

Doktorska disertacija

By: Drazana Radonjic

As of: Feb 25, 2022 3:39:20 AM
40,112 words - 189 matches - 62 sources

Similarity Index

12%

Mode: Similarity Report ▼

paper text:

UNIVERZITET CRNE GORE PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET Dražana Radonjić DINAMIKA EMERGENTNIH SUPSTANCI U VODI (EmS) I ENDOKRINO-UZNEMIRAVAJUĆIH HEMIKALIJA (EDCs) U EKOSISTEMIMA RIJEKE MORAČE I SKADARSKOG JEZERA Doktorska disertacija Podgorica 2021 DYNAMICS OF EMERGING WATER SUBSTANCES (EmS) AND ENDOCRINE-DISRUPTING CHEMICALS (EDCs) IN RIVER MORACA AND SKADAR LAKE ECOSYSTEMS Doctoral Dissertation Podgorica 2021 Mentor: Dr Mira Petrović, Članovi komisije: 1. Prof. Dr. Slađana Krivokapić 2. Prof. Dr. Svetlana Perović 3. Prof. Dr. Danilo Mrdak 4. Prof. Dr. Nada Blagojević Datum odbrane: _____ Zahvalnica Najveću zahvalnost dugujem svojoj mentorki Profesorici Miri Petrović, koja je svih ovih godina bila stub i sigurnost, promoter ideja i pokrovitelj svih rezultata. Veliku zahvalnost dugujem uvažanim članovima komisije, koji su našli vremena za moj rad i sluha za ideje i pojmove koji ovaj rad promoviše. Ovaj rad posvećujem mojoj majci Miloratkici, a kroz nju i svim majkama koje se sav svoj život bore za svoju djecu. SKRAĆENICE: AMR Average Metabolic Response - Prosječan metaboločki odgovor cAMP Cyclic Adenosine Monophosphate- Ciklični adenosin monofosfat CDM Metabolic profile data Diverzitet metabolizma zajednice mikroorganizama CLPP - Community-level physiological profiling - Mikrobiološki profil fiziološke grupe mikroorganizama DT50

Half-lives (DT50) are used as measures of the stability and persistence of a chemical substance in the environment. Half-life (DT50) is defined as the time it takes for an amount of a compound to be reduced by half through degradation

21

-vrijeme poluraspada persistentnih hemijski supstanci u životnom okruženju. DDT Dihlorodifenildihloroetan EmS Emerging substances- Emergentne supstance EDCs Endocrine-Disrupting Chemicals-Endokrino uznemiravajuće hemikalije PhAC Pharmaceutical-Farmaceutici HQ Hazard quotient- rizik opterećenosti ekosistema OD Optical density- optička gustina MDK Maksimalno dozvoljene koncentracije MEC (maximum measured environmental concentration- maksimalno izmjerena enviromentalna koncentracija)NSAID-Nesteroidni antiinflamatorni lekovi NORMAN

Network of reference laboratories, research centres and related organisations for monitoring of emerging environmental substances

11

PCB Polihlorovani bifenili PNEC (predicted no effect concentration in water-predviđena koncentracija koja nema efekta) WHO Svetska zdravstvena organizacija (WL)

Watch List was established by the Commission Implementing Decision (EU) 2015/4951 in March 2015

43

. REZIME Prisustvo tragova emergentnih supstanci (EmS), kao što su PhACs farmaceutski spojevi, endo- krino uznemirajuće hemikalije (EDCs), (npr. prirodni i sintetički estrogene i njihovi

konjugati, bisphenol A, alkilfenoli), kao i jedinjenja za koje se sumnja da mogu da budu EmS (antimikrobna sredstva , benzotriazoli i

4

organofosforna protivzapaljiva sredstva) postalo je predmet posebnog interesovanja

u posljednjoj deceniji s obzirom na to da niske koncentracije ovih analita ranije nisu mogle biti detektovane. U postrojenjima za prečišćavanje otpadnih voda

4

mnogi farmaceu- tici (PhACs)

se ne uklanjaju efikasno, zbog čega dospevaju u prirodne vode

2

Zbog ograničenog znanja o koncentraciji, degradaciji i posledicama prisustva u životnoj sredini, tragovi PhACs u vodi još uvek nisu zakonski regulisani

2

. Ovom studijom, po prvi put u Crnoj Gori su opisani i objašnjeni pojmovi EmS i EDCs , izvr- šeno "skrining istraživanje" lokaliteta donjeg toka rijeke Morače i na nekim lokalitetima sliva Skadarskog jezera, utvrđene koncentracije EmS i EDCS u najznačajnijih šest predstavnika ribljeg fonda pomenutog sliva, po prvi put u Crnoj Gori izvedeno utvrđivanje prisustva PhACs i EDCs u uzorcima voda na lokalitetima Zlatica, Vukovci, Lijevi i Desni krak rijeke Morače, "Kraljeva glavica"- Vranjina i "Tanki rt"-Skadarsko jezero u toku perioda velikih voda-zima proljeće, i niskih voda- ljeto jesen u toku 2017- 2018. godine. Uporedo sa ovim rezultati praćene su i mikrobiološki parametri lokaliteta fiziološke grupe mikroorganizama, heterotrofne, oligotrofne, koliforme grupe bakterija i njihova identifikacija, izvršena je procjena fiziološkog profila mikrobioloških zajednica CLPP, izračunat prosječni metabolički odgovor AMR i diverzitet metabolizma zajednice mikro- organizama CMD. Izvršena je procjena ekološkog opterećenja sistema pomoću procjena rizika koji može nastati djelovanjem PhACs na organizme u vodi izračunavanjem HQ količnika štete. Na osnovu prvih „Skrining analiza“ površinskih voda rijeke Morače i Skadarskog jezera utvrđeno je prisustvo velikog broja organskih jedinjenja i to

528, od kojih je identifikovano 119. Ustano-
 novljeno je da se fenotipski mikroorganizmi mijenjaju, ali da je za te promjene
 potrebno vrijeme i generacijske promjene mikroorganizama. Od svih ispitanih EDCs i PhACs, čije smo prisustvo pokušali
 da utvrdimo u tkivima riba, jedino je utvrđena koncentracija Triclosan od $14,1 \pm 1,3 \text{ ng g}^{-1}$, i to samo mišićnom tkivu ribe
 Alburnus alburnus. U uzorcima voda zabilježeno prisustvo NSAID-Nesteroidnih antiinflamatornih lijekova, sa izuzetno
 niskim koncentracijama za koji je HQ- rizik opterećenosti ekosistema iznosi 0,01 te stoga ne postoji potencijalni
 ekološki rizik. ABSTRACT The presence of emergent substances (EmS), such as pharmaceuticals (PhACs), endocrine
 disrupting substances (EDCs) (e.g. natural and synthetic oestrogens and their conjugates, bisphenol A, alkyl phenols) as
 well as compounds that are suspected to be EmS (antimicrobial agents, benzotriazoles and organophosphorus flame
 retardants) became the interest of many in the past decade, because low concentration of these analytes could not
 have been detected before. In water purification plants, many pharmaceuticals (PhACs) are not eliminated properly, and
 therefore end up polluting natural waters. Because the knowledge about concentration, degradations and consequences
 they have on the environment is limited, PhACs presence is still not regulated by law. Based on the first "Screening
 analyses" of river Moraca and Skadar lake's surface waters, high number of present organic compounds has been
 assessed, and out of the 528 of them being present, 119 have been identified. Phenotypic organisms are changing, but
 for those changes to happen both time and generational alteration are needed. Presence of EDCs and PhACs has been
 researched in fish tissue. Triclosan in the concentration of $14,1 \pm 1,3 \text{ ng g}^{-1}$ has been detected in the muscle tissue of
 the fish Alburnus alburnus. In water samples, the presence of NSAID-non-steroidal anti-inflammatory drugs has been
 detected, but in concentrations so small, they do not present as potential ecological risk (HQ-risk of ecological overload
 was 0,01). Based on everything presented, we can conclude that river Moraca and Skadar lake remain "un-polluted"
 aquatic ecosystems, thanks to the dominant autotrophic microorganisms, as well as the presence of physiological
 group of microorganisms. SADRŽAJ Skraćenice 6

Rezime.....	7	Abstract.....	8
1. UVOD	8		
1.1 Voda kao prirodni resurs.....	11	1.2 Zagađivanje	12
voda.....	13	1.3 Putevi kojima EmS i EDCs dospevaju u vodene ekosisteme.....	15
Mikroorganizmi u vodenim ekosistemima.....	19	1.4	22
CILJ RADA.....	25	1.5 Biotički faktori	22
istraživanja.....	27	2. PREGLED LITERATURE.....	27
4. MATERIJAL I METODE.....	29	3.1 Pregled dosadašnjih	
4.1 Opis istraživanih lokacija.....	29	istraživanja.....	27
4.2. Klimatske karakteristike	30	4. MATERIJAL I METODE.....	29
4.3 Istraživano područje.....	30	4.1 Opis istraživanih lokacija.....	29
4.3.1 Pregled istraživanih		4.2. Klimatske karakteristike	30
lokaliteta.....	31	4.3 Istraživano područje.....	30
4.4 Uzorkovanje uzoraka na terenu.....	31	4.3.1 Pregled istraživanih	
4.6 Mikrobiološke analize.....	40	lokaliteta.....	31
4.7 Utvrđivanje bioloških parametara.....	41	4.4 Uzorkovanje uzoraka na terenu.....	31
4.8 Procjena rizika koji može nastati djelovanjem PhACs na organizme u		4.6 Mikrobiološke analize.....	40
vodi izračunavanjem HQ hazard quotient-količnika štete Sanchez-Bayo (2002).		4.7 Utvrđivanje bioloških parametara.....	41
		4.8 Procjena rizika koji može nastati djelovanjem PhACs na organizme u	
		vodi izračunavanjem HQ hazard quotient-količnika štete Sanchez-Bayo (2002).	

43	4	9	Statistička obrada podataka.....	44	5. REZULTATI
			46	5.1

Fizičko-hemijske karakteristike voda istraživanih lokaliteta.....	46	5.2. Mikrobiološki kvalitet vode istraživanih	
lokaliteta (u odnosu na ekološke parametre).....	50	lokaliteta (u odnosu na ekološke parametre).....	50
5.3 Mikrobiološki kvalitet vode istraživanih lokaliteta i statistička		5.3 Mikrobiološki kvalitet vode istraživanih lokaliteta i statistička	
obrada podataka mikrobiološkog kvaliteta vode istraživanih lokacija u odnosu nasanitarni aspekt.....	59	obrada podataka mikrobiološkog kvaliteta vode istraživanih lokacija u odnosu nasanitarni aspekt.....	59
5.4 Fenotipske karakteristike mikroorganizama u toku 2016-2018. godine.....	68	5.4 Fenotipske karakteristike mikroorganizama u toku 2016-2018. godine.....	68
5.5 ezultati „Skrining“		5.5 ezultati „Skrining“	

ispitivanja za EmS tokom 2013-2014. godine.....	73	5.6 Rezultati analize koncentracije EDCs i PhACs u tkivu riba.....	78	5.7 Rezultati analize koncentracije PhACs u uzorcima voda istraživanih lokaliteta tokom 2017-2018.godine.....	80	5.8 Rezultati HQ	85	6. DISKUSIJA.....	88	7.
ZAKLJUČCI.....	103	Preporuke:.....	106							
LITERATURA.....	107	UVOD 1. UVOD Procijenjeno								

je da se samo na godišnjem nivou proizvede od 200 do 1000 novih hemijskih sup- stanci (**Connell** et al., **2009** , Marković 2015). **Tehnologija sinteze, kao i** primjena **različitih supstanci napreduju i sve je veći broj ksenobiotika**

3

, nazvanih "Emergentne supstance" (EmS) i "Endokrino-uznemiravajuće hemikalije" (EDC), prisutan u vodenim ekosistemima. Osnova paradigme "Emergentnih supstanci" i "Endokrino-uznemirajućih hemikalija" u vodi, utemeljena sa naučnim objašnjenjima za načinjene teorijske i metodološke parametre, po prvi put je prikazana u Crnoj Gori u okviru ove Disertacije i ona na njoj počiva. Uvođenjem novih termina, prezentovanjem rezultata istraživanja ove Disertacije savremena istraživanja u Crnoj Gori, u

oblasti analitike "zagađujućih supstanci" **u životnoj sredini** su **proširena, sa tradicionalnih zagađujućih supstanci, kao što su polihlorovani bifenili, policiklični aromatični ugljovodonici i pesticidi, na**

2

"novozagađujuće supstance" EmS i EDCs. Disertacija je dijeljena na dio koji se bavi "Skrining" istraživanjem EmS i EDCs, mikrobioloških parametara i koncentracije EmS i EDCs u tkivima nekih riba u ekosistemima rijeke Morače i Skadarskog jezera i dio disertacije koji sezonski utvrđuje dinamiku EmS, kao i mikrobioloških parametara radi procjena rizika koji može nastati djelovanjem EmS i EDCs na organizme u vodi rijeke Morače i Skadarskog jezera. EmS su sve prisutne, pseudo perzistentne, biološki aktivne hemikalije, polutanti. Rezultat su prirodnih, industrijskih i ljudskih aktivnosti, nalaze se u industrijskim otpadnim vodama, farmaceutskim, bolničkim, komunalnim, poljoprivrednim otpadnim vodama, a trenutno samo nekoliko PhACs (antibiotici i hormoni nalaze se na Watch list), što znači da se moraju pratiti u vodama, međutim, ostale PhACs nisu uključene u rutinski monitoring na nivou Evropske Unije.

EDCs su definisane od strane Društva endokrinologa (endocrine.org), najveće međunarodne grupe naučnika i lekara koji rade u oblasti endokrinologije, kao: "egzogene [ne-prirodne] hemikalije ili miješavine hemikalija, koje utiču na delovanje prirodnih hormona". Postoji preko 85.000 proizvedenih hemikalija, od kojih hiljade mogu da budu EDCs. (Endocrine Society and IPEN, 2014

7

). Kombinovani efekat izloženosti mnogim EDCs može biti kumulativan ili može da uveže djelovanje više različitih efekata u jedan, što znači

da izlaganje nekolicini različitih hemikalija u malim dozama- koje same po sebi ne mogu da izazovu neželjene efekte -može

7

da stvori neželjene efekte usled kumulativne izloženosti. Zbog toga, ovaj "izmiješani efekat niskih doza" nastao hemijskim smjesama od različitih niskih doza hemikalija, u našim tijelima

može povećati efekte izloženosti EDCs u niskim dozama. Na primer, postoje značajni dokazi koji povezuju rak dojke sa zagađenom životnom sredinom i hemikalijama koje se koriste u svakodnevnim proizvodima ili na radnom

7

mestu. U tu grupu prvenstveno ubrajamo industrijske hemikalije, pesticide, boje, hlorisane rastvarače,

nus-proizvodi procesa dezinfekcije pijaće vode , farmaceutske proizvode i hormone. EDCs uključuju hemikalije kao što su: parabeni i ftalati, dioksine, furane, fenole i alkilfenole, poliaromate ugljovodonika (PAH), stirene, metale i fitoestrogene, kojima smo izloženi svakodnevno u našoj hrani i vazduhu (u otvorenom i zatvorenom prostoru). Imena ovih hemikalija mogu malo značiti potrošačima, ali ih oni ipak nesvjesno unose u svoja

7

tijela. Prema

<http://www.alhem.rs/wp-content/uploads/2015/12/gender-srpski.pdf>

56

do 280 sintetičkih hemikalija je otkriveno u krvi pupčane vrpce i čak 300 u tkivu ljudske masti. U laboratorijskim testovima je identifikovano 250 hemikalija koje oponašaju estrogen ili ometaju njegov rad (Ca- terbow A., 2014

7

). Upoznavanje naučne javnosti sa pojmovima EmS i EDCs dobijanje informacija o njihovoj rasprostranjenosti u rijeci Morači i Skadarskom jezeru, u odnosu na poznate izvore zagađenja kao što su otpadne vode Podgorice, prateći hidrološke uslove dobijeni su i ostvareni preduslovi kojima je moguće usaglašavanje legistive Crne Gore sa legistivom Evropske Unije. 1.1 Voda kao prirodni resurs Voda je veoma rasprostranjena životna sredina u kojoj je razvijen veoma bujan i raznolik živi svijet, koji se prilagodio uslovima sredine. Biljke i životinje nalaze se u tečnom medijumu sa kojim su u kontaktu preko cijele površine tijela (Radonjić i Krivokapić, 2006). Vodeni ekosistemi uspješno se razvijaju ako postoje povoljni abiotički uslovi: dovoljno svjetlosti, povoljna temperatura i dr. Svjetska komisija za vodu procjenjuje da na plavoj

planeti imamo oko 1,4x10⁹ km³ vode i da od te količine na slatku vodu otpada 2,5%. Međutim, procenat dostupne slatke vode (atmosferske, podzemne i površinske vode) iznosi samo 0,26%, što približno iznosi 3,64x10⁶ km³. Vodeni resursi u svijetu imaju neravnomjeran raspored, a samo 22% čovječanstva ima privilegiju korišćenja vode iz brdskoplaninskih izvora (Đukanović, 1991; Radonjić, 2003). Iz ovoga proizilazi potreba zaštite voda. Očuvanje, održavanje i unapređenje zdravlja svakog pojedinca i ljudske populacije u direktnoj je zavisnosti od kvaliteta vode za piće i njene higijenske ispravnosti (Radonjić, 2007) Svjetska zdravstvena organizacija (WHO) je u 12 osnovnih pokazatelja zdravstvenog stanja stanovništva jedne zemlje svrstala i kvalitet vode za piće. Stoga je neophodno

razviti bolji sistem upravljanja resursima da bi se ublažio negativni uticaj čovjeka na životnu sredinu. U tom smislu treba integrisati nauku, političku akciju i reakciju javnosti u logičan okvir rada

23

. Što znači u stvari, bi te aktivnosti pokazale rezultate, neophodno je sistem upravljanja neprekidno snabdijevati odgovarajućim

tačnim informacijama o stanju životne sredine, koja je pod konstantnim pritiskom

23

promjena izazvanih prirodnim putem ili djelovanjem ljudske populacije (Dalmacija, 2001).

Konferencija Ujedinjenih Nacija o životnoj sredini i razvoju održana u Rio de Ženeiru (1992. godine)

53

) deklarirala je principe o životnoj sredini i razvoju, popularno nazvana "Agenda 21", kojima su određeni pravci i ciljevi, koji se odnose na uspostavljanje novog i pravednog globalnog partnerstva, putem stvaranja novih nivoa saradnje među državama sa novim jedinstvenim pogledom na zaštitu životne sredine. U skadu s tim jasno se mora ostvariti skladna međusobna zavisnost između ekonomskog razvoja i zaštite životne sredine, s druge strane, upravo radi efikasne zaštite životne sredine. Jedan od najznačajnijih zakonskih instrumenata jeste Okvirna direktiva EU o vodama (2000/60/EC).

