-21. <https://doi.org/10.3390/molecules26154412>
- [105] Kawashima H., Katayama Y., Source Evaluation of Diazinon Using Stable Carbon Isotope Ratio, *Environmental Forensics*, **11**. (2010), 263.-369. <https://doi.org/10.1080/15275922.2010.522217>
- [106] <https://www.beyondpesticides.org/assets/media/documents/pesticides/factsheets/Diazinon.pdf> pristup (17.8.2024.)
- [107] Xiaozhen Wu, Jiayi Li, Zhe Zhou, Ziqiu Lin, Shimei Pang, Pankaj Bhatt, Sandhya Mishra, Shaohua Chen, Environmental Occurrence, Toxicity Concerns, and Degradation of

Diazinon Using a Microbial System, *Frontiers in Microbiology*, **12**. (2021), 1.-5. 10.3389/fmicb.2021.717286

[108] <https://www.enciklopedija.hr/clanak/eksploziv> (pristup 18.8.2024.)

[109] Qing Wang, Yongbing Zhu, Yu Zhao, Huijun Zhang, Sanping Zhao, Xiaodong Liu, Novel GC-IRMS-Based Method for Compound-Specific Isotope Analysis (CSIA) of Explosives Contaminants in Soil, *Environmental Earth Sciences*, **859**. (2021), 1.-6. 10.1088/1755-1315/859/1/012096

[110] Sarah J. Benson, Lennard C. J., Maynard P, Hill D. M., Andrew A. S., Roux C., Forensic analysis of explosives using isotope ratio mass spectrometry (IRMS) - Discrimination of ammonium nitrate sources, *Science & Justice*, **49**. (2009), 73.-80. <https://doi.org/10.1016/j.scijus.2009.04.005>

POPIS KRATICA I SIMBOLA

R- izotopni omjer

δ – izotopni delta zapis

‰ – promil, mjerna jedinica za vrijednost izotopnog delta zapisa (izotopna delta vrijednost)

mEq – jedna tisućinka ekvivalenta, mjerna jedinica za količinu elektrolita u otopini

m_1, m_2 – masa 1 i masa 2

v_1, v_2 – brzina 1 i brzina 2

T - temperatura

α - faktor izotopnog odjeljivanja

ε - koeficijenta izotopnog obogaćivanja ili osiromašenja

IUPAC (engl. *International Union of Pure and Applied Chemistry*) - Međunarodna unija za čistu i primijenjenu kemiju

CIAAW (engl. *Commission on Isotopic Abundances and Atomic Weights*) - Povjerenstvo za zastupljenost izotopa i atomske mase

IAEA (engl. *International Atomic Energy Agency*) -Međunarodne agencije za atomsku energiju

VSMOW (engl. *Vienna standard mean ocean water*) -Bečka standardna oceanska voda

SLAP (engl. *Standard light antarctic precipitation*) – Standardna laka antarktička oborina

PDB (engl. *PeeDee belemnite*)- belemnit iz regije PeeDee Južne Karoline

VPDB (engl. *Vienna PeeDee belemnite*) - Bečki PeeDee belemnita

VCDT (engl. *Vienna Cañon Diablo troilite*) - bečki Kanjon Diablo troilit

SMOC (engl. *Standard mean ocean chloride*) - Standardni srednji oceanski klorid

NBS1a - identifikacijska oznaka za otopljeni snijeg iz Yellowstonea

NBS¹⁹ - identifikacijska oznaka za TS-vapnenc

USGS32 - identifikacijska oznaka za atmosferski dušik

IAEAS-1 - identifikacijska oznaka srebrov sulfid

NIST SRM 975a - identifikacijska oznaka za posebno pripremljen natrijev klorid

IRMS (engl. *isotope ratio mass spectrometry*) - masena spektrometrija omjera izotopa

DI-IRMS (engl. *dual inlet isotope ratio mass spectrometry*)- masena spektrometrija omjera izotopa s dvostrukim ulazom

CF- IRMS (engl. *continuous flow isotope ratio mass spectrometry*)- masena spektrometrija omjera izotopa kontinuiranog toka

EA-IRMS (engl. *elemental analyzer – isotope ratio mass spectrometry*) - maseni spektrometar omjera izotopa s elementarnim analizatorom

GC-IRMS (engl., *gas chromatography - isotope ratio mass spectrometry*) – maseni spektrometar omjera izotopa s plinskom kromatografijom

LC-IRMS (engl. *liquid chromatography-isotope ratio mass spectrometry*) - maseni spektrometar omjera izotopa s tekućinskom kromatografijom

HPLC (engl. *high performance liquid chromatography*) - tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti

GC/P/GC-IRMS (engl. *gas chromatography/ pyrolysis /gas chromatography- isotope ratio mass spectrometry*) - maseni spektrometar omjera izotopa s GC/P/GC sučeljem

SIA (engl. *stable isotope analysis*) - analize stabilnih izotopa

CSIA (engl. *compound specific isotope analysis*,) - izotopna analiza specifična za spoj

PSIA (engl., *position specific isotope analysis*) - izotopna analiza specifična za položaj

FID (engl. *flame ionization detector*) - detektorom plamene ionizacije

HTC (engl. *high-temperature conversion*) - visokotemperaturna pretvorba

BCF (engl. *bioconcentration factor*) - faktor bioakumulacije

PBF (engl. *persistent bioaccumulative and toxic*) - postojane, bioakumulativne i toksične tvari

INTERPOL (engl. *The International criminal police organization*) - Međunarodna kriminalističko-policajska organizacija