Okvirna direktiva ima za cilj da zaštiti fizički i biološki integritet akvatičnih ekosistema

52

, a time i osnovne čovjekove resurse za kvalitetno vodosnabdijevanje, iz čega proizilazi da je zaštita životne sredine osnovni cilj Okvirne direktive. U

savremenim uslovima urbanog načina života, industrijalizacije, demografske eksplozije, moderne poljoprivrede i poljoprivredne tehnologije dolazi do korišćenja sve većih količina vode

14

. Pod devizom "voda sve nosi" svakodnevno se ogromna količina otpadaka izbacuje u rijeke, jezera i mora. Rijeke su danas postale kolektori svih urbanih i industrijskih otpadnih voda. "

Lakoća "odstranjivanja otpadaka na ovaj način dovela je do toga da su neke rijeke u svojim donjim tokovima pretvorene u mrtvaje, a da je korišćenje vode sve skuplje zbog visoke cijene prečišćavanja. Voda je neiscrpan resurs, ali uvek treba imati na umu da za preživljavanje i opstanak nije potrebna samo velika količina vode, nego je neophodno da kvalitet te vode bude takav da ona može da se koristi. Ako se zna da su rezerve pitke vode u prirodi ograničene

14

problem zagađivanja voda i snabdevanja slatkom vodom postaje još ozbiljniji, jer voda može da postane i limitirajući faktor daljeg opstanka i razvoja ljudske civilizacije

14

. 1.2 Zagađivanje voda Tehnološki i socijalni razvoj je itekako postavio čovjeka na mjesto jednog od najmoćnijih ekoloških faktora, koji interveniše u svim osnovnim procesima u okviru hidrosfere i biosfere u cjelini. Evropa je samo jedan od primjera promjena, koje je čovjek izazvao u svom okruženju. Intenzivna urbanizacija, industrijalizacija i razvoj poljoprivrede, uslovljavaju sve veću potrebu za vodom i rezultiraju zagađenjem površinskih i podzemnih voda, što predstavlja jedan od najaktuelnijih problema savremenog svijeta i faktor ograničavanja razvoja gradova, pa i čitavih regiona. Čovjek, svojom djelatnošću, utiče na promjene životnih uslova u vodenim biotopima i zagađuje ih otpadom iz industrijskih postrojenja i ljudskih naselja (Stilinović 1985; Stanković et al., 1995; Stanković i Knežević-Vukčević, 1996; Nikolić et al., 1996; Stanković, 1998; Radonjić, 2007). U takvim vodama, po pravilu, uslovi života se pogoršavaju za živi svijet. Veliki broj hemikalija izaziva

ogroman pritisak na životnu sredinu, javno zdravlje i naravno biosferu (Miloradov et al., 2012)

4

). Otpadne vode utiču na opšte hemijske uslove života u recipijentu, jer povlače za sobom smanjenje indeksa saturacije kiseonikom u vodi i obogaćivanje mulja njihovim recidivima ili pak produktima nepotpune biodegradacije (uz stvaranje vodoniksulfida, amonijaka i metana), a pored toga, suspendovanim česticama organskog ili neorganskog porijekla, zamućuju vodu (Radonjić, 2007). Toksikanti drastično narušavaju prirodnu ravnotežu u akvatičnim ekosistemima i remete (zaustavljaju ili usporavaju) procese samoprečišćavanja. Zbog veoma izraženih problema rezervi čiste sirove vode za piće, u posljednje vrijeme sve više se kao izvorišta koriste površinske vode, čiji je kvalitet potrebno poboljšanje (Stilinović, 1985; Stanković, 1998; Radonjić, 2007). EmS i EDCs nisu nužno nove hemikalije. To su supstance koje su često dugo prisutne u okolini, ali o čijoj se prisutnosti i značaju tek sada govori.

NORMAN (Network of reference laboratories, research centres and related organisations for monitoring of emerging environmental substances

41

) identifikovali su "LIST OF EMERGING SUBSTANCES". Sistematizovano su pristupili kvalifikaciji i uređivanju liste o najčešće diskutovanim EmS, a prema <https://www.norman-network.net/?q=no-de/19> zadnji put korigovani podaci za ovu listu bili su u februaru 2016. Prema NORMAN-u otvorena je dinamična lista-23 kategorije/klase EmS sa preko 300 subklasa EmS i 750 Em supstanci. Najvažnije kategorije su: toksini alga, sredstva protiv stvaranja pjene, antioksidanti, sredstva protiv obrušavanja, bioteroristička sredstva, deterdženti sredstva za dezinfekciju (vode za piće), plastifikanti, sredstva za ličnu higijenu, pesticidi, farmaceutici i drugi. EmS i EDCs, neki naučnici nazivaju i "ksenobioticima" a u to ubrajaju:

sredstva za ličnu higijenu, pesticide , farmaceutike, kozmetičke proizvode, usporivače gorenja, hormonski aktivne supstance, dijetetske proizvode, industrijske hemikalije i sva ostala jedinjenja koja nisu prirodno prisutna u životnoj sredini, već je njihovo prisustvo posledica ljudskih aktivnosti

11

Pod terminom "organski ksenobiotici" smatraju se organske zagađujuće supstance koje nisu prirodno prisutne u organizmu ili životnoj sredini . Riječ potiče od grčkih reči xenos-stran i bios-život. Drugi izrazi koji se mogu naći u literaturi su : "organski mikropolutanti", "sintetske organske hemikalije" ili pak, u novije vreme , "emergentni polutanti". "Emergentni polutanti" prema NORMAN-u (<http://www.norman-network>

11

net) su polutanti koji trenutno nisu obuhvaćeni rutinskim monitoring programima na evropskom nivou, a koji su potencijalni kandidati za buduće regulative u oblasti voda, u zavisnosti od njihove ekotoksičnosti, odnosno ponašanja u životnoj sredini

11

(Tabela NORMAN; Prilog 1.)

EmS, predstavljaju grupu sintetizovanih ili prirodnih jedinjenja-molekula, supstanci koje su početkom 21 . vijeka prepoznate kao potencijalno hazardne . Mogu se posmatrati i

40

kao sve pri- sutne, pseudo perzistentne, biološki aktivne hemikalije, polutanti, nastali kao rezultat prirodnih, undustrijskih i ljudskih aktivnosti. EmS se još nazivaju i "trace" supstance, zbog izuzetno niskih koncentracija koje se kreću od µg/L pa na niže, što ovu vrstu polutanata izdvaja od konvencionalnih zagađujućih supstanci. Moderna istraživanja pokazuju da dugotrajna upotreba i izloženost niskim dozama EmS ili dugotrajno konzumiranje ovih jedinjenja ima različite i često veoma ozbiljne negativne efekte na većinu živih organizama, pa i čoveka, pri koncentracijama od samo par µg/L. Veoma je teško predvideti i izolovati toksične efekte koje EmS imaju na zdravlje čoveka. Prirodno hormoni oslobođeni iz žlijezda sa unutrašnjim lučenjem regulišu tjelesne funkcije kao što su npr. metabolizam, seksualni razvoj. Hormonski sistem je povezan sa nervnim i imunološkim sistemom, njihova koncentracija u tjelesnim tečnostim kojom oni vrše svoju funkciju je izuzetno niska i kreće se od mikrograma po litru pa na niže. Upravo niske koncentracije prirodnih hor- mona i niske doze djelovanja lako su podržane od strane EDCs, čije koncentracije

pikomolarnog i nanomolarnog ranga, mimikrujući prave hormone, imitiraju njihove funkcije i cikluse 15

. Prisustvo tragova emergentnih supstanci u nastavku EmS kao što su farmaceutici, endokrino uznemirajuće supstance u daljem tekstu EDCs kao (npr. prirodni i sintetički estrogene i njihovi konjugati,

bisphenol A, alkilfenoli), kao i jedinjenja za koje se sumnja da mogu biti , (antimi- krobna **sredstva** , benzotriazoli i

organofosforna zapaljiva sredstva) postalo je predmet posebnog interesovanja u

posljednoj deceniji s obzirom na to da niske koncentracije **ovih analita ranije nisu mogle biti** **detektovane. U postrojenjima za** prečišćavanje **otpadnih voda mnoge EmS se ne uklanjaju** efikasno, **zbog** čega **dospijevaju u** prirodne **vode** . Veliki **broj** hemikalija izaziva **ogroman pritisak na životnu sredinu, javno zdravlje i naravno biosferu** (Miloradov **et al., 2012**). **EmS i EDCs u** životnu sredinu **dospijevaju** najčešće **kao posljedica intenzivnog i konstantnog** korišćenja **u** **humanoj medicini i veterini i kroz proizvode za** ličnu **higijenu. Glavni** izvori zagađenja površinskih **i** **podzemnih voda EmS i EDCs su gradske i poljoprivredne otpadne vode, odnosno** domaćinstva, bolnice **i** **poljoprivredna zemljišta** (Halling- **Sørensen et al . 1998; Robinson et al. 2007**

). WHO je objavila nekoliko publikacija, koje su rađene u saradnji s UNEP-om i ključnim naučnim stručnjacima i donijela je "Rezoluciju o uključivanju EDCs kao novog pitanja" u okviru Stra- teškog pristupa u međunarodnom upravljanju hemikalijama (SAICM). Rezolucija je usvojena u septembru 2012. godine na trećoj Međunarodnoj konferenciji o upravljanju hemikalijama (ICCM3) u Najrobiju. 1.3 Putevi kojima EmS i EDCs dospevaju u vodene ekosisteme Od 23 prikazanih kategorija EmS (Tabela NORMAN; Prilog 1.) teza se bavi farmaceuticima. Najznačajniji

put kojim lijekovi dopijevaju u životnu sredinu su komunalne otpadne vode. Nakon konzumiranja, u ljudskom organizmu lijek podliježe nizu metaboličkih reakcija, pri čemu nastaju metaboliti koji su često polarniji od polaznog jedinjenja. Zbog toga su rastvorljiviji u vodi, a u nekim slučajevima i toksičniji od polazne supstance (Petrović et al., 2005). Ljekovi se izlučuju djelimično transformisani, pri čemu se

4

jedan procenat lijeka izluči u neizmijenjenom obliku, taj procenat je za svaki lijek specifičan (Hirsch et al. 1999; Heberer 2002). Na Slici 1.3.1 prikazani su putevi kojim je moguće opisati kretanje EmS preko ispustanja opadnih voda direktno u recipijent, njihove transformacije, moguće depozicije i akumulacije ili biokoncentracije. Slika 1.3.1 Putevi EmS kroz životno okruženje <http://ambassadors-env.com/wp-content/uploads/EMERGENTNE-SUPSTANCE.pdf> Domaćinstva na kojima se vrši uzgoj ili tretman stoke i živine važni su izvori kontaminacije površinskih voda, prvenstveno antibioticima, koji se koriste za liječenje

infekcija i preventivno, ali i kao dodatak hrani radi pospiješivanja rasta životinja (Hirsch et al. 1999). Upotrebom stajskog đubriva, antibiotici se dalje mogu prenijeti na poljoprivredno zemljište, a ispiranjem zemljišta i u podzemne vode (Hartig et al. 1999; Heberer 2002). Ispitivanje prisustva bakterija u komunalnim otpadnim vodama je pokazalo da se više od 95% bakterija ukloni tokom procesa prečišćavanja, ali da većina preostalih bakterija ispoljava rezistentnost na ostatke antibiotika u vodi (Radtke & Gist 1989; Malik & Ahmad 1994). Ispitivana je kontaminacija rijeka i jezera koliformnim bakterijama utvrđeno je da i ako je količina bakterija mnogo manja nego u otpadnim vodama, izolovani sojevi pokazuju gotovo identičnu rezistentnost kao sojevi iz otpadnih voda (Alvero 1987; Al-Ghazali et al. 1988; Campeau et al. 1996). Poznato je, na primjer, da se u bolnicama često javljaju infekcije izazvane

4

Klebsiellae sojem bakterija. Istraživanja

su pokazala da je 90% soja otporno na antibiotik ampicilin, a da 6% soja ispoljava višestruku rezistentnost (Hirsch et al. 1999). Odlaganjem lijekova kojima je prošao rok upotrebe na nekontrolisane deponije može doći do zagađenja podzemnih voda usljed spiranja ovakvog zemljišta (Jørgensen & Halling-Sørensen 2000). Jasno je prepoznat veliki problem koji EmS izazivaju na vodeni ekosistem naročito što se njihovo uklanjanje u procesu prečišćavanja odvija izuzetno slabo, a zavisi od mnogih faktora, kao što su npr. priroda aktivne supstance lijeka, sastav otpadnih voda, tehnologija prerade otpadnih voda, tip i vrijeme korišćenja aktivnog mulja, temperatura, i dr. (Carballa et al. 2004; Roberts & Thomas 2006

4

).

Zbog velike rastvorljivosti u vodi, polarnosti i otpornosti na degradaciju, ove supstance se teško 2
apsorbiraju i lako prolaze kroz procese prečišćavanja, ali i procese prirodne filtracije, dospjevaju
do podzemnih voda i vode za piće (Buser et al. 1998; Ternes et al. 2002a). U procesu biodegradacije, koji je
svakako efikasniji od procesa taloženja, ukloni se manje od 10% karbamazepina i trimetoprima (Clara et al.
2004) dok je efikasnost biodegradacije diklofenaka, 10-39% (Hernando et al. 2006

).

Na slici 1.3.2. prikazani su mogući izvori zagađenja i putevi kojima lekovi dospevaju u 2
površinske i podzemne vode

. Slika 1.3.2.

izvori zagađenja i putevi kojima mikropolutanti dospevaju u površinske i podzemne vode 2

<https://www.google.com/search?q=pathway+of+emergent+supstances>

Poznato je, na primer, da je procenat uklanjanja kiselih jedinjenja, kao npr. diklofenak, ibuprofen i 2
acetilsalicilna kiselina, prilično nizak (Petrović et al. 2003

).

Ove karakteristike zabilježene su i za identifikaciju koncentracija antiinflamatornih lijekova i 4
regulatora masti u vodi, zbog

učestalosti njihovog korišćenja (Petrović et al. 2005). Kao dinamična i funkcionalna struktura na ekosistem se lako utiče
aktivnošću čoveka i/ili prirode, naruši homeostazu sistema, unosom EmS i EDCs, posljedice mogu biti ispoljens

na različitim nivoima organizacije (molekul, ćelija, jedinka, populacija, zajednica... itd). 3
Složenost ovog fenomena iziskuje holistički pristup, jer ima više mogućih načina interakcije
zagađujućih supstanci i ekosistema

, što znači da postoje različite tehnike kojima možemo posmatrati prisustvo organskih ksenobiotika u životnoj sredini na različitim "nivoima organizacije" (Landis & Yu, 1995; Marković, 2015). Slika 1.2.3 Interakcija zagađujućih supstanci i različitim nivoa organizacije (Landis & Yu, 1995) Kada EmS i EDCs dopiju u životnu sredinu, bivaju usvojene na nivou jedinki, pokreću se različiti biohemijski i fiziološki procesi i interakcije, pa se mogu biti očekivane subletalne ili letalne posljedice. To pokreće promjene na populacionom nivou, što prouzrokuje promjene u karakteristikama ali i dinamici odnosa u strukturi zajednice, što na kraju produkuje promjenu u kruženju nutrijenata i energije, odnosno u efikasnosti ekosistema (Marković, 2015). Bez obzira što su mnoge EmS nativne (teški metali, mikotoksini, alkaloidi, radionuklidi...), njihova količina i diverzitet se antropološkim aktivnostima povećava, samim tim proizvodnja, korišćenje i odlaganje EmS (komunalni, industrijski, poljoprivredni otpad, hemijski akcidenti, farmaceutski metaboliti...itd.) (Marković, 2015). Sve zagađujuće supstance imaju svoj životni vijek i put, što znači da podležu fizičko-hemijskim procesima promjene, ali ujedno postaju i dio biološkog matriksa (mikroorganizmi) što može dovesti do "ravnotežnog" stanja. Svrstavanje EmS kroz različite medije životne sredine zavisi prvenstveno od fizičko-hemijskih osobina (molekulska struktura, molekulska masa, rastvorljivost u vodi, napon pare, veličina čestice...itd.), raspodjela zavisi i od procesa transporta u vodenoj sredini (disperzije, sedimentacije, difuzije,

protoka i stepena miješanja **vode, brzine sedimentacije čestica temperature, pH vrednosti,**
količine suspendovane materije, prirode sedimenta , kao i

3

mi-krobioloških (aerobna biodegradacija i anaerobna biodegradacija) zajednica i sadržaja nutrijenata.

Prisustvo organskih ksenobiotika u hidrološkom ciklusu je dobro poznata činjenica (Bester et al., 2008), međutim

11

što se dešava sa njima u vodenim ekosistemima, kakve efekte izazivaju, kao i uklanjanje iz vodenih ekosistema, duži niz godina izuzetno je interesantno polje

istraživanja. Prisustvo organskih zagađujućih supstanci u akvatičnoj sredini predstavlja jedan od najvećih izazova za održivo upravljanje vodama, naročito u sušnim regionima, gde se nameće potreba ponovne upotrebe vode

11

Problemi vezani za prisustvo EmS i EDCs **u životnoj sredini uključuju poremećaje fizioloških procesa i reproduktivne funkcije organizama**

2

povećanje toksičnosti nekih farmaceutski aktivnih supstanci (Kolpin et al., 2002

2

). Prisustvo hormona, ili supstanci, koje mogu podržati njihovu funkciju,

u vodenoj sredini izaziva ozbiljne posljedice **kod raznih vodenih organizama. Uočene su** promjene **u razvoju i reproduktivnim funkcijama riba i vodozemaca, kao što su smanjenje plodnosti i feminizacija mužjaka, pri koncentracijama od nekoliko** $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ (Jørgensen & Halling-Sørensen 2000

2

).