EPA (engl. *Environmental protection agency*) - Agencija za zaštitu okoliša

C3 – biljke dvosupnice koje koriste Calvin–Bensonov fotosintetski put

C4 – biljke jednosupnice koje koriste Hatch-Slack fotosintetski put

CAM (engl. *Crassulacean acid metabolism*) - metabolizam Crassulacean kiseline

GC-MS (engl. *Gas chromatography - mass spectrometry*)– plinska kromatografija sa spektrometrijom masa

GPS – globalni položajni sustav

D – deuterij, izotop vodika (^2H)

MTBE - metil-tertbutil eter

TBA - tertbutanol

BTEX - hlapljivi organski spojevi benzena (B), toluena (T), etil-benzena (E) i (o-,m-,p-) ksilena (X)

PAH (engl. *polycyclic aromatic hydrocarbons*) - policiklički aromatski ugljikovodici

PCE – tetrakloeten

TCE - trikloreten

DCE - dikloreten

VC - vinil klorid

PCB - poliklorirani bifenil

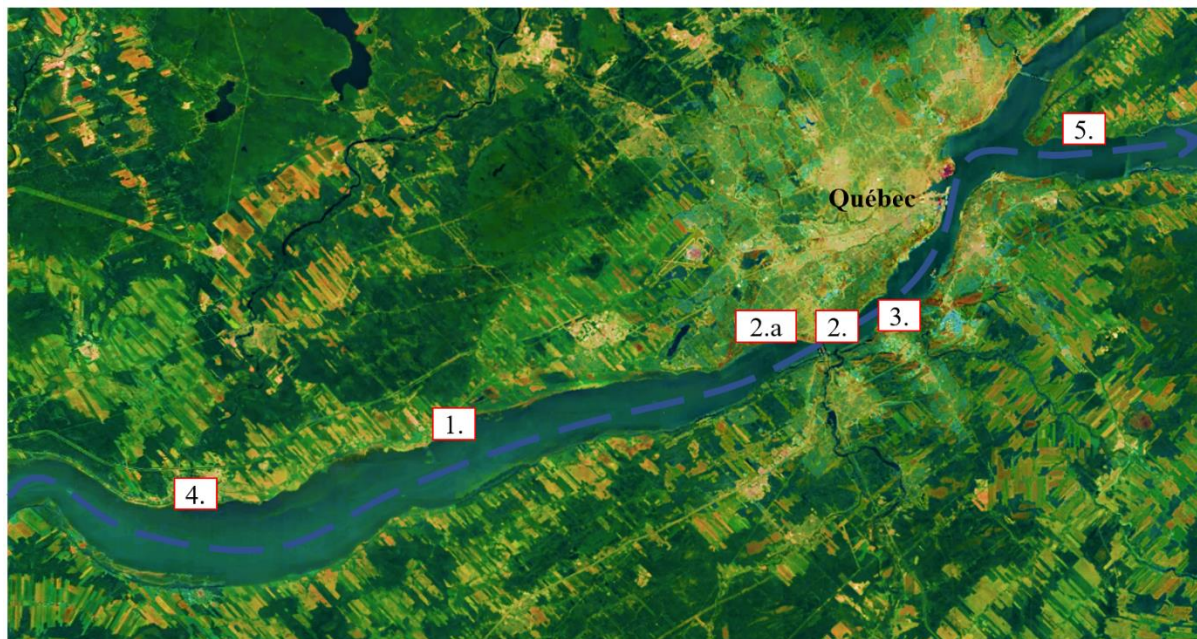
TNT - 2,4,6-trinitrotoluen

RDX - 1,3,5-trinitro-1,3,5-triazinan

HMX- 1,3,5,7-tetranitro-1,3,5,7-tetrazokan

POPIS PRILOGA

Prilog 1.



Slika 21. Satelitski snimak lokacija uzorkovanja iz studije Rogersa K. M. i Savarda M. M.(1999) [88]

Prilog 2.



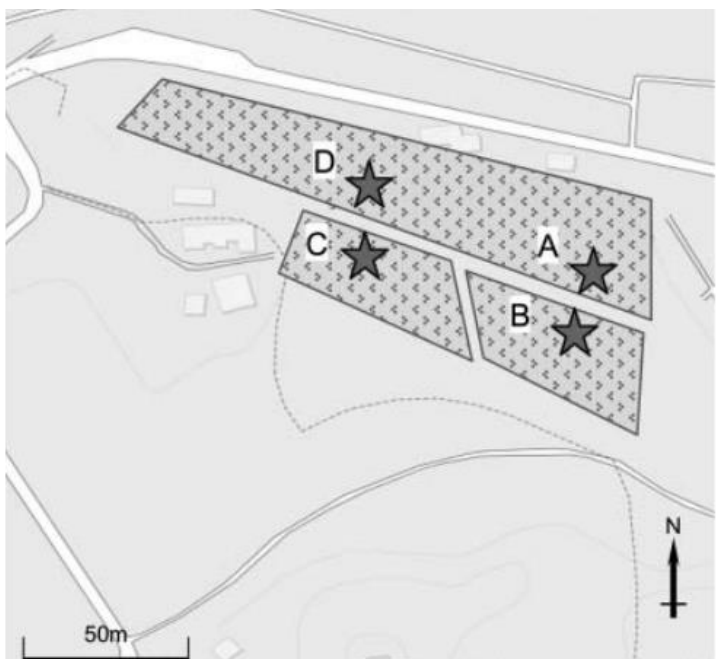
Slika 22. Satelitski snimak lokacija iz studije Orfana S. Stasha i suradnika (2009) [102]

Prilog 3.



Slika 23. Satelitski snimak lokacija iz studije Tomoakia Okuda i suradnika (2002) [97]

Prilog 4.



Slika 24. Slijepa karta lokacija iz studije Kawashime i Katayame (2010) [105]