Podaci o transportu kroz procese prečišćavanja i konačnoj degradaciji lijekova **u životnoj sredini** su prilično ograničeni. Razlog je činjenica da je ranije postojalo svega nekoliko analitičkih metoda koje su, sa ograničenom sigurnošću, mogle da detektuju niske koncentracije lijekova u vodi (Jørgensen & Halling-Sørensen 2000

2

). Kombinacija bioloških tehnika i hemijskih analiza postala

je globalno prepoznatljiva i jasno se ističe (**Céspedes** et al ., 2005) **u** determinaciji **EDCs u uzorcima** površinskih **voda**

4

. Upravo

je utvrđivanje fizioloških **grupa mikroorganizama (proteolitskim** , amilolitskih **i** lipolit- skih) **u vodi dobar pravac, uz to i** objašnjenje **mnogobrojnim jedinjenjima koji su** istraživanjima **kvantitativno detektovani**

4

. Analizom i interpretacijom mikrobioloških

zajednica mogu se optimalno odrediti nivoi fizioloških profila **na određenim lokacijama** (Radonjić, 2016). **Identifikaciju i** klasifikaciju **bakterija do**

4

nivoa vrste, iz različitih

vodenih ekosistema (rijeke, jezera, mora, otpadne vode), vršimo koristeći **se fenotipskim** ili **genotipskim identifikacionim tehnikama. Fenotipske modifikacije organizama nastaju interakcijama genotipa i faktora** spoljašnje sredine. **Fenotipske**

4

modifikacije mikrobioloških zajednica moguće

je dokazati Eco Plate Biolog softverom. To ih čini vrlo **korisnom** informaci- jom **u vezi sa promjenom životne sredine, uzrokovane** prisustvom **EmS u vodi** (Radonjić, **2016**). Kombinacija **metoda**

4

omogućava različita istraživanja na akvatičnim ekosistemima. 1.4 Mikroorganizmi u vodenim ekosistemima U prirodnoj

akvatičnoj sredini dešavaju se fizički, hemijski i biološki procesi, koji utiču na sa- držaj, **transformaciju i kretanje konstituenata u vodi**

15

(Đukić i Jemecov 2000; Radonjić, 2007). Ovo saznanje se može vezati za i sadržaj EmS i EDCs, koje dopijevaju u vodene sisteme i njihov uticaj na biotu u vodi. Transformacioni procesi u vodenoj sredini su: • biorazgradnja (biodegradacija), mikroorganizmi koriste polutante za svoju ishranu mijenjajući time njihove osobine; • fotoliza-apsorpcija sunčeve svjetlosti (energije) od strane polutanata, što dovodi do hemijskih reakcija, a iste do promjene stepena toksičnosti; • hidroliza-oksிடacija, koju čine reakcije organskih polutanata i metala, dovodeći do nastanka manjih prostih jedinjenja; • redukcija-oksிடacija, koju čine reakcije organskih polutanata i metala,

dovodi do otpuštanja ili **primanja elektrona, što utiče na njihove osobine i toksična svojstva**

15

. Mikroorganizmi bitno utiču na odvijanje mnogih biohemijskih procesa u vodama, naročito hemijskih, koji uključuju organske i neorganske materije i oksido-redukticione procese. Alge se smatraju primarnim proizvođačima biološke organske materije u vodi, za razliku od bakterija, koje se smatraju reducentima, koji "cijepaju" hemijska jedinjenja na prostija i iz toga koriste energiju i nutrijente za rast i razvoj. Pregled vode, posmatran sa aspekta sanitarne bakteriologije, koji se rutinski i svakodnevno vrši u gotovo svim laboratorijama za ocjenu higijensko-epidemiološkog stanja vode, često biva potpuno zasnovan na hidromikrobiologijom kao naukom (Radonjić 2007).

Površinske vode predstavljaju **vodene ekosisteme u kojima vladaju odnosi** interakcije **sredine i organizama, pa se** i **samo na osnovu njih može suditi o** stanju i **kvalitetu**

15

vode. Zato je pažnja biologa i mikrobiologa danas sve više usmjerena na mikroorganizme kao realan faktor razgradnje organskih materija u vodi, a time i sposobnosti autopurifikacije vode, što je i od osobitog značaja za očuvanje kvaliteta površinskih voda (Radonjić, 2007). Glavni pravci istraživanja površinskih voda s mikrobiološkog aspekta su:

- utvrđivanje kvantitativnog i kvalitativnog sastava bakterioplanktona u površinskim vodama u što svrstavamo: 1. istraživanje heterotrofih bakterija (saprofita) u vodi; 2. istraživanje fizioloških grupa mikroorganizama; 3. istraživanje bakterija indikatora fekalnog zagađenja voda; 4. dokazivanje prisustva patogenih bakterija u vodama. Istraživanje bakterioplanktona u vodama obuhvata izučavanje autohtonih i alohtonih bakterija različitih metaboličkih tipova, kao i povezivanje dobijenih rezultata s ekološkim uslovima sredine, posebno organskim opterećenjem alohtone prirode.

Najraširenija grupa bakterija po tipu metabolizma u prirodi su heterotrofi, odnosno grupa hemoorganotrofa (ili samo organotrofa). Naziv heterotrofija (grč. heteros-drugi i trophein-hraniti se) znači da ovi mikroorganizmi koriste materiju, koju je proizveo neki drugi organizam, a u mogućnosti su da metaboliziraju organsku materiju u aerobnim i anaerobnim uslovima (Petrović, 1998, Radonjić, 2007). Određivanje broja heterotrofnih bakterija u vodi jedna je od osnovnih preokupacija većine mikrobioloških laboratorija, koje se bave istraživanjima kvaliteta vode (Tumpling, 1969; Sladaček, 1973; Kohl, 1975; Stilinović 1979 b; Ishida et al., 1980; Gajin i sar., 1984; Radonjić, 2007). Heterotrofne bakterije indikatori su prisustva lako razgradivih materija u vodi, tj. dobrim dijelom, pokazatelj svježeg organskog opterećenja, pa je zato u postojećim sistemima za utvrđivanja kvaliteta vode broj grupe mikroorganizama u vodi uzet kao jedan od glavnih parametara (Tumpling, 1969; Sladaček, 1973; Kohl, 1975; Radonjić, 2007). Oligotrofne bakterije nasuprot tome naseljavaju sredine, sa vrlo niskim koncentracijama organskih materija, ali kao fakultativni organizmi oni se mogu nalaziti i u sredinama sa većim koncentracijama tih materija. Ovo je grupa bakterija, manje je zahtjevna u pogledu hranjivih materija (grč. oligos-mali, trophein-hraniti se). Kada ove vrste bakterija dominiraju u vodi, voda je malo ili gotovo uopšte neopterećena zagađenjem, odnosno, pripada oligotrofnom tipu vode i u tom ekosistemu procesi autopurifikacije su izraženi (Petrović, 1998; Radonjić, 2007). Jedan od najznačajnijih parametara, koji se određuje u vodi je Kohlov index (1975), koji je određen odnosom između broja fakultativnih oligotrofa i heterotrofa, i koji daje stanje kvaliteta vode sa šireg ekološkog aspekta. Odnos između fakultativnih oligotrofa i heterotrofa (index FO/H) predstavlja jedan od važnih parametara za procjenu stanja vode sa ekološkog aspekta (Đukić et. al., 1991, Radonjić, 2003, Radonjić, 2007), jer ukazuje na sposobnost samoprečišćavanja (Tabela 1.4.1)

Tabela 1.4.1 Prijedlog kategorizacije samoprečišćavanja voda u zavisnosti od indeksa FO/H (Kohl, 1975)

Vrijednost indeksa FO/H	Sposobnost samoprečišćavanja vode
< 1	Slaba
>1	Zadovoljavajuća
>10	Dobra

Voda je za mnoge mikroorganizme prirodno boravište, bilo one izvorske ili površinske (Stanković, 1998, Radonjić, 2007). Razne grupe mikroorganizama nalaze se u vodama, kao sastavni dio njene autohtone mikroflore, ali su mnoge, zbog nedostatka adekvatnih metoda, još nedovoljno istražene (Ishida et al., 1982; Lafteva, 1987; Simić, 1988). Posebnu grupu mikroorganizama u vodenim sredinama predstavljaju alohtoni mikroorganizmi, koji dospjevaju u vode iz različitih izvora (vazduha, zemlje, od biljaka, životinja i čovjeka) (Wright, 1978; Leschine & Canale-Parola, 1983; Spino, 1985, Radonjić, 2007). Kvalitativna i kvantitativna zastupljenost populacija mikroorganizama, odgovornih za pojedine faze transformacije materije, dobija sve veći značaj u okviru hidrobioloških proučavanja (OECD, 1982; Đukić et al., 1991; Gajin et al., 1993; Stanković, 1998, Radonjić, 2007). Rijeke i jezera, prema nizu zajedničkih osobina, predstavljaju specifične ekosisteme, a jedna od najznačajnijih osobina je upravo ta što im mikroorganizmi čine značajnu biološku komponentu. Međutim, kvalitativni i kvantitativni sastav mikroorganizama određuje niz abiotičkih i biotičkih faktora: temperatura, hranjivi sastojci, količina padavina, količina rastvorenih gasova, intenzitet svjetlosti, mikroflora okolnog zemljišta i razni zagađivači, kanalizacione i druge otpadne

vode. U rijekama i jezerima se razvija mikroflora, koja može biti specifična za istraživanu rijeku ili jezero, u kojima može duže ili kraće opstajati (Radonjić, 2007). Ekološka istraživanja populacija bakterija u vodama usmjerena na proučavanje autohtonih i alohtonih bakterijskih populacija različitih metaboličkih tipova, kao i na povezivanje dobijenih rezultata sa ekološkim uslovima sredine, posebno sa alohtonim organskim opterećenjem (Ri- stanović, 1973; Stilinović 1979 b; Gajin et al., 1984; Albright & Mc Crae, 1987; Radonjić, 2007). Ovakav pristup trebalo bi da omogući realniju procjenu kvaliteta vode, bolju prognozu stanja i adekvatniju zaštitu ispitivanih ekosistema. 1.5

Biotički faktori Biološka degradacija u vodenom stubu se odvija pod aerobnim i anaerobnim uslovima

3

, a pored kiseonika zavisi od supstrata, temperature, kao i dostupnosti nutrijenata.

Supstance koje ne pod- ležu promenama aktivnošću mikrobijalne zajednice, mogu biti perzistentne

3

. Stepen degradacije zavisi od: sternog efekata, gustina elektrona, redoks uslova ali i dostupnosti EmS i EDCs. Upravo je ovo i razlog što se na nivou fizioloških grupa mikroorganizama očekuju i prve transformacije nastale navedenim procesima. Dok sterna efekat ima uticaja

na transport supstance preko membrane stepen degradacije se po- većava sa aerobnošću, izuzetak su PCB supstance, koje se bolje degradiraju u anaerobnoj sredini

3

. Slatkovodni vodeni sistemi zbog obilnije organske materije imaju i raznovrsniju mikrobiološku zajednicu, što daje mogućnost potencijalo bolje razgradnje EmS i EDCs.

Temperatura utiče na sastav konzorcijuma pa samim tim i na sudbinu

3

EmS i EDCs, vrijednost pH neutralna vrijednost pH vodene sredine ima najviše upliva na degradaciju. Degradacijom organskih materija mikro- organizmi dolaze do ugljenika i/ili energije. Mogući izvor kiseonika za prokariote su alifatične supstance mada njihova razgranata struktura može umanjiti stepen ili brzinu degradacije. Molekule srednje molekulske veličine (u aerobnoj sredini) karakteriše najbolja razgradnja, ali ova karakteristika se smanjuje sa povećanjem molekularne

veličine, sa povećanjem molekulske mase, otežan je prekomembranski transport i sma- njena rastvorljivost, pa su **ove supstance manje biodostupne. Supstance manje molekulske mase imaju**

3

veću rastvorljivost , mogu biti usvojene **u većoj koncentraciji**

pa na taj način, jer ćelija ne prepoznaje i ne razumije toksikološke implikacije mogu biti "toksične". Značaj se naglašen na niske doze kojima EmS i EDCs

u koncentracijama pikomolarnog i nano- molarnog ranga, mimikrujući prave hormone imitiraju njihove funkcije i cikle 15

Zahvaljujući kiseoniku u svojoj strukturi jedinjenja kao alkoholi, aldehidi, ketoni i karboksilne kiseline će lako podleći degradaciji i u anaerobnoj sredini (Grossi et al., 2007) 3

). Za razgradnju alicikličnih jedinjenja često su potrebni aerobni uslovi, pa se degradiraju putem kometabolizma (

oksidacija supstance, koja se ne koristi za bakterijski rast (Nyholm et al., 1996) ili komensalizma (interspecijski odnos koji je pozitivan za komensala, a neutralan po drugu vr- stu) Stirling & Watkinson, (1977). Ovi interspecijski odnosi konzorcijuma doprinose potpunoj mineralizaciji, ali je brzina degradacije ograničena brojem alkil grupa . Ako se metabolizam ili 3

ekskrecija EmS odvija sporije od usvajanja dolazi do bioakumulacijaje (

škrge, dermalno, inhalacija ili ingestija) , što inicira, biotransformacije, detoksifikacije , aku- mulacije i ekskrecije (toksikokinetike) različitih supstanci između organizma i životne sredine (Landis, 1995 3

), može da se desi da

koncentracija neke supstance u organizmu prevazilazi nivo iste u životnoj sredini 3

. Na bioakumulaciju ima uticaja, temperatura, pH, metabolizam, starost i pol organizma, vrsta organizma, ponašanje, sezonski ciklus...itd. Endokrini sistem je u mogućnosti da funkcioniše na principu "niskih koncentracija" hormona koji omogućavaju hormonalno aktivnih supstanci da cirkulišu i koegzistiraju (Welshons et al., 2003). Hormoni se prenose cirkulacijom do ćelija u cijelom

tijelu a ponekada **i u** nervni sistem, **gdje se** vezuju **za receptore i započinju mnoge** reakcije

17

. Osnovna karakteristika hormona (polipeptidnih i proteinskih) jeste da se deponuju u sekretornim vezikulama dok se ne pojavi potreba za njima. Stimulacija receptora na površini endokrinih ćelija dovodi do povećanja koncentracije cikličnog adenzin monofosfata (cAMP) koji zatim aktivira protein-kinazu, čime započinje izlučivanje hormona. Za razliku od peptidnih hormona koji su rastvorljivi u vodi, što im omogućava da lako uđu u vaskularni sistem i budu prenešeni do ciljnih tkiva, steroidni hormoni se sintetiziraju iz holesterola i rastvorljivi su u lipidima. Ne skladište se.

Koncentracija hormona koja je potrebna za većinu metaboličkih i endokrinih funkcija je nevjerojatno **mala. Njihova koncentracija u krvi iznosi od samo 1 pikograma (10⁻¹² g) do najviše nekoliko mikrograma (10⁻⁶ g) po 1 ml krvi. Veličina izlučivanja različitih hormona je izuzetno mala i obično iznosi nekoliko miligrama ili mikrograma na dan**. Prvi korak **u**

17

djelovanju hormona jeste **njegovo** vezivanje **sa specifičnim receptorom u ciljnom tkivu**. Ćelije **koje nemaju receptore za hormone ne** reaguju **na njih. Receptori**

17

se mogu nalaziti u ćelijskoj membrani ciljnih ćelija ili u citoplazmi ili jedru. Svi hormoni djeluju na ciljno tkivo gradeći kompleks hormon-receptor, pri čemu se mijenja funkcija samog receptora pa tako aktivisan receptor izaziva hormonski efekat. Već decenijama poznato je da postoje endokrino uznemiravajuće hemikalije (EDCs) koje mogu da svojim izgledom ili funkcionisanjem da podržavaju prirodne hormone i mogu da loše utiču na organizme zahvaljujući efektima koji su poznati kao efekti niskih doza i nenmonocidni odgovori. Male doze su defisane od strane Nacionalno Toksikološkog programa kao doze koje se javljaju u rasponu veličina izloženosti organizma a koji je po redu veličine manji od poznatih doza koje se koriste u "tradicionalnoj toksikologiji", a za koje su poznati efekti (Vandenberg, et al., 2012) CILJ RADA 2. CILJ RADA U okviru ovoga rada postavljeni su sledeće ciljevi: • Sprovesti skrining istraživanje prisustva EmS u vodi radi identifikacije kvantitativnih podataka o perzistentnosti istih na istraživanim lokacijama. • Identifikovati fiziološke grupe mikroorganizama i odrediti njihov diverzitet utvrdivanjem kvantitativno i kvalitativno prisustvo mikroorganizama. • Odrediti uzročno-posljedične odnose između fizioloških grupa mikroorganizama i EmS i EDCs. Utvrditi sezonske razlike ispitivanih parametara. • Razviti bazu podataka koju čine podaci monitoringa fenotipske sličnosti između fizioloških zajednica mikroorganizama i uticaja kontaminenata na njihov fenotip. • Testirati bioakumulaciju EmS i EDCs u tkivima različitih vrsta riba. • Odrediti HQ index-rizika opterećenosti ekosistema. • Predložiti mjere zaštite. PREGLED LITERATURE 3. PREGLED LITERATURE 3.1 Pregled dosadašnjih istraživanja Na osnovu uvida u stručnu literaturu može se konstatovati da su rijeka Morača i Skadarsko jezero istraživani sa različitih aspekata (fizičko-hemijskih, bioloških). Međutim, ovi akvatični ekosistemi u pogledu ekološke mikrobiologije malo su izučavani. Postojeći podaci se uglavnom odnose na sanitarni aspekt i rađeni su uglavnom u sklopu programa od strane institucija kao na primjer Instituta za javno zdravlje za potrebe Ministarstva zdravlja ili Hidrometeorološkog zavoda za

potrebe Ministarstva ekologije i turizma. Ne postoje podaci da su istraživani akvatični ekosistemi proučavani sa aspekta EmS, EDCs ili farmaceutika u vodi. Radulović, V. (1989) i Radulović, M. (2000) detaljno su izvršili istraživanja površinskih voda (rijeke Morače, Skadarskog jezera i rijeke Bojane) i utvrdili njihove hidrogeološke karakteristike. Jedno od najznačajnijih i najobimnijih istraživanja Skadarskog jezera obavljeno je u periodu od 1972 do 1977 godine, u okviru projekta "Limnološka istraživanja Skadarskog jezera" iz kojeg je proizašla i publikovana monografija: The Biota And Limnology Of Lake Skadar, (1981). Podatke o hemijskim karakteristikama vode Skadarskog jezera, i to više lokaliteta (Ušće Morače, Vranjina, Rijeka Crnojevića i dr.) daju Petrović i Beeton (1981), navodeći da su hemijske karakteristike voda Skadarskog jezera, rezultat uliva voda iz glavnih pritoka, sublakustričkih izvora, kao i razmjene između sedimenata vode i ekstenzivnih poplava. Prilog analizi vode rijeke Morače na prisustvo koliformnih bakterija i bakterija fekalnog porijekla daje Radonjić (2003), navodeći da tokom šestomjesečnog istraživanja Morača na lokalitetu Per- nica, po Uredbi o klasifikaciji i kategorizaciji voda, pripada A1 klasi boniteta voda, dok nizvodno od kolektora pripada A3 klasi boniteta voda. Radonjić (2007) u toku jednogodišnjeg ispitivanja dala je značajan doprinos u utvrđivanju kvaliteta voda na pojedinim lokacijama rijeke Morače i Skadarskog jezera. U toku trogodišnjeg perioda (od 1992 do 1995) Institut za javno zdravlje Crne Gore istraživao je kvalitet vode Skadarskog jezera, uključujući stepen autopurifikacije po Kohlu i hlorofil a. U istraživanjima populacija bakterija i gljiva u Skadarskom jezeru Ristanović (1981) navodi da su mikroorganizmi u oksidoreduktivnim procesima najbrojniji i najaktivniji članovi vodenog ekosistema. Prema istom autoru, to je i osnovni razlog zbog koga je neophodno izučavanje fizi- oloških grupa mikroorganizama. MATERIJAL I METODE 4. MATERIJAL I METODE 4.1 Opis istraživanih lokacija Površinski tokovi Crne Gore pripadaju slivu Jadranskog i slivu Crnog mora. Od površinskih vodotoka Jadranskog sliva najznačajniji su: Morača sa svojim pritokama Zetom, Cijevnom, i Malom rijekom, Crnojevića rijeka, Biševina, Orahovačka rijeka, Crmnička rijeka, Grahovska i Nudolska rijeka (Radulović, 2000; Radonjić, 2007, 2018). Rijeka Morača nastaje na koti 975 m od više potoka, koji se slivaju ispod padina Javorja i Zebalaca, među kojima su najveći Javorski i Rzavski potok. Izvorišno područje izgrađuju sedimenti Dur- mitorskog fliša u kojima je rijeka duboko urezala svoje korito. Od spajanja Rzavskog i Javorskog potoka do mjesta Mioske Morača ima pravac toka od sjeverozapada prema jugoistoku, odakle skreće na jugozapad. Kad napusti flišni teren, od mjesta Andrijevo, Morača teče dalje kroz kar- stno područje kao rijeka probojnica, tj. pravac toka je skoro, upravan na pravac pružanja slojeva. Na ovom dijelu rijeka je, probijajući se kroz krečnjake usjekla svoj duboki, impozantni kanjon zvani Platije. Kod Zlatice Morača ulazi u Zetsku ravnicu kroz koju teče sve do ušća u Skadarsko jezero. S desne strane najveće su joj pritoke Požnja, Topli potok, Vrela, Zeta, Mareza i Sitnica. S lijeve strane njene najveće pritoke su: Slatina, Koštanica, Kruševački potok, Mala rijeka, Ribnica i Cijevna (Radulović 1989; Radonjić, 2007, 2018). U izuzetno sušnim godinama korito Morače je suvo od Manastira Duge do ušće Zete i od Botuna do uspora voda Skadarskog jezera (Radonjić 2003, 2007)

Skadarsko jezero nalazi se na krajnjem jugozapadnom dijelu Crne Gore . Napaja se vodom 15 iz prostornog sliva, površine 5 .490km², od čega je na teritoriji Crne Gore 4 .460km², a na teritoriji Albanije oko 1

.030km². Povremeno Skadarsko jezero dobija vodu i od rijeke Drima čiji je sliv oko 14.000km².

Najvažnije pritoke Skadarskog jezera su: Morača, Karatuna, Bazagurska matica, Crnojevića rijeka, Orahovštica i Crmnička rijeka. Značajne količine vode jezero dobija preko vodotoka, koji dreniraju zbijenu izdan Zetske ravnice . To su Mala Morača, Plavnica, Zetica, Gostiljska rijeka, Pjavnik, Mala Mrka, Velika Mrka i Rujela

18

. Osim navedenih rijeka,

sa karstnog dijela terena, na području od albanske granice do Malog blata dotiču mnogobrojni povremeni vodotoci , kao oni što su

42

u Murićima, Godinju, Komarnu, Podseljanima i Sinjcu. Skadarsko jezero vodom napajaju i brojni podvodni izdani-vrulje (Radulović, 1997). Skadarsko jezero se odlikuje nizom specifičnosti (Petrović, 2017). U Malom blatu postoje brojni podjezerski izvori ("oka"), među kojima su najznačajnije: Biotsko oko, Brodić, Bolje sestre, Crno oko, Bivo, Donja Krakala, Mala Šujica, Krstato oko, Bobovine i dr. Na području Karuča najznačajnija su Đurovo oko, Volač, Karuč, Gušeljevo, Njivice i dr. Skadarsko jezero otiče rijekom Bojanom čiji je srednji protok preko 320 m³/s. Današnje korito Skadarskog jezera je dinarskog pružanja. Njegovi najniži djelovi nalaze se ispod nivoa mora čineći kriptodepresiju.

Zapremina Skadarskog jezera varira od 1,76 km³, pri najnižem vodostaju, do 4,06 km

44

³ pri najvišem vodostaju. To je ujedno najveća vodena masa na teritoriji Crne Gore. 4.2. Klimatske karakteristike Klimatske karakteristike karstnih terena Crne Gore su složene, što je posljedica prije svega blizine mora, geografske širine, velike raščlanjenosti reljefa, nadmorske visine, prostornog položaja visokih planina, rijeka, jezera i vegetacije. Crna Gora je u pojasu koji predstavlja prelaz između subtropskog područja, visinskog pritiska i subpolarnih područja niskog vazdušnog pritiska. Iznad teritorije Crne Gore smenjuje se tropski vazduh, koji cirkuliše od pustinskih krajeva Afrike i polarna strujanja sa ciklonskom aktivnošću, koja donosi obilne padavine u hladnijem periodu godine (Radulović, 2000). Klima istraživanog područja je sredozemna i umjerena. Prema Statističkom godišnjaku Crne Gore iz 2017. godine središnja godišnja temperatura za opštinu Podgorica iznosi 18,740C sa središnjom sumom padavina od 257,05/m² godišnje. Maksimalne izmjerene temperature za opštinu Podgorica iznosile su 39,9°C. Uglavnom neuravnoteženi raspored atmosferskih padavina i duži periodi aridnosti uslovljavaju specifičnosti u klimatskim rezimima istraživanih lokacija, odnosno samih vodenih staništa. Godišnji ciklus od toplog, sušnog i niskovodostajnog perioda, zamjenjuje hladniji do hladni ciklus sa izražajnim obiljem atmosferskog taloga i visokog vodostaja. 4.3 Istraživano područje Analizirani su uzorci vode uzorkovani zahvatom iz rijeke Morače i Skadarskog jezera. Istraživanja su vršena u dvije etape. Prva "Skrining" analiza vršena je vršena na pet lokacija: Vukovci, "Lijevi krak rijeke Morače", "Desni krak rijeke Morače", "Kraljeva glavica"-Vranjina, "Tanki rt"-ispod mosta-Jezero, a drugi dio istraživanja na šest lokacija : Zlatica/Smokovac, iznad grada Podgorice, kao "nulta tačka"; Vukovci, "Lijevi krak rijeke Morače", "Desni krak rijeke Morače", "Kraljeva glavica"-Vranjina, "Tanki rt" ispod mosta-Jezero. Istraživanje je obavljeno u toku 2013-2018. godine. U

toku 2013.-2014. godine uzorci za analizu su uzimani jedanput u toku novembra 2013. godine i jedanput u toku septembra 2014. godine kako bi se izveo "skrining" istraživanih lokacija na prisustvo "ksenobiotika". Drugi dio eksperimenta izveden je mjesečno, u toku 2017. godine (januar, maj, jun, avgust, septembar, novembar i decembar) i januar 2018. godine. Prikazan je prolječno-ljetnji i jesenjo-zimski aspekt voda na istraživanim lokacijama na prisustvo EMs, upotunjene mikrobiološke analize opisane poglavljem 4.6. 4.3.1 Pregled istraživanih lokaliteta Zlatica 42° 46' 35" N; 19° 29' 36" E Vukovci 42° 20' 02" N; 19° 11' 60" E "Lijevi krak rijeke Morače" 42°25' 84" N; 19° 13' 46" E "Desni krak rijeke Morače"

42°27' 70" N; 19° 12' 32" E "Kraljeva glavica" "Vranjina 42°27' 57" N; 19° 12' 15" E "Tanki rt" " - ispod mosta 42° 27' 90" N, 19° 13' 49" E" 38

Slika 4.3.1.1 Slike istraživanih lokacija 4.4 Uzorkovanje uzoraka na terenu 4.4.1 Uzimanje uzoraka za fizičko – hemijska ispitivanja Uzorci za hemijsku analizu uzimani su staklenim bocama (amber boce) od 1 jednog litra. Za određivanje koncentracije rastvorenog kiseonika u vodi korištene su Vinklerove bočice sa šlifovanim zatvaračima, pri čemu je kiseonik odmah fiksiran dodavanjem 1 cm³ KJ plus 1 cm³ MgCl₂. Uzorci za određivanje biološke potrošnje kiseonika (BPK5), uzimani su takođe Vinklerovim bočicama. Standardnim metodama (Škunca-Milovanović i ostali, 1990) su određeni i pH, koncentracija rastvorenog kiseonika, BPK5 i utrošak KMnO₄, nitriti, nitrati, fluoridi i hloridi. 4.4.2 Uzorkovanje vode za bakteriološke analize Uzorci vode za bakteriološku analizu uzimani su sterilnim bocama zapremine 1 dm³. Slika 4.4.2.1- Slika uzorkovanja "Desni" krak rijeke Morače Boca se otvara iznad površine vode, i boca se horizontalno potapa u vodu, puni se do 2/3 zapremine, zatim vadi iz vode, otvor se tretira plamenom i boca se zatvara. Uzorci su do laboratorije transportovani u najkraćem mogućem roku u terenskom frižideru sa patronima leda. Po prispieću u laboratoriju uzorci su odmah mikrobiološki analizirani. Uzorci za analizu fizioloških grupa mikroorganizama uzimani su na isti način kao i za ostale bakteriološke analize 4.4.3 Uzorkovanje za "Skrining" analize Boce za hemijsku "skrining" analizu su isprane s vodom sa tri puta prije nego što se potapanjem izvrši uzorkovanje, to iz razloga da se površina stakla, hemijski uskladi sa uzorkom. Uzorci su pripremljeni na sledeći način: u 800 ml vode dodato je internog standard (phenanthrene-D10) u cilju postizanja krajnje koncentracije 1 µg/L, a zatim ekstrahovani sa 50-ml dichloromethane 20 minuta. Identifikacija komponenti vršena je korištenjem Wiley7n and NIST08 spektrofotometrijske biblioteke. Skrinig analiza je perforirana na gasnom-hromatografu Agilent 7890N uz maseno spektrometrijskim detektorom Agilent 5975 na Institutu za analitičku hemiju, Fakultet hemijske i prehrambene tehnologije, slovačkog Univerziteta za tehnologiju u Bratislavi u Slovačkoj (Slika 4.4.3.1) 4.4.3.1-Slika Agilent 7890N uz maseno spektrometrijski detektor Agilent 5975 na Institutu za analitičku hemiju Fakulteta hemijske i prehrambene tehnologije, slovačkog Univerziteta za tehnologiju u Bratislavi u Slovačkoj Gasni hromatograf 7890N GC System (Agilent Technologies) opremljen split/splitless injektorom i povezan sa dva detektora: plameno-jonizacionim (FID) i masenim kvadrupolnim detektorom 5975C inert XL EI/CI MSD (Agilent Technologies) – za snimanje masenih spektara isparljivih i termički stabilnih jedinjenja tehnikama elektronske (70 eV) i hemijske jonizacije. Gasna hromatografije u kombinaciji sa masenom spektrometrijom analizirane su uz korištenje kapilarnih kolona DB-FFAP 30 mx 250 mm ID, 0,25 mm, u scan modu akvizicije, carrier gas bio helijum protoka 1 ml/min, zagrijavanje, program 40°C, 10 min; Stopa 2°C / min do 230 °C splitless injektor (Sremački et al. 2014). 4.4.4 Određivanje prisustvo PhACs i EDCs u tkivima riba 4.4.4.1 Priprema uzorka Prisustvo farmaceutskih proizvoda i endokrino uznemiravajućih supstanci u tkivima sledećih vrsta riba: Rutilus

prespensis (Karaman, S., 1924), Squalius platyceps (Župančić, et al., 2010), Scardinius knezevici (Bianco & Kottelat, 2005), Chondrostoma ohridanum (Karaman, 1924), Cyprinus carpio (Linnaeus, 1758) i Alburnus alburnus (Bonaparte, 1845) ispitatano je koristeći (LC-MC; Liquid chromatography-tandem mass spectrometry LC-MS je tečna hromatografija u tandemu sa masenom spektrofotometrijom), određena su na osnovu metode koje su uveli Huerta et al. (2013) na prisustvo PhACs, i metode Jakimska et al. (2013) za EDCs. Postupak pripreme uzorka je opisan procedurom Svaka vrste su ulovljene u tri primjerka. Determinacija riba urađena je po (Kattelat & Freyhof, 2009) a nomenklatura je usaglašena sa (Marić & Milošević, 2011). Po pristizanju u laboratoriju, riba se sortira po vrstama, zatim očisti od škruga, krljušti i unutrašnjica, samelje se i potom zamrzne. Uzorci su potom liofilizirani su u liofilizatoru Instituta za biologiju mora, Kotor. Slika 4.4.4.1.1 Liofilizator ALPHA za liofizaciju uzoraka riba na Institutu za biologiju mora • Procedura liofilizacije: Uzorak, koji se suši liofilizacijom, tokom sušenja prolazi kroz dvije faze: fazu primarnog sušenja i fazu sekundarnog sušenja. Primarno sušenje je iz zamrznutog stanja (od -15°C do -70°C). Smatra se da je primarno sušenje završeno kad je u uzorku preostalo još 6-8 % vode, jer tada u njemu više nema leda pa je i sublimacija okončana. Primarnim sušenjem se iz uzorka izdvaja tzv. slobodna voda. Sekundarno sušenje je sušenje iz "tečnog"

stanja i njime se nastoji ukloniti tkz. vezana voda, jer je ona

58

u stvari i uzrok koji može spriječiti uspješno čuvanje liofiliziranog uzorka (Slika 4.4.4.1.1) posebno kod sobne temperature. 4.4.4.2 Analiza uzoraka Analiza uzoraka riba izvršena je u Geroni na

Institut Català de Recerca de l'Aigua ICRA/Catalan Institute for Water Research ICRA

34

koristeći prethodno optimizirane metode za PhACs (Huerta et al., 2013) i za EDCs (Jakimska et al., 2013). A) PhACs Metoda za određivanje koncentracija PhACs iz mišića riba zasnovana je na koraku ekstrakcije, pri čemu se koristi pritisak tečne ekstrakcije (PLE), nakon koje slijedi gel (GPC), čišćenje i ultraperformansa tečne hromatografije triple kvadropol masene spektrofotografije (UPLC-MS/MS). Po 0,5 g homogenizata ulovljenih i zamrznutih riba stavljeno je pojedinačno u tuve uz tečnu ekstrakciju pod pritiskom ASE 350® (Thermo Scientific Dionex, USA), sa metanolom kao rastvaračem pri tome izvršene su 4 ekstrakcionna ciklusa svaki od 5 minuta na temperatura od 50 °C. Finalna ekstrakcija bila nježno uvođenje azota u 1 ml metanola čime se finalnom ekstrakciom dobio uzorak do uparenja. Sistem visokom pritiska i tečne hromatografije Agilent Technologies, USA, model 1260 Infinity, sa uz dodatak diode detektorom (PDA), korišteno je za ispiranje sa gel permanentnom hromatografijom (GPC). 500 mikrolitara, ekstrakcije metanola je injektovano u EnviroPrep kolumni dijametara pora (300 mm × 21,2 mm × 10 µm), kompletirano sa PLgel Guard kolumnom (50 mm × 7.5 mm) (Agilent Technologies, USA), koristeći mobilnu fazu rastvor (5 mL min⁻¹ dihlor-metan : metanol u odnosu 90:10). Prečišćene frakcije sadrže targete između 13,5 i 26,5 min., nakon čega su sakupljene, osušene do isparenja i rekonstruisane uz 1 ml mobilne faze rastvora metanol: voda u odnosu 10:90. Tečna hromatografija u tandemu sa masenom spektrofotometrijom (HPLC-MS/MS), metod je prvenstveno prikazan i ravijen od Gros et al. (2012) i Huerta et al. (2013) uz korištenje Waters Acquity Ultra-Performance™ tečnog hromatografa koji je upotpunjen sa 5500 QTRAP hibridnim kvadropol-linearnim jonsko-masnim spektrofotometrom sa ESI izvorom (Applied Biosystems, USA, model ABSciex 5500-QTRAP). Selektovane i monitoringovane reakcije SRM u tranziciji između prekursora jona i

dva najabundantnija fragmenta monitoringovani su za svaku komponentu. Prva tranzicija je imala funkciju u kvantifikaciji, a druga kao potvrda identifikacije targetovanih komponenti. Zatim su utranzitivane vrijednosti upoređivane sa standardom i relativna abudanca uzoraka je trebala da bude između $\pm 20\%$ odnosa od dva SRM i analitičkog standarda. Kvantifikacija je izvedena internom kalibracijom uzoraka. Me- toda, validacija kriterijuma (recovery, matriks) mogu se naći u (Huerta et al., 2013). Hemijske strukture i prekusori jona ispitivanih hemikalija (Izračunato pomoću MarvinSketch software Huerta et al., 2013) prikazane su u Tabeli 4.4.4.1, Prilogom 2. B) EDCs Koristeći se metodom (Jakimska et al., 2013) koja se zasniva na QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe), ispitano je prisustvo 19 EDCs u tkivima riba. Metoda predstavlja kombinaciju (

**ultra high performance liquid chromatography coupled with tandem mass spec-trometry UHPLC-
MS/MS**

48

). PLE kondicioniranje uključuju ekstrakciju metanola u 4 ciklusa od 5 min svaki na 500 C za 1 g uzorka homogenata ribe. Konačni ekstrakti su uparivani do suvoće pod strujom azota, rekonstituisani u metanolu i podvrgnuti se koraku prečišćavanja GPC-om (gel permeation chromatography) koji je izveden sa anAgilent 1260- Infinity high pressure liquid chroma- tography system with a diode array detector (HPLC-DAD) koristeći Agilentnu Enviro-Prep kolonu (300 mm \times 21,1 mm, 10 m) spojeno sa zaštitnom kolonom PLgel (50 mm \times 7,5 mm). Mobilna faza je bila DCM / MeOH (90: 10, v/v) pri brzini protoka od 5 ml / min u izokraskim uslovima, a injekcioni volumen je 250 L. Frakcije koje sadrže ciljna jedinjenja sakupljene su između 13,5 i 26,5 min, a zatim su isparene do suva. Nakon ekstrakcije i purifikacije uzorka izvršena je analiza uzoraka je izvršena na Waters Acquity Ultra-PerformanceTM liquid chroma- tography system opremljeni dvosmjernim sistemom pumpi (Milford, MA, USA), koristeći kolonu Acquity BEHC18 (50 mm \times 2.1 mm i.d., 1.7 μ m particle size). Optimizovani uslovi razdvajanja su bili sledeći: rastvarač (A) metanol i (B) voda (pH 9, po- dešen amonijakom) pri protoku od 0,4 mL /min. Gradijentno ispiranje za režim pozitivnih jona (PI) je: 0–3 min, 30–100% A; 3–4,75 min, 100% A; 4,75–5,75 povratak na inicijalne uslove; 5,75–7 min, ekvilibrijum kolone i prebacivanje na mod negativnog jona (NI): 0–4 min, 30–100% A; 4–5 min, 100% A; 5–6 min povratka na početne uslove; 6–7,5 min, ravnoteža kolone. Kolona je održavana na 400C u NI; temperatura nije kontrolisana u PI. Ubrizgana količina uzorka je bila 5 μ L za oba načina jona. Fizičko-he- mijska svojstva i hemijske strukture ciljnih jedinjenja data je u Tabeli 4.4.4.2 Prilogom 3.

4.4.5 Uzorkovanje za analizu farmaceutika u uzorcima vode. Uzorci su se standardno uzorkovali u staklene neprovidne (amber boce) zaštićeni od sunčevih zraka. Nakon uzorkovanja pod temperaturnim režimom uzorci vode su donešeni u laboratoriju Odjeljenja biološke kontrole Hemomont. Tretirani automatskim tečnim ekstrakovanjem (SPE). Specifičnost ove analitičke metode bazira se na automatskoj tečnoj fazi ekstrakovanja automatski ekstrakovanjem sa GX-271ASPECTTM sistemom (Gilson, Villiers le Bel, France) Oasis ili Plexa, HLB (60 mg, 3 ml). Ovako specijalno pripremljeni uzorci su zamrznuti i poslani u Geronu na

Institut Català de Recerca de l'Aigua ICRA/Catalan Institute forWater Research ICRA

34

gdje će se na osnovu ultra visoke performanse tečne hromatografije u tandemu sa masenom spektrometrijom (UPLC-QLIT) izvršiti analiza uzoraka (Gros et al., 2012). Za izvođenje metode svi farmaceutski standardi su bili visokog

stepena čistoće (>90%). Jedinjenja sa brojevima (Tabela 4.4.4.3, Prilog 3.) 1-17, 20, 23, 25, 28-30, 32-34, 36-42, 44-47, 49, 51, 54-57, 59-79 i 81 su kupljeni od Sigma-Aldrich. Jedinjenja sa brojevima 9, 18, 19, 27, 43, 52, 53 i 80 su kupljeni od US Pharmacopeia (USP), dok su supstance sa brojevima 24, 26, 31, 35, 50, 48 i 79 su dobijeni od strane European Pharmacopeia (EP). Supstance sa brojevima 24, 26, 28-31, 37, 41, 42, 55, 61, 69, 79 i 81 su kupljeni kao hlorovodonične soli, 12, 17 i 18 kao natrijumske soli, 19 kao kalcijumska so, 25 kao hidrobromidska so, 43 kao tartrat, 50 kao bestilat, 51 kao kalcijumska so, 54 kao hydrogen sulfat i 56 kao hemisulfat. Na kraju, substance sa brojevima 21, 22 i 58 su dobijeni iz Toronto Research Chemicals (TRC). Izotopski obilježena jedinjenja koja su se koristila kao interni standard su bila

erithromycin-N,N-dimethyl-13C , xylazine-d6, **azaperone-d4, ibuprofen-d3, diazepam-d5,**
meloxicam-d3, ronidazole-d3, ofloxacin-d3 , i **fluoxetine-d5**

24

kao hlorovodonične soli) od Sigma-

Aldrich. Dexamethasone-d4 , indomethacine-d4, **antipyrine-d3, cimetidine-d3, bezafibrate-d6,**
gemfibrozil-d6, carbamazepine-d10, citalopram-d4 (as hydrobromide), atenolol-d7, warfarin-d5,
hydrochlorothiazide-d2, valsartan-d8 and

32

glyburide-d3 su kupljeni od

CDN isotopes (Quebec, Canada) i **azithromycin-d3, sulfamethoxazole-d4, acetaminophen-d4,**
venlafaxine-d6, amlodipine-d4 (as maleic acid salt

24

), verapamil-d6 (kao hidrohloridne soli) i furosemide-d5 su bili iz Toronto Research Chemicals (Ontario, Canada). pripremljeni na osnovu težine u metanolu (u koncentraciji od 1000 mg/L), osim ofloxacin i ciprofloxacin, koji su rastvoreni u metanolu dodajući 100 µL od NaOH 1M, kao što je opisano od strane (Ibanez et al., 2009) i cefalexin koji je razblažen u HPLC stepenu vode, što je nagoviješteno od strane (Kantiani et al. 2009) budući da su ove supstance slabo rastvorljive ili potpuno nerastvorljive u čistom metanolu. Nakon pripreme, standardi su čuvani na -20o C. Posebne mjere predostrožnosti su bile uzete u obzir za tetracycline, koji mora da se drži na tamnom mjestu, da bi se izbjegla njegova izloženost svjetlosti, zato što je demonstrirano da su tetracycline antibiotici podložni fotodegeneraciji (Eichhorn et al. 2009). Svježe zalihe antibiotičkih rastvora pripremane su svakih tri mjeseca dok su za fluoroquinolone antibiotik pripremljeni mjesečno zbog svoje ograničene stabilnosti. Zalihe rastvora za ostale supstance su obnavljanje svakih 6 mjeseci. Radni standardni rastvori koji sadrže sve farmaceutike su takođe pripremljeni u metanolu/vodi (10:90, v/v) i obnovljeni prije svakog analitičkog izvršavanja miješanjem odgovarajućih količina intermediate rastvora. Odvojene smješe izotopski obilježenih internih standard, korišteni za internu kalibraciju, i surogati, su takođe pripremljeni u metanolu i dalja razblaživanja su takođe pripremana u smješi metanola/vode (10:90, v/v). Ketridži korišteni za čvrstu fazu ekstrakcije su bili Oasis HLB (60 mg, 3mL), Oasis HLB (200 mg, 6ml) i Oasis MCX (60 mg, 6ml), od Waters Corporation (Milford, MA, USA). Poslije izvršene optimizacija ekstrakcije čvrste faze izvršena je UPLC-ESI-(QqLIT)

MS/MS, opisani u dijelu za analizu farmaceutika iz riba. Svi rezultati procesuirani su korištenjem Analyst 1.5.1 software.

4.4.6 Terenska mjerenja pokazatelja kvaliteta

Na svim lokalitetima, obuhvaćenim ovim istraživanjem, prilikom izlaska na teren obavljena su mjerena temperature vazduha i vode. Temperature vode i vazduha mjerene su termometrom sa tačnošću od 0,10C. Temperatura vode je očitavana nakon stabilizovanja u digitalnom pokazivaču poslije uranjanja termometra u vodu. Temperatura vazduha mjerena je pošto je termometer 5 minuta stajao u sjenci na visini od oko 1 metar od zemlje i stabilizovao vrijednost. Korišćen je isti termometar za mjerenje temperature vode i vazduha.

Elektrolitička provodljivost mjerena je laboratorijskim i terenskim konduktometrom. • Elektrolitička provodljivost

Elektrolitička provodljivost predstavlja mjeru ukupne koncentracije jona u uzorku vode. Provodljivost uzorka se određuje na WTW multiparametarskom uređaju. pH vrijednost pH se određuje metodom direktne potenciometrije. Instrument za određivanje pH vrijednosti naziva se pH-metar. Za mjerenje pH vrijednosti koristi se par elektroda: indikatorska (staklena) i referentna (kalomelova ili srebro-srebro-hloridna) elektroda. Mjerenje potencijala indikatorske elektrode svodi se na mjerenje elektromotorne sile (EMS) sprega: indikatorska elektroda /ispitivan rastvor/ referentna elektroda. Prilikom svakog mjerenja pH vrijednosti uzorka obavezno se vrši kalibracija instrumenta. Svaki pH-metar ima uputstvo koga se treba pridržavati. • Određivanje rastvorenog kiseonika Rastvoreni kiseonik se određuje primjenom jodometrijske metode (Winkler-ova metoda) i elektrometrijske metode (primjena membranske elektrode). Određivanje kiseonika membran- skim elektrodama naročito je pogodno kada se radi o mjerenju na licu mjesta; u rijekama, jezerima, rezervoarima, izlivnim kanalima iz industrije, itd. Rezultat mjerenja rastvorenog kiseonika se izražava kao sadržaj O₂ u mg/dm³. Rastvoreni kiseonik u vodi Winkler-ovom metodom veže se (fiksira) u obliku viših oksid hidrata mangana. Zatim se u kiseloj sredini pomoću dobijenih oksid-hidrata mangana oksiduje ekvivalentna količina jodidnog jona u jod koji se određuje titracijom sa natrijum-tiosulfatom. Saturacija kiseonikom se računa kao procenat koncentracije rastvorenog kiseonika i odnosi se na potpunu saturaciju na temperaturi na kojoj je izvedeno mjerenje. Ukoliko temperatura raste, koncentracija 100% saturacije opada. Barometarski pritisak i salinitet imaju uticaj na saturaciju, ali u manjoj mjeri. • Biološka potrošnja kiseonika poslije 5 dana- BPK5 Biološka potrošnja kiseonika- BPK5, podrazumijeva količinu kiseonika u (mg) koja je potrebna mikroorganizmima za oksidaciju organske materije u 1 dm³ vode pod anaerobnim uslovima. Određivanje se vrši pod standardnim uslovima u toku pet dana, na temperaturi od 200C, bez prisustva vazduha i svjetlosti. Na terenu se po uzimanju uzorka kiseonik može vezati dodat- kom po 1 dm³ MnCl₂·4H₂O 40% i alkalnog rastvora KJ. Ovaj postupak (jodnodiferencijalni) se koristi za vode u kojima je smanjena koncentracija kiseonika. Za uzimanje uzoraka se koriste staklene Vinklerove boce sa brušenim zapušačima, koso zate- sanim na donjem kraju čija je zapremina poznata. Uzorci se ne smiju konzervirati. Nakon pet dana od uzorkovanja izvrši se fiksacija uzorka po Vinklerovom postupku. Uzorak iz vinklerice se prespe u erlenmajer od 500 cm³, boca sa uzorkom se ispere sa malo (oko 5 cm³ HCl (1:1)) dok se ne rastvori i to se doda u erlenmajer, zatim se dodaje škrob 0,5 do 1 cm³ do prelaska u crnu boju i titriše sa 0,01 N Na₂S₂O₃ do obezbojenja. Određivanje utroška kalijum permaganata (KMnO₄)

Određivanje ukupnih organskih materija u vodi ovom metodom, vrši se oksidacijom organskih materija kalijum permaganata u kiseloj sredini (H₂SO₄). Potrošnja KMnO₄ pri standrardnim uslovima predstavlja mjerilo sadržaja organskih materija u vodi. Voda koja sadrži organske materije potrošiće određenu količinu KMnO₄ za njihovu oksidaciju. Količina utrošenog KMnO₄ zavisi od količine organskih materija u vodi ali i njihove hemijske strukture. Među- tim i neke neorganske supstance na primjer: nitriti, Fe²⁺, H₂S i drugi, mogu pod određenim uslovima oksidovati KMnO₄, zato se potrošnja KMnO₄ može uslovno smatrati mjerilom sadržaja organske materije u vodi. U Erlenmajerovu tikvicu od 300 cm³, odmjeri se 100 cm³ uzorka vode za analizu, 5 cm³ H₂SO₄ (1:3) i nekoliko staklenih perli. Zagrijava se do ključanja. U ključali rastvor se dodaje iz bi- rete 15,00 cm³ 0,002 mol/dm³ KMnO₄ i nastavi sa zagrijevanjem još 10 minuti. Ako

postoji ružičasta boja, u vruć rastvor se dodaje iz birete 15,00 cm³ 0,005 mol/dm³ oksalne kiseline i dalje zagrijava do potpunog obezbojavanja. Zatim se rastvor titrira sa 0,002 mol/dm³ KMnO₄ do pojave svijetlo-ružičaste boje, postoje 30 sekundi. • Nitriti Zapremina 100 ml uzorka vode se sipa u erlenmajer, sa dodatkom 2 cm³ sulfanilne kiseline i 2 cm³ alfa-naftil-amina. Promiješati i ostaviti da odstoji 10 minuta. Očitavati na Helligeovom komparatoru. • Nitrati

Kvantitativno i kvalitativno određivanje se vrši pomoću nove metode, spektrofotometrijski. Naime, u 50 ml uzorka vode doda se 1 cm³, 1 M HCl, promiješa i očitavanje vrši na talasnoj dužini od 220 nm. • Hloridi Ako ispitivana voda ne sadrži mnogo hlorida, što se može utvrditi kvantitativnim određivanjem, uzeti 100 cm³ uzorka, a za veće koncentracije srazmjerno manje i dopuniti destilovanom vodom do 100 cm³. Ako su količine hlorida pak neznatne, potrebno je upariti 250 cm³ uzorka ili više, do 100 cm³ uz energično povremeno miješanje tečnosti. Sama titracija se vrši u erlenmajeru od 300 cm³ u kojem se uzorku od 100 cm³ ispitivane vode dodaje 1 cm³ indikatora (K₂CrO₄) i titriše rastvorom AgNO₃. Kraj titracije označava prelazak boje indikatora u slabo crvenkastu. Sadržaj hlorida u (mg/dm³) u ispitivanom uzorku se računa na sledeći način: $\text{mgCl/dm}^3 = n(\text{cm}^3) \text{AgNO}_3 \times 10 \times 2$

Fluoridi Koncentracija fluorid jona u vodi određuju se pomoću jon selektivne elektrode sa kristalom lantan-fluorida, pri čemu se obrazuje: Ag/AgCl, Cl⁻ (0,3 mol/dm³), F⁻ (0,001 mol/dm³) / La F₃/ ispitivani rastvor/2KE 4.6 Mikrobiološke analize Mikrobiološke analize ispitivane vode vršene su standardnim bakteriološkim metodama (Pravilnik o uzimanju uzoraka i metodama za laboratorijsku analizu vode, Sl. list RCG 16/96).

4.6.1 Hranljive podloge, reagensi, boje i rastvori Gotove podloge i sastojci za podloge, korišćene u ovom radu, proizvod su Merck Germany. Korišćene su gotove i podloge koje je potrebno pripremiti. Podloge koje je bilo potrebno pripremiti, su pripremane po specifikaciji proizvođača i sterilisane u autoklavu 15-20 minuta na 1200C pod pritiskom od 1,5 atmosfere.

4.6.2 Metode za bojenje mikroorganizama • Bojenje po Gram-u (Knežević-Vukčević i Simić, 1997) Razmaz mikroorganizama na mikroskopskoj pločici je osušen i fiksiran na plamenu. Poslije osušenog razmaza dodat je kristal violet. Poslije 60 sekundi dodat je Lugolov rastvor, koji je nakon 30 sekundi ispran etanolom, pa destilovanom vodom. Zatim je dodat safranin i nakon 60 sekundi preparat ispran vodom i osušen. Preparati su posmatrani pod svjetlosnim mikroskopom.

4.6.3 Određivanje sanitarne grupe mikroorganizama Pod sanitarnom grupom mikroorganizama podrazumijevaju se mikroorganizmi čije prisustvo ukazuje na organska opterećenja uzoraka vode, koji mogu nastati prirodnim djelovanjem npr. percipitacijom, ili djelovanjem čovjeka na neki akvatični ekosistem ili dio ekosistema. Ovim istraživanjem urađeno je: • Određivanje ukupnog broja heterotrofnih bakterija u uzorku (Oceviski, 1966) • Određivanje ukupnog broja fakultativnih oligotrofnih bakterija (Oceviski, 1966) • Određivanje najvjerojatnijeg broja koliformnih bakterija (Knežević – Vukčević i Simić, 1997) * Završna identifikacija je izvršena na BIOLOG aparatu za identifikaciju mikroorganizama. Određivanje broja Proteus vrsta ("Sl. List SFRJ", 1987) *Završna identifikacija je izvršena na BIOLOG aparatu za identifikaciju mikroorganizama. • Određivanje broja Streptococcus faecalis ("Sl. List SFRJ", 1987) *Završna identifikacija je izvršena na BIOLOG aparatu za identifikaciju mikroorganizama • Određivanje broja sulfido redukujućih klostridija ("Sl. list SFRJ", 1987) Jedan cm³ uzorka ispitivane vode ostavlja se u vodenom kupatilu na 80oC i inaktiviše 15 minu- ta, zatim se do kraja epruvete dosipa sulfitni agar, kako bi se onemogućio kontak sa vazduhom i spriječio razvoj aerobnih bakterija na vrhu epruvete i epruveta se zatvori čepom. Nakon 48 časovne inkubacije izrasle kolonije sa crnim pigmentom se broje, a kao potvrda da se radi o sulfidoredukujućim klostridijama prave se mikroskopski preparati.

4.6.4 Određivanje fiziološke grupe mikroorganizama Pod pojmom fiziološka grupa bakterija podrazumijeva se određena grupa bakterija, čija je zajednička osobina da pokazuje određenu fiziološku aktivnost bez obzira na njihovu sistematsku pripadnost. Drugim riječima radi se o bakterijama koje posjeduju ekstracelularne enzime za razgradnju određenog supstata. Ovim ispitivanjem obuhvaćene su: • Grupa proteoliznih bakterija, • Grupa lipoliznih bakterija, • Grupa amiloliznih bakterija,

4.7 Utvrđivanje bioloških parametara Tokom ovog istraživanja utvrđeni su fenopip i

fenotipske promjene fizioloških grupa mikro- organizama uz korišćenje (MicroLog and MicroPlateare trademarks of Biolog, Inc., Hayward, CA, 2007). Način izolovanja fizioloških grupa predstavljen je u dijelu Mikrobiološki parametri 4.6 adirektnom ekstrakcijom i tačnim biohemijским reakcijama koje su ustanovili Garland and Mills (1991) određen je fenotip. Fenotipske karakteristike mikrobioloških zajednica (CLPP) uveli su u nauku (Lehman et al.,1995), a sa namjerom da ukažu na karakteristike mikrobioloških zajednica, dok je pojam produbio i tehniku detaljno opisao Winding A. (1994). BiologTM Ecolog daje odgovore u funkcionisanju mikrobioloških zajednica raznolikošću, sveu- kupnom vrijednošću i tačnim protokolom. Upravo sveukupna vrijednost može biti i najčešće je procijenjena, ukupnom brojem ili srednjom vrijednošću obojenih kupola AMR, ili izmjerenom OD izražena vrijednošću CDM Garland (1996). Kasnih osamdesetih godina prošlog vijeka razvijen je i unaprijeđen BIOLOG sistem, u cilju identifikacije mikroorganizama na nivou fenotipa i izuzetno je značajan zato što svaka životna zajednica ima mogućnost reagovanja sa 95 različitih izvora ugljenika na mikrotitar ploči. BIOLOG sistem je u početku razvijen u farmaceutskoj, bi- otehničkoj, kozmetičkoj a poslije i medicinskoj i prehrambenoj industriji (Garland 1996). Potencijalna identifikacija fenotipskih karakteristika voda ispitivanih lokacija, započinje ukupa- vanje 150 μ L napravljene suspenzije u svaku od 96 kupola EcoPlate (Preston-Mafham et al., 2002; Winding, 1994). Uzorci su inkubirani 5 dana na 220C. Uzorci su analizirani BIOLOGTM EcoPLate (Slika 4.6.2)

Mikrobiološkoj laboratoriji Hemomont d.o.o. • CLPP je ekskluzivno uveden termin kako bi se mogle sistematizovati podaci dobijeni kori- štenjem BIOLOGTM mikroploča. BIOLOGTM EcoPlate sadrži 31 (Slika 4.6.1) različit izvor ugljenika koji je u tripletu. Pozicija 1. A je destilovana voda i služi kao negativna kontrola. Slika 4.7.1 Prikaz jedinjenja koji se ispituju na BIOLOGTM EcoPLate <https://biolog.com/products-portfolio-overview/microbial-community-analysis-with-ecoplates/> Očitavanja se bilježe na osnovu promjene boje u određenim vremenskim intervalima i tj. reakcije koja se manifestuje promjenama u OD koje očitavamo kao brojnu vrijednost. Slika 4.7.2 Mikroploča BIOLOGTM <https://biolog.com/products-portfolio-overview/microbial-community-analysis-with-ecoplates> Prokariotske zajednice predstavljaju funkcionalne jedinice u koje su sumirane metaboličke ka- rakteristike bakterijskih individua, pa CLPP se u tom cilju koristi kao osjetljiva i brza metoda za prepoznavanje potencijalnih metaboličkog diverziteta mikrobioloških zajednica. Na osnovu ove metode moguće je da se prepozna prisustvo ostataka ugljovodonika, pesticida ili metala kao i ostataka emergentno uznemiravajućih supstanci. Razgradnjom izvora ugljenika, redukuje se i mikrobiološki medijum koji se nalazi u jednoj od 95 kupola, (ne i na poziciji (1,1) je je ta pozicija negativna kontrola); dešavaju se promjene boje u nijansama narandžate. Odnosno te promjene boje, reakcije manifestuju se kroz izmjene i mjerenja svjetlosne dužine (OD), a sama promjena u boj može da nam opiše mikrobiološku zajednicu kroz dva parametra a to su: • Prosječan metaboločki odgovor (AMR) je po definiciji srednja respiracija C-ničnih izvora koje ko- riste mikrobiološke zajednice. Predvidljiv je i mjerljiv a među zajednicama može biti upoređivan. $AMR = \frac{\sum(O.D.well - O.D.neg)}{95}$; gdje je (O.D.well- O.D.neg)-odnos između izmjerene vrijednosti optičke gustine i negativne kontrole. • Diverzitet metabolizma zajednice mikroorganizama (CMD) predstavlja ukupan broj pro- mijenjenih medijuma na mikrotitar ploči, i analogan je sastavu i funkciji mikrobiološke zajednice. Mikrobiološki diverzitet zajednice se izračunava prostim brojanjem pozitivnih odgovora manifestovanih promjenom boje u narandžasto, (Slika 4.4.7.2) tokom inkubacije i mjerenja aktivnosti. 4.8 Procjena rizika koji može nastati djelovanjem PhACs na organizme u vodi izračunavanjem HQ hazard quotient-količnika štete Sanchez-Bayo (2002). U

maksimalno izmjerena ambientalna koncentracija (MEC) i predviđene ne efektne koncentracije ekološkog (biološkog) efekta (PNEC). • $HQ = MEC/PNEC \times 1$; gdje je: MEC (maximum measured environmental concentration- maksimalno izmjerena ambientalna koncentracija) PNEC (predicted no effect concentration in water-predviđena koncentracija koja nema efekta). Vrijednosti PNEC-a za PhAC za nektonske organizme (drugi trofički nivo, potrošači), uzeti su NORMAN network. Ukoliko je vrednost koeficijenta hazarda manja od 1, odnosno, ako su maksimalno izmjerena ambientalna koncentracija hemikalije niže od koncentracija bez efekta, smatra se da je ekološki rizik od primjene predmetne supstance prihvatljiv. Obrnuto, ukoliko je vrednost HQ viša od 1, odnosno, ako su maksimalno izmjerene ambientalne koncentracije više od koncentracija bez efekta, smatra se da rizik nije prihvatljiv, što obično implicira planiranje i primenu niza mjera za umanjenje ekološkog rizika od predmetne supstance (PhACs).

4.9 Statistička obrada podataka Za ocjenu razlika u fiziološkom i sanitarnom aspektu uzoraka vode sa istraživanih lokacija, kao i prikazivanje rezultata zimskog i ljetnjeg perioda, korišten je Mann Whitney U test, Pirsonova korelacija.

REZULTATI 5. REZULTATI 5.1 Fizičko-hemijske karakteristike voda istraživanih lokaliteta Rezultati fizičko-hemijskih parametara voda istraživanih lokacija prikazane su prema vodenim režimima na "zimsko" i na "ljetnje" uzorkovanje Tabelama:

5.1a; 5.1b; 5.1c; 5.1.d . Tabela 5

62

.1.a. Rezultati fizičko-hemijskih analiza vode istraživanih lokaliteta za 2017-2018 godinu "zimski režim" Rijeka Morača Zlatica/Smokovac (1) Vukovci (2) "Lijevi krak rijeke Morače"(3) "Desni krak rijeke Morače" (4) Ispitivani parametri Jedinica mjere Januar 2017 Novembar 2017 Decembar 2017

Januar 2018 Januar 2017 Novembar **2017** Decembar 2017 **Januar 2018 Januar** 2017
 Novembar **2017** Decembar 2017 **Januar**

61

2018 Januar 2017 Novembar 2017 Decembar 2017 Januar 2018 U T V R Ā E N E V R I J E D N O S T I Temp. vode 0C 3,0 13,0 7,0 4,0 5,0 18,0 11,0 7,0 5,2 18,0 12,0 7,2 5,1 18,1 12,0 7,1 Temp. vazduha 0C 5,0 18,3 12,0 9,0 12,0 21,0 15,0 14,0 12,2 21,0 15,0 14,0 12,2 21,1 15,0 14,1 pH 7,36 7,91 7,32 7,59 7,42 7,96 8,03 7,56 7,20 7,98 8,09 7,36 7,41 7,95 7,78 7,32 Nitriti mg/dm³ 0,0 0,05 0,0 0,0 0,05 0,15 0,15 0,0 0,05 0,15 0,15 0,05 0,01 0,15 0,15 0,15 Nitriti mg/dm³ Utroš. KMnO₄ mg/dm³ O₂ mg/dm³ 1,0 2,69 14,2 0,5 5,9 10,1 1,0 5,9 11,7 1,0 2,94 14,4 1,5 2,5 1,5 1,5 5,2 7,25 7,52 5,32 12,4 14,7 10,1 11,2 1,5 5,96 - 1,5 8,0 14,6 1,5 7,14 9,86 1,5 5,60 12,5 5,86 8,02 7,09 12,8 13,2 11,7 1,5 2,0 2,0 1,5 5,54 12,03 BPK₅ mg/dm³ Zasićenost vode kiseonikom % hloridi mg/dm³ fluoridi mg/dm³ Elekrolitička provodljivost mS/cm 0,91 125 4,06 0,43 0,05 0,43 0,43 0,05 0,43 0,60 0,05 216 225 221 217 262 242 218 228 2,02 125 - 1,39 102 4,0 0,46 127 4,09 4,09 4,0 4,0 4,0 2,77 2,72 0,99 1,25 99 115 125 101 2,43 100 4,0 0,43 261 2,86 109 4,02 0,43 238 1,15 102 4,0 0,60 225 2,51 125 4,0 0,05 0,05 0,43 0,43 0,05 233 238 283 235 217 2,36 2,71 1,91 104 102 111 4,0 4,0 4,0 2,02 98 4,0 Tabela 5.1.b. Rezultati fizičko-hemijskih analiza vode istraživanih lokaliteta za 2017-2018 godinu "zimski režim" Ispitivani parametri Jedinica mjere Januar 2017 "Kraljeva glavica-"Vranjina (5) Novembar 2017 Decembar 2017 Januar 2018 Januar 2017 "Tanki rt"-Jezero(6) Novembar 2017 Decembar 2017 Januar 2018 Temp. vode 0C Temp. Vazd. 0C pH Nitriti mg/dm³ Nitriti mg/dm³ Utroš. KMnO₄ mg/dm³ O₂ mg/dm³ BPK₅ mg/dm³ Zasićenost vode kiseonikom % hloridi mg/dm³

fluoridi mg/dm³ Elekrolitička provodljivost mS/cm 5,2 12,3 7,45 0,01 1,5 5,9 11,5 2,15 100 4,0 0,05 213 18,2 21,3 7,98 0,15 2,0 8,5 12,2 2,90 105 4,0 0,43 233 12,1 15,2 7,8 0,15 2,0 7,5 12,7 1,16 100 4,0 0,43 236 7,3 14,7 7,5 0,15 1,5 5,8 12,1 1,58 95 4,0 0,05 263 5,3 12,2 7,43 0,05 1,5 5,9 12,5 2,33 98 4,0 0,05 260 18,3 21,1 7,99 0,15 2,0 7,9 13,2 2,75 100 4,0 0,43 222 11,9 15,0 8,05 0,15 2,0 7,9 10,0 1,99 100 4,0 0,43 220 7,1 14,1 7,8 0,15 1,5 5,53 10,2 1,25 102 4,0 0,05 236 U januaru, novembru, decembru 2017. godine i januaru 2018. godine, odnosno za vrijeme zimskog uzorkovanja, temperatura vazduha za lokalitet Zlatica/ Smokovac je varirala u rasponu od 50C do 18,30C, dok se temperatura vode kretala od 30C do 130C. Izmjerene vrijednosti za fluorida, nitrata i nitrite nalazile su se u dozvoljenim granicama i odgovaraju A1 klasi voda (Uredba o klasifikaciji i kategorizaciji voda "SI list RCG 15/97"). Utrošak KMnO₄, tokom januara 2017. Godine je iznosio 2,69 dok je u januaru sledeće godine izmjereno 2,94. Na svim istraživanim lokalitetima utvrđene su relativno povoljne koncentracije kiseonika za zimski period. Utvrđene vrijednosti kretale su se uglavnom iznad 10,0 mg/dm³. Maksimalna vrijednost za zimski period registrovana je na lokalitetu Vukovci 14,4 mg/dm³ (tab.5.1.a) odnosno 14,9 mg/dm³ za ljetnji period (tab.5.1.c). Minimalna vrijednost za koncentraciju kiseonika u vodi utvrđena je sa 9,86 mg/dm³, na lokalitetu "Lijevi krak rijeke Morače". U zimskom periodu voda rijeke Morače bila je zasićena kiseonikom, odnosno prikazano u procentima uglavnom preko 100%. Vode Jezera i rijeke Morače na svim istraživanim lokalitetima dokazano su slabobaznog karaktera sa vrijednostima pH od 7,20-8,09. Tabela 5.1.c. Rezultati fizičko-hemijskih analiza vode istraživanih lokaliteta za 2017. godinu "ljetnji režim" Ispitivani parametri Jedinica mjere Maj 2017 Jun 2017 Rijeka Morača Vukovci (2) "Lijevi krak rijeke Zlatica/Smokovac (1) Morače"(3) Avgust 2017 Septembar 2017 Maj 2017 Jun 2017 Avgust 2017 Septembar 2017 Maj 2017 Jun 2017 Avgust 2017 Septembar 2017 "Desni krak rijeke Morače" (4) Maj 2017 Jun 2017 Avgust 2017 Septembar 2017 U T V R Ā E N E V R I J E D N O S T I Temp. Vode 0C Temp. vazduha 0C pH Nitriti mg/dm³ Nitrati mg/dm³ Utroš. KMnO₄ mg/dm³ O₂ mg/dm³ BPK₅ mg/dm³ Zasićenost vode kiseonikom % Hloridi mg/dm³ Fluoridi mg/dm³ Elekrolitička provodljivost mS/cm 8,9 10,0 22,5 23,2 8,09 8,02 0,05 0,05 1,0 0,5 2,89 1,29 14,9 14,2 1,0 1,13 132 123 4,3 4,2 0,03 0,05 208 323 11,0 12,2 9,5 13,8 20,0 30,0 29,0 28,9 28,2 30,0 8,24 7,96 8,26 0,05 0,05 0,06 1,0 1,0 1,86 3,2 13,2 - 2,36 4,2 116 111 4,6 4,6 0,05 0,04 323 239 1,6 4,38 - 3,39 120 4,3 0,03 248 7,99 8,04 0,15 0,07 1,5 1,5 4,56 4,20 12,7 13,8 3,34 5,43 112 140 3,5 3,2 0,05 0,05 310 310 20,0 31,0 7,75 0,01 1,5 5,10 15,1 4,77 143 4,7 0,05 244 10,9 28,9 8,39 0,09 1,0 4,23 14,0 2,45 123 4,5 0,05 289 13,0 28,4 8,06 0,005 2,0 4,85 12,7 3,66 106 3,5 0,03 284 20,0 30,05 8,08 0,01 1,5 4,2 12,1 3,23 122 3,5 0,05 275 19,4 30,1 7,75 0,01 1,5 5,82 13,2 5,99 141 3,5 0,05 281 10,5 12,3 20,0 18,9 28,9 28,6 30,4 30,2 8,06 7,98 8,05 7,99 0,09 0,005 0,005 0,02 2,0 4,09 14,3 2,43 132 4,5 0,05 300 2,0 4,20 13,6 3,72 107 3,5 0,5 265 1,5 1,5 4,16 4,06 13,3 14,6 3,02 5,54 108 121 3,5 3,5 0,05 0,06 285 295 Tabela 5.1.d. Rezultati fizičko-hemijskih analiza vode istraživanih lokaliteta za 2017. godinu "ljetnji režim" Ispitivani parametri Jedinica mjere Maj 2017 "Kraljeva glavica,-"Vranjina (5) Jun 2017 Avgust 2017 Septembar 2017 Maj 2017 "Tanki rt"-Jezero(6) Jun 2017 Avgust 2017 Septembar 2017 Temp. vode 0C 10,5 12,2 19,0 20,0 10,5 12,3 19,0 19,0 Temp. Vazd. 0C 29,0 28,3 29,9 31,0 28,9 28,5 29,4 30,2 pH 7,96 7,96 8,03 8,06 7,78 7,98 8,03 8,02 Nitriti mg/dm³ 0,05 0,05 0,005 0,01 0,05 0,005 0,05 0,02 Nitrati mg/dm³ Utroš. KMnO₄ mg/dm³ O₂ mg/dm³ BPK₅ mg/dm³ Zasićenost vode kiseonikom % 1,0 5,04 12,9 3,15 100 1,5 3,54 12,6 4,73 119 2,0 5,14 13,3 3,73 122 2,0 4,89 13,1 5,03 143 2,0 5,09 12,6 3,13 102 2,0 3,20 12,3 2,72 107 2,0 4,16 13,2 3,73 108 2,0 4,63 13,2 5,04 121 hloridi mg/dm³ 4,5 3,5 3,5 3,5 4,5 3,2 3,2 3,5 fluoridi mg/dm³ Elekrolitička provodljivost mS/cm 0,05 301 0,5 264 0,05 232 0,06 298 0,05 320 0,5 310 0,05 314 0,06 298 Temperatura vode, lokaliteta "Lijevi krak rijeke Morače", za mjesec maj bila je 10,90C, jun 130C, a za avgust 2017. godine je iznosila 20,00C. Temperatura vazduha izmjerena u maju 2017. godine bila je 28,90C , u junu 28,40C, dok je u avgustu iste godine bila 30,050C (tab. 5.1.c). Koncentracija fluorida, hlorida, nitrita i nitrata u vodi istraživanog lokaliteta, tokom 2017. godine, nije bila veća od MDK, pa se ista može svrstati u A1 klasu (Uredba o klasifikaciji i kategorizaciji voda, "SI list RCG

15/97"). U vodi istraživnog lokaliteta izmjerene pH vrijednosti, su se kretale od 7,75 do 8,39. Utvrđene vrijednosti za utrošeni KMnO₄, na lokalitetu „Lijevi krak rijeke Morače“, kretale su se od 4,2 mg/dm³ do 5,82 mg/dm³. Na lokalitetu "Kraljeva glavica" Vranjina tokom ljetnjeg izučavanja zabilježeno da je maksimalna temperatura vazduha za 2017. godinu bila 31,00C, dok je minimalna temperatura iznosila 28,30C (Tabela 5.1.d). Temperatura vode kretala se od 10,5 do 20,00C. Elekrolitička provodljivost vode datog lokaliteta bila je od 232 mS/cm do 301 mS/cm. U toku ovog istraživanja izmjerene vrijednosti nitrata kretale su se u opsegu (0,005 mg/dm³ -0,01 mg/dm³), vrijednosti nitrata kretale su se (1,0 mg/dm³ -2,0 mg/dm³), dok su se vrijednosti fluorida i hlorida kretale: za fluoride (0,05 mg/dm³ -0,5 mg/dm³) i hloride (3,5 mg/dm³ -4,5 mg/dm³). Ovim rezultatima voda lokaliteta "Kraljeva glavica"-Vranjina, nalazile su se u dozvoljenim granicama, pa se ista može svrstati u A1 klasu (Uredba o klasifikaciji i kategorizaciji voda "SI list RCG 15/97"). U toku „ljetnjeg režima“ vode istraživanih lokacija bile su saturisane kiseonikom i uglavnom su se vrijednosti kretale preko 100% zasićenosti sa kiseonikom.

5.2. Mikrobiološki kvalitet vode istraživanih lokaliteta (u odnosu na ekološke parametre)

Mikrobiološki kvalitet vode istraživanih lokaliteta, predstavljen je najprije iz ugla ekoloških parametra, na osnovu kvantitativnih vrijednosti fakultativno oligotrofnih bakterija. Fakultativno oligotrofne bile su zastupljene u svim analiziranim uzorcima vode i njihov broj je varirao od 12 do 8 000. Ova grupa bakterija bila je brojnija od heterotrofnih bakterija čiji je broj varirao od 11 do 6,650 kolonije u cm³ vode (tab. 5.2.a). Iz iste tabele vidimo da srednja vrijednost amiloliznih bakterija, u vodi lokaliteta Smokovac/Zlatica bila je 597, a proteoliznih 562,75. Vrijednost za lipolitske bakterije na lokalitetu Smokovac/Zlatica u toku istraživanja spovedenih za karakteristične periode (zimsko i ljetnje uzorkovanje) kretala u intervalu od 12 do 1570 bakterija u 1cm³ uzorka vode. Minimalna vrijednost MPN u zimskom period bila je 400 kolonija u cm³, a za ljetnji 96. Maksimalna vrijednost za "ljetnje" uzorkovanje bila je 96,000 u odnosu na "zimsko" 240,000. Srednja vrijednost koliformnih bakterija u ljetnjem period veća je pet puta u odnosu na zimski period. Ustanovljena je distribucija i sezonska dinamika fakultativno oligotrofnih bakterija u svim uzorcima vode istraživanih lokaliteta a prikazana je grafikom (Graf. 5.2.A). Ova grupa bakterija je uglavnom bila brojnija od heterotrofnih bakterija na svim lokalitetima, što možemo vidjeti na osnovu grafika (Graf. 5.2.C), što ukazuje na dominaciju autohtonih populacija mikroorganizama u vodi. Upravo odnos broja fakultativnih oligotrofa i heterotrofa (indeks FO/H) predstavlja jedan od parametara za procjenu ekološkog stanja voda (Graf. 5.2.B) jer ukazuje na njene sposobnosti samoprečišćavanja.

Graf.5.2. A Fakultativno-oligotrofne bakterije - broj kolonija/cm³ po mjesecima i po lokacijama

Graf. 5.2.B Odnos Fakultativno-oligotrofnih bakterija/heterotrofnih bakterija po mjesecima i po lokacijama

Odnos fakultativno - oligotrofnih bakterija/heterotrofnih broj kolonija/cm³ broj kolonija /cm³ Zlatica Vukovci "Lijevi krak rijeke "Desni krak rijeke Kraljeva glavica- "Tanki rt" Jezero Mora e" Mora e" Vranjina Jan-17 Maj 2017 Jun-17 Avgust 2017 Septembar 2017 Novembar 2017 Decembar 2017 Jan-18 Na osnovu prikazanih rezultata možemo da kažemo da su se vrijednosti za sposobnost autopurifikacije na lokalitetima kretala od slabog do zadovoljavajućeg (Graf. 5.2.B), te da su najbolji rezultati autopurifikacije zabilježeni su na lokalitetu Zlatica/Smokovac. Maksimalne vrijednosti zabilježene su u toku zimskog perioda i kretale su se od 3,5 za januar 2017. godine, pa do 4,2 u toku novembra 2017godine. Slaba autopurifikacija za lokalitet Zlatica/Smokovac zabilježena je u toku avgusta, septembra i decembra 2017.godine. Lokalitet Vukovci je samo u toku septembra 2017. godine zabilježio slabu sposobnost samoprečišćavanja. Na osnovu Graf.5.2.B. vidimo da je za ostale mjesece pokazao zadovoljavajuću autopurifikaciju. Lijevi i Desni krak rijeke Morače imali šest puta zadovoljavajuću, a dva puta (septembar i novembar 2017. godine) za Lijevi krak rijeke Morače, odnosno, (maj, avgust) za Desni krak rijeke Morače slabu autopurifikaciju. Na osnovu grafika 5.2.B vidimo da se za lokalitete Kraljeva glavica-Vranjina i Tanki rt"-jezero vrijednost samoprečišćavanja kretala oko vrijednosti 1.

Graf 5.2.C Heterotrofne bakterije - broj kolonija/cm³ po mjesecima i po lokacijama

5000 4500 broj kolonija /cm³ 4000 3500 3000

2500 2000 1500 1000 500 0 Heterotrofne bakterije broj kolonija/cm³ ZlaticaV ukovci "Lijevi krak rijeke "Desni krak rijeke Kraljeva glavica- "Tanki rt" Jezero Mora e" Mora e" Vranjina Lokaliteti Jan-17 Maj 2017 Jun-17 Avgust 2017 Septembar 2017 Novembar 2017 Decembar 2017 Jan-18 Brojnost heterotrofnih bakterija (Graf.5.2.C) najupečatljivija je za lokaciju Vukovci u toku novembra 2017. godine sa 4,500 bakterija. U toku avgusta (Graf.5.2.C) iste godine zabilježen je "pik" od preko 3000 za lokalitet "Lijevi krak rijeke Morače". Vrijednosti 4,500 i 3000 su ujedno maksimalno izračunate vrijednosti za ispitivane lokalitete, a minimalne vrijednosti heterotrofnih bakterija iznosile su 15 bakterija za "zimsko", odnosno, 11 za "ljetnje" ispitivanje. Izuzetno značajan parametar mikrobiološko-ekološkog pregleda voda je svakako ispitivanje fizioloških grupa bakterija u vodi istraživanih lokaliteta, jer ukazuju na opterećenost vode specifičnim materijama, a njihova kvantitativnost na moguću razgradnju tih materija, odnosno ukazuju nam na prirodu mikrobioloških procesa. Lokalitet Zlatica/Smokovac (Graf 5.2. D.) u januaru 2017. godine, pa u novembru iste godine bilježi svom minimum vrijednosti za amilolitske bakterije od 2 kolonija, a u novembru 8 kolonija u cm³. Na istom lokalitetu u januaru 2018. godine amilolitske bakterije, su brojčano upečatljivo dominirale nad ostalom grupom fizioloških mikroorganizama sa 2500 kolonija. Pik amilolitske bakterije su zabilježile na lokalitetu Desni krak rijeke Morače u toku septembarskog uzorkovanja sa 9000 bakterija. Graf. 5.2.D Amilolitske bakterije - broj kolonija/cm³ po mjesecima i po lokacijama 10000 broj kolonija /cm³ 9000 8000 7000 6000 5000 4000 3000 2000 1000 0 Amilolitske bakterije broj kolonija/cm³ ZlaticaV ukovci "Lijevi krak rijeke "Desni krak rijeke Kraljeva glavica- Vranjina "Tanki rt" Jezero Mora e" Mora e" Lokaliteti Jan-17 Maj 2017 Jun-17 Avgust 2017 Septembar 2017 Novembar 2017 Decembar 2017 Jan-18 Na osnovu Graf. 5.2.D na svim lokalitetima zabilježena je distribucija amilolitskih bakterije kroz istraživanje. Amilolitske bakterije (Graf. 5.2.D) zabilježile su apstinenciju na lokaciji "Lijevi krak rijeke Morače" tokom decembra 2017. godine. Upečatljiva je dominacija amilolitskih bakterija na lokaciji "Desni krak rijeke Morače" u toku septembra 2017. godine sa 9000 kolonija, opisana je kao "pik" na grafikonu. Smatra se da je vrijednost trenutno izazvana antropogenim zagađenjem. Sa (Graf. 5.2 E) za proteolitske bakterije 24,000 kolonija su izbrojane u novembru 2017, i to je njihova najveća brojnost, a 10 kolonije je najniža izbrojana vrijednost (Graf. 5.2 E). Ovako odstupanje se može protumačiti samo trenutnim zagađenjem nastalim antropogenim uticajem koje je zabilježeno uzorkovajem, odnosno istraživanjem. Graf. 5.2 E Proteolitske bakterije - broj kolonija/cm³ po mjesecima i po lokacijama Proteolitske bakterije broj kolonija/cm³ 70000 60000 broj kolonija /cm³ 50000 40000 30000 20000 10000 0 ZlaticaV ukovci "Lijevi krak rijeke "Desni krak rijeke Kraljeva glavica- "Tanki rt" Jezero Mora e" Mora e" Vranjina Lokaliteti Jan-17

May-17 Jun-17 Aug- 17 Sep-17 Nov-17 Dec-17 Jan-18

54

Na osnovu Graf. 5.2 E očitavaju se tri dominantna "pika": "Kraljeva glavica" Vranjina preko 60000 proteolitskih bakterija, u septembru 2017. godine, drugi "pik" je na lokalitetu "Tanki rt" u decembru 2018. godine 40000 proteolitskih bakterija, i treći pik je na lokalitetu Vukovci u toku novembrskog istraživanja sa 24000 bakterija/cm³. Kako je zagađenje tačkasto i trenutno, jasno je da se radi o trenutnom antropološkom zagađenju, sporadično na lokalitetima u različitim vremenskim intervalim Koristeći se Grafikom (5.2.F) konstatujemo da su lipolitske bakterije bile najbrojnije u toku septembarskog istraživanja sa 40000, a minimalno brojne tokom majskog istraživanja sa 20 bakterija. Grafik (5.2.F) nam prikazuje da su lipolitske bakterije konstantno identifikovane na svim lokacijama. Ujednačenost abundance na istaživanim lokacija, samo je u toku septembra 2017. godine promijenilo odstupanje na lokaciji "Tanki rt-ispod mosta Jezero, kada je brojnost lipolitskih bakterija dostigla vrijednost od 40000 kolonija/ cm³. Takođe, iz Graf. (5.2.F) vidimo da su zabilježena dva

manja "pika" u novembru 2017. godine sa vrijednostima od 5000 kolonija/cm³ na lokalitetu Vukovci i isto toliko na lokaciji Zlatica/Smokovac u decembru 2017. godine. Graf. 5.2 F. Lipolitske bakterije - broj kolonija/cm³ po mjesecima i po lokacijama broj kolonija /cm³ 50000 40000 30000 20000 10000 0 Lipolitske bakterije broj kolonija/cm³

Jan-17 Feb-17 Mar-17 Apr-17 May-17 Jun-17 Jul-17 Aug-17 Sep-17 Oct-17 Nov-17 Dec-17 Jan-18 33

Lokaliteti Zlatica Vukovci "Lijevi krak rijeke Mora e" "Desni krak rijeke Mora e" Kraljeva glavica-Vranjina "Tanki rt" Jezero

5.2.1 Statistička obrada podataka mikrobiološkog kvaliteta vode istraživanih lokacija Za ocjenu razlike u fiziološkom i sanitarnom aspektu sliva rijeke Morače između zimskog i ljetnjeg perioda za ukupan nivo kao i po lokacijama, kao i za ocjenu razlike u sanitarnom i fiziološkom aspektu između vode na lokaciji Zlatica, kao glavne tačke, i vode na drugim lokacijama (Vukovci, lijevi i desni krak Morače, Kraljeva glavica-Vranjina, Tanki rt-ispod mosta), korišten je Mann Whitney U test. Statističkom analizom, korišćenjem Mann Whitney U testa (Tabela 5.2.1 a) prikazane su maksimalne i minimalne vrijednosti tokom istraživanja, srednja vrijednost i standardna devijacija za sve grupe mikroorganizama na istraživanim lokacijama u toku 2017-2018. godine. Ukazano je na razlikama dobijenih rezultata za u toku "zimskog" i "ljetnjeg" uzorkovanja. Ocijenjene su razlike mikrobiološkog kvaliteta vode na istraživanim lokacijama kako u pogledu rezultata dobijenih opservacijom fizioloških grupa mikroorganizama, tako i u sanitarnom aspektu mikrobiološkog kvaliteta vode istraživanih lokacija, gdje je kao "nulta tačka" bila lokacija Zlatica/Smokovac, hipotetički zamišljena kao tačka bez ili sa smanjenim antropogenim uticajem, jer se geografski nalazi izvan uticaja grada Podgorice. Broj kolonija fakultativno-oligotrofnih bakterija kretao se zimi od 18 do 8000 kolonija po m³, a ljeti od 12 do 4200. 50% izmjerenih vrijednosti zimi bilo je više od 507 kolonija po m³, a ljeti više od 609 kolonija/m³ što se statistički značajno ne razlikuje (p = .529) (Grafik 5.2.1.A). Najviše kolonija po m³ izmjereno je u novembru za lokaciju Vukovci (8000), a najmanje u maju, svega 1. (Graf.5.2. A). Na osnovu Tabele 5.2.1.a vidimo da se broj kolonija heterotrofnih bakterija kretao se zimi od 15 do 4480 (lokacija Vukovci u novembru) kolonija po m³, a ljeti od 11 (lokacija Zlatica u junu) do 3100. 50% izmjerenih vrijednosti zimi bilo je više od 678.50 kolonija po m³, a ljeti više od 808.50 kolonija/m³ što se statistički značajno ne razlikuje (p = .665) 2 kolonija/m³, na lokaciji Tanki rt-ispod mosta (Graf.5.2.C). Broj kolonija amilolitskih bakterija kretao se zimi od 0 (lokacije Tanki rt ispod mosta, Kraljeva glavica i lijevi krak Morače u januaru i decembru) do 2500 kolonija po m³, a ljeti od 7 do 9000 (izmjereno na lokaciji desni krak rijeke Morače). 50% izmjerenih vrijednosti zimi bilo je više od 37.5 kolonija po m³, a ljeti više od 370 kolonija/m³. Značajno veći broj kolonija /m³ amilolitskih bakterija na ovoj lokaciji nađen je ljeti je (p = 0.014), te postoji statistički značajna korelacija. Tabela 5.2.1.a Rezultati statistički utvrđenih razlika u fiziološkom i sanitarnom aspektu sliva Morače za 2017/18. god. u zimskom i ljetnjem periodu Zima ljeta FO

Mean Std. Deviation Median Minimum Maximum Mean Std. Deviation Median Minimum Maximum 55

p 1569.63 2309.594 507.00 18 8000 954.58 1143.309 609.00 12 4200 0.52 9 H 951.00 1012.857 678.50 15 4480
844.88 831.546 808.50 11 3100 0.66 5 A 400.42 739.098 37.50 0 2500 807.96 1778.367 370.00 7 9000 0.01 4 P
6645.71 15456.24 2 400.00 24 64800 4200.92 13093.27 4 558.00 20 64000 0.99 2 L 930.46 1011.400 675.00 13 3800
1869.96 8125.081 126.00 7 40000 0.00 1 MPN 37047.5 0 78863.04 8 3800.00 440 240000 9945.25 20479.50 8 3800.0

0 96 96000 0.25 6 KB 53861.8 8 92907.04 0 14000.0 0 150 240000 25478.5 0 62180.38 9 3800.0 0 20 240000 0.19 6 FOH 1.5708 .95548 1.3100 .40 4.20 1.0063 .59142 1.0900 .10 2.27 0.03 8 FO- Fakultativno-oligotrofne bakterije (broj kolonija /cm³); H-Heterotrofne bakterije (broj kolonija /cm³); A- Amilolitske bakterije (broj kolonija /cm³) P- Proteolitske bakterije (broj kolonija /cm³); L- Lipolitske bakterije (broj kolonija /cm³); MPN- Najvjerovatniji broj koliformnih bakterija (broj kolonija /cm³); KB- Koliformne bakterije fekalnog porijekla (broj kolonija /cm³) FO/H-Odnos fakultativno-oligotrofne bakterije/heterotrofne bakterije. Grafik 5.2.1.A- Fakultativno-oligotrofne bakterije mjerene na 6 lokacija: Zlatica, Vukovci, Lijevi krak rijeke Morače, Desni krak rijeke Morače, Kraljeva glavica-Vranjina, Tanki rt - ispod mosta Ljetnji mjeseci: maj, jun, avgust, septembar 2017; zimski mjeseci: januar, novembar, decembar 2017. g i januar 2018.g. P = 0.529 Grafik 5.2.1.B- Heterotrofne bakterije mjerene na 6 lokacija: Zlatica, Vukovci, Lijevi krak rijeke Morače, Desni krak rijeke Morače, Kraljeva glavica-Vranjina, Tanki rt - ispod mosta. Ljetnji mjeseci: maj, jun, avgust, septembar 2017; zimski mjeseci: januar, novembar, decembar 2017. g i januar 2018., P = 0.665. Grafik 5.2.1 C Amilolitske bakterije mjerene na 6 lokacija: Zlatica, Vukovci, Lijevi krak rijeke Morače, Desni krak rijeke Morače, Kraljeva glavica-Vranjina, Tanki rt - ispod mosta. Ljetnji mjeseci: maj, jun, avgust, septembar 2017; zimski mjeseci: januar, novembar, decembar 2017. g i januar 2018., P = 0.014 Brojnost amilolitskih bakterija za lokalitet "Kraljeva glavica"-Vranjina se tokom uzorkovanja mijenjalo (Graf. 5.2.D). Sa grafika 5.2.D vidimo da je u novembru 2017. godina broj amilolitskih bakterija bio je 0, dok je recimo u toku maja, juna, avgusta i septembra 2017. godine i u toku januarskog uzorkovanja 2018. godina brojnost prelazila 200 kolonija/cm³. Variranje u brojnosti ovih fizioloških grupa bakterija nije sezonskog karaktera, što ukazuje na antropogeni uticaj na istraživane ekosisteme. Proteolitske i lipolitske grupe bakterija (tab 5.2.1.a) konstantno su se kretale od 10-1000 kolonija /cm³. Sa grafika (Graf. 5.2.1.D) uočavamo da je 50% izmjerenih vrijednosti "zimskog" uzorkovanje bilo je brojčano više od 400 kolonija po cm³, a za vrijeme „ljetnjeg“ više od 558 kolonija/cm³ što se tumači kao statistički neznačajno, tj. prikazano kao zaključak (p = 0.992) za sve ispitivane lokacije u toku oba uzorkovanja. Iz Tabele 5.2.1a vidimo da je proteolitska grupa mikroorganizama u toku ovog istraživanja bila je najabundantnija, te da je maksimalna vrijednost zabilježena u toku septembra 64,000 u septembru a najmanja sa 120 u toku novembra 2017. godine. Grafik 5.2.1 D Proteolitske bakterije mjerene na 6 lokacija: Zlatica, Vukovci, Lijevi krak rijeke Morače, Desni krak rijeke Morače, Kraljeva glavica-Vranjina, Tanki rt - ispod mosta Ljetnji mjeseci: maj, jun, avgust, septembar 2017; zimski mjeseci: januar, novembar, decembar 2017. g i januar 2018., P = 0.992 Broj kolonija lipolitskih bakterija (Tabela 5.2.1.a) u toku "zimskog" uzorkovanja kretao se od 13 do 3800 kolonija po cm³, a u toku "ljetnjeg" od 7 do 40000. 50% izmjerenih vrijednosti dobijenih statističkom obradom podataka, pokazuje da je za „zimsko“ uzorkovanje bilo je više od 675 kolonija po cm³, a za „ljetnje“ manje od 126 kolonija/cm³, što je statistički manje značajno (p =0.001). Grafik 5.2.1. E Lipolitske bakterije mjerene na 6 lokacija: Zlatica, Vukovci, Lijevi krak rijeke Morače, Desni krak rijeke Morače, Kraljeva glavica-Vranjina, Tanki rt - ispod mosta Ljetnji mjeseci: maj, jun, avgust, septembar 2017; zimski mjeseci: januar, novembar, decembar 2017. g i januar 2018., P = 0.001

5.3 Mikrobiološki kvalitet vode istraživanih lokaliteta i statistička obrada podataka

mikrobiološkog kvaliteta vode istraživanih lokacija u odnosu nasanitarni aspekt Sanitarni pokazatelji koji se primjenjuju u ocjeni prisustva patogenih mikroorganizama u vodi, su mikroorganizmi za koje su stalna životna sredina crijeva čovjeka i životinja. Prisutnost ovih mikroorganizama, njihova distribucija i populaciona dinamika indikatori su zagađenja i omogućavaju preciznu ocjenu stepena bakterijskog zagađenja vode. Tokom ovih istraživanja registrovano je prisustvo koliformnih bakterija fekalnog porijekla. Za izračunavanje ukupanog broja kolonija bakterija (MPN), sadržanih u 100 ml vode, korištene su specijalne tablice po Swaroopu. Urađena je identifikacija *Streptococcus faecalis*-a, *Enterococcus* sp., *Proteus* vrsta, *Clostridium perfringens* (Sulfidoredukujuće klostridije), *Pseudomonas aeruginosa*, kao i ostalih vrsta *Enterobacteria*. *Streptococcus faecalis* rijetko se nalazi sam u vodi. Obično je "udružen" sa drugom vrstom bakterija

kao npr. sa *Escherichia coli*, ili *Clostridium perfringens*-om. Njegovo prisustvo sa ma kojom od navedenih vrsta bakterija pokazatelj je skorijeg ili starijeg fekalnog zagađenja. Kao isključivi indikator fekalnog zagađenja enterokok je "manje osjetljiv" nego *Escherichia coli*, tj. nalazi se u manjem broju od nje, otprilike za sto puta.

Svi tipovi *Proteusa* su crijevne bakterije, a neki spadaju u aktivne truležne bakterije (*Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*). Prema tome, **njihovo prisustvo u vodi ukazuje ne samo na fekalno zagađenje već i na zagađenje organskim materijama u raspadanju**

31

. *Clostridium perfringens*-sulfidoredukujuće klostridije čest je parazit u

crijevima čovjeka i životinja. Njegove spore su otpornije od koliformnih bakterija i enterokoka u spoljašnjoj sredini

29

, pa se njihovo prisustvo u vodama, posebno udruženo sa nekim drugim enterobakterijama, smatra kao potvrda fekalnog zagađenja skorijeg datuma. Prisustvo sulfidoredukujućih klostridija u vodi ima sličan značaj kao i prisustvo enterokoka. Prisustvo *Pseudomonas aeruginosa* u vodi dokaz je fekalnog zagađenja. Nalaz *Pseudomonas aeruginosa*

sa nekom drugom bakterijom indikatorom fekalnog zagađenja, ukazuje **na skorašnje zagađenje** fekalijama i **takva voda je nesumljivo opasna**

29

. Ako se u ispitivanom uzorku vode nađe *Escherichia coli* "usamljena", tj. bez drugih bakterija, indikatora fekalnog zagađenja, mora se smatrati kao znak vremenski neodređenog, ali sigurnog fekalnog zagađenja, mada se može takođe protumačiti i kao pokazatelj "starih mikrobni gnijezda", pa takvu vodu treba smatrati epidemiološki sumnjom. Ako se *Escherichia coli* u vodi nađe zajedno sa bilo kojom drugom bakterijom, ili sa bilo kojom drugom enterobakterijom, takav nalaz ukazuje na skorašnje zagađenje fekalijama i takva je voda epidemiološki opasna. Istraživanja voda pomenutih lokaliteta Zlatica/Smokovac (1), Vukovci (2), "Lijevi krak rijeke Morače" (3), "Desni krak rijeke Morače" (4), "Kraljeva glavica"-Vranjina (5), "Tanki rt"-Jezero (6), sa sanitarnog aspekta prikazana su tabelarno (Tabele: 5.3.a.-5.3.f) Tabela 5. 3.a Mikrobiološka analiza kvaliteta vode lokaliteta Zlatica u toku 2017/2018. godine Rijeka Morača Zlatica-Smokovac (1) Ispitivani parametri Januar 2017 Maj 2017 Jun 2017 Avgust 2017 Septembar 2017 Novembar 2017 Decembar 2017 Januar 2018 Koliformne bakterije fekalnog porijekla 24000 3800 2400 2000 960 24000 1500 2700 Najvjerovatniji broj koliformnih bakterija 24000 2400 2400 1500 960 24000 1200 2500 *Streptococcus faecalis* - - - 2 - 2 - - *Proteus* vrste - - - - - - - - Sulfidoredukujuće klostridije - - - - - - - - *Pseudomonas aeruginosa* - - - - + - - IDENTIFIKACIJA BAKTERIJA *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter diversus*, *Serratia* sp. *Citrobacter* sp., *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter aerogenus*, *Escherichia coli*, *Citrobacter* sp, *Serratia* sp. *Klebsiella oxytoca*, *Streptococcus faecalis*, *Citrobacter* sp., *Pseudomonas aeruginosa* *Streptococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca* *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, *Citrobacter* sp. *Citrobacter freundii*, *Escherichia coli* Iz Tabele 5. 3. a vidimo da su koliformne bakterije fekalnog porijekla bile prisutne u vodi lokaliteta Zlatica/Smokovac tokom

cijelogodišnjeg istraživanja. Njihova brojnost se kretala od 960 kolonija/ 100 ml vode u avgustu pa do 24 000 u januaru i novembru 2017. Zabilježeno je prisustvo vrste *Streptococcus faecalis* tokom juna i novembra. Na osnovu Tabele 5.3. a uočavamo da je zabilježeno prisustvo bakterije *Pseudomonas aeruginosa*, u septembru 2017. godine. Identifikovane su sledeće bakterije fekalnog porijekla: *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter diversus*, *Serratia sp.* *Citrobacter aerogenus*, *Streptococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii* identifikovani su na lokalitetu. Sulfidoredukujuće klostridije i *Proteus* vrste nisu identifikovane. Iz grafika 5.3.A uočavamo da se najvjerovatniji broj koliformnih bakterija /m³ na lokaciji Zlatica se kretao od 1200 do 24000 u zimskom periodu, a od 960 do 2400 u ljetnjem periodu. 50% zimskih vrijednosti bilo je iznad 13250 kolonija/m³, a ljetnjih iznad 1950 kolonija/m³. Nema statistički značajne razlike ($p = 0.144$). Grafik 5.3.A nam je omogućio da vidimo da se broj koliformnih bakterija /m³ na lokaciji Zlatica se kretao od 1500 do 24000 u zimskom periodu, a od 960 do 3800 u ljetnjem periodu. 50% zimskih vrijednosti bilo je iznad 13350 kolonija/m³, a ljetnjih iznad 2200 kolonija/m³, pa samim tim nema značajne razlike u koliformnim bakterijama na lokaciji zlatica između ljeta i zime ($p = 0.245$). Grafik 5.3. A Najvjerovatniji broj koliformnih bakterija (1) i Koliforme bakterije fekalnog porijekla (2) za lokalitet Zlatica 12.. Na osnovu Tabela 5.3.b imamo predstavu o sanitarnom aspektu mikrobiološkog kvaliteta voda na lokalitetu Vukovci. Koliforme bakterije najveću brojnost su imale tokom januarskog uzorkovanja 24,000 bakterija/cm³, a najmanju vrijednost 440 bakterija/cm³. Prisustvo *Streptococcus faecalis* zabilježeno je tokom majskog i novembarskog uzorkovanja, a *Proteus vulgaris*-a u toku januara 2018. godine. *Pseudomonas aeruginosa* je identifikovan u avgustovskom, septembarskom i decembarskom istraživanju. Sulfidoredukujuće klostridije (1 kolonija) dokazane su u maju 2017. godine. Najčešće identifikovana koliforma bakterija fekalnog porijekla je *Escherichia coli*. Najvjerovatniji broj koliformnih bakterija /m³ na lokaciji Vukovci se kretao od 440 do 24000 kolonija/ m³ u zimskom periodu, a od 380 do 5000 kolonije/m³ u ljetnjem periodu. 50% zimskih vrijednosti bilo je iznad 3100 kolonija/m³, kao i ljetnjih ($p = 0.770$) Tabela 5.3.b Mikrobiološki kvalitet vode lokaliteta Vukovci u toku 2017/2018. godine Vukovci (2) Ispitivani parametri Januar 2017 Maj 2017 Jun 2017 Avgust 2017 Septem- bar 2017 Novembar 2017 Decembar 2017 Januar 2018 Koliformne bakterije fekalnog porijekla 24000 3800 3800 3800 5000 2400 3800 440 Najvjerovatniji broj koliformnih bakterija 2400 380 2400 3800 5000 24000 3800 440 *Streptococcus faecalis* - 2 - - - 38 - - *Proteus* vrste - - - - - - + Sulfidoredukuju- će klostridije - + 1 kolonija - - - - - *Pseudomonas aeruginosa* - - - + + - - IDENTIFIKACIJA BAKTERIJA *Escherichia coli*, *Enterobacter sp.*, *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis*, *Citrobacter sp.* *Escherichia coli*, *Citrobacter sp* *Klebsiella oxytoca*, *Pseudomonas aeruginosa* *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* *Streptococcus faecalis*, *Klebsiella oxytoca* *Escherichia coli* *Pseudomonas aeruginosa* *Escherichia coli*, *Klebsiella ascorbata*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella oxytoca*, *Proteus vulgaris* Grafik 5.3. B Najvjerovatniji broj koliformnih bakterija (1) i Koliforme bakterije fekalnog porijekla (2) za lokalitet Vukovci 12.. Na osnovu Grafika 5.3. B vidimo da se broj koliformnih bakterija fekalnog porijekla /m³ na lokaciji Vukovci se kretao od 440 do 24000 kolonija/ m³ u zimskom periodu, a od 3800 do 5000 kolonije/m³ u ljetnjem periodu. 50% zimskih vrijednosti bilo je iznad 3100 kolonija/m³, a ljetnjih 3800 što ne predstavlja značajnu statističku razliku ($p = 0.442$). Najvjerovatniji broj koliformnih bakterija /m³ na lokaciji Vukovci se kretao od 440 do 24000 kolonija/ m³ u zimskom periodu, a od 380 do 5000 kolonije/m³ u ljetnjem periodu. 50% zimskih vrijednosti bilo je iznad 3100 kolonija/m³, kao i ljetnjih ($p = 0.770$), što se ne može smatrati kao statistički značajna razlika. Tabela 5.3.c Mikrobiološka analiza kvaliteta vode lokaliteta "Lijevi krak rijeke Morače" u toku 2017/2018. godine "Lijevi krak rijeke Morače"(3) Ispitivani parametri Januar 2017 Maj 2017 Jun 2017 Avgust 2017 Septembar 2017 Novembar 2017 Decembar 2017 Januar 2018 Najvjerovatniji broj koliformnih bakterija 2400 3800 2400 3800 5000 2400 3800 4400 *Streptococcus faecalis* - - 2 - 3 - - *Proteus* vrste - - - - - - + Sulfidoredukujuće klostridije - + 1 kolonija - - - - -

Pseudomonas aeruginosa - - - + + - - IDENTIFIKACIJA BAKTERIJA Escherichia coli, Enterobacter sp., Escherichia coli, Citrobacter sp. Escherichia coli, Streptococcus faecalis, Citrobacter sp Klebsiella oxytoca Pseudomonas aeruginosa Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella pneumoniae Streptococcus faecalis, Klebsiella oxytoca Proteus vulgaris Escherichia coli Escherichia coli, Citrobacter freundii, Klebsiella oxytoca, Iz tab. 5.3.c uočavamo da se tokom ovog istraživanja na lokalitetu "Lijevi krak rijeke Morače" Streptococcus faecalis identifikovao u junjskog ali i u novembrarskom ispitivanju u toku 2017. godine. U novembru je takođe, zabilježeno prisustvo Proteus vulgaris-a. Prisustvo sulfidoredukujućih klostridija dokazano je u toku majskog uzorkovanja. Identifikovane su i bakterije fekalnog porijekla u više navrata i to: Escherichia coli, Citrobacter freundii, Klebsiella oxytoca, Citrobacter sp., Enterobacter sp., Pseudomonas aeruginosa, Streptococcus faecalis, Klebsiella oxytoca, Proteus vulgaris, što ukazuju na značajno organsko opterećenje ispitivanog lokaliteta. Grafik 5.3. C Najvjerovatniji broj koliformnih bakterija za lokalitet "Lijevi krak rijeke Morače" (1) Najvjerovatniji broj koliformnih bakterija (2) za lokalitet "Desni krak rijeke Morače" 12.. Iz Grafika C vidimo da se najvjerovatniji broj koliformnih bakterija /m³ na lokaciji Lijevi krak rijeke Morače se kretao od 2400 do 4400 kolonija po m³ u zimskom periodu, a od 2400 do 5000 kolonija/m³ u ljetnjem periodu. 50% zimskih vrijednosti bilo je iznad 3100 kolonija/m³, a ljetnjih iznad 3800 kolonija/m³. Najvjerovatniji broj koliformnih bakterija /m³ na lokaciji Lijevi krak rijeke Morače se značajno ne razlikuje između ljetnjeg i zimskog perioda (p = 0.544). Najvjerovatniji broj koliformnih bakterija /m³ na lokaciji Desni krak rijeke Morače se kretao od 2400 do 4400 u zimskom periodu, a od 2400 do 5000 u ljetnjem periodu. 50% zimskih vrijednosti bilo je iznad 3100, a ljetnjih iznad 3800 kolonija/m³ što ne predstavlja značajnu razliku (p = 0.544). Tabela 5.3.d Mikrobiološka analiza kvaliteta vode lokaliteta "Desni krak rijeke Morače" u toku 2017/2018. godine "Desni krak rijeke Morače" (4) Ispitivani parametri Januar 2017 Maj 2017 Jun 2017 Avgust 2017 Septembar 2017 Novembar 2017 Decembar 2017 Januar 2018 Najvjerovatniji broj koliformnih bakterija 2400 3800 2400 3800 5000 2400 3800 4400 Streptococcus faecalis - - 20 - - 23 - - Proteus vrste - - - - - - - - Sulfidoredukujuće klostridije - - - - - - - - Pseudomonas aeruginosa - - - - - - - - IDENTIFIKACIJA BAKTERIJA Escherichia coli, Enterobacter sp., Escherichia coli, Streptococcus faecalis, Citrobacter sp. Pseudomonas aeruginosa Escherichia coli, Streptococcus faecalis, Citrobacter sp Klebsiella oxytoca Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella pneumoniae Streptococcus faecalis, Klebsiella oxytoca Escherichia coli Escherichia coli, Klebsiella ascorbata, Citrobacter freundii Na osnovu (tab.5.3.d) vidimo da je u toku ovog istraživanja na lokalitetu "Desni krak rijeke Morače" identifikovano prisustvo koliformnih bakterija fekalnog porijekla kroz vrste: Escherichia coli, Enterobacter sp., Streptococcus faecalis, Citrobacter sp., Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella oxytoca, Klebsiella pneumoniae, Klebsiella ascorbata, Citrobacter freundii, što ukazuje na stalno prisustvo organske materije uzrokovano antropogenim uticajem. Prisustvo sulfidoredukujućih klostridija i Proteus vrsta nije zabilježeno. Na osnovu tab. 5.3.e. uočava se da je na lokaciji "Kraljeva glavica"-Vranjina u junu 2017. godine izbrojano 38 kolonija Streptococcus faecalis-a, 15 kolonija sulfidoredukujućih klostridija u toku septembarskog ispitivanja, a jedna kolonija u maju 2017.godine. Prisustvo Escherichia coli dokaz je konstantnog zagađenja, dok je prisustvo truleži (Proteus vrste) dokazano je u septembru 2017. godine. "rojenjem u /kroz podlogu". Identifikovana je bakterija Proteus vulgaris. U januaru 2018. godine dokazano je prisustvo Proteus mirabilis. Pseudomonas aeruginosa konstatovan je u toku juna i avgusta 2017.godine. Tabela 5.3.e. Mikrobiološka analiza kvaliteta vode lokaliteta "Kraljeva glavica"-Vranjina u toku 2017/2018. godine "Kraljeva glavica"-Vranjina (5) Ispitivani parametri Januar 2017 Maj 2017 Jun 2017 Avgust 2017 Septembar 2017 Novembar 2017 Decembar 2017 Januar 2018 Koliformne bakterije fekalnog porijekla 240000 3800 38000 3800 96000 4000 3800 24000 Najvjerovatniji broj koliformnih bakterija 240000 3800 38000 3800 96000 4000 3800 24000 Streptococcus faecalis - - 38 - - - - Proteus vrste - - - - - - - - Sulfidoredukujuće klostridije + 1 kolonija - - + 15 kolonija - - Pseudomonas aeruginosa - - + + - - -

IDENTIFIKACIJA BAKTERIJA *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Citrobacter sp.*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter divergens*, *Klebsiella oxytoca*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Providentia stuartii* Grafik 5.3. D Najvjerojatniji broj koliformnih bakterija (1) i Koliformne bakterije fekalnog porijekla (2) za lokalitet "Kraljeva glavica"-Vranjina 12.. Iz Grafika 5.3. D vidimo da se najvjerojatniji broj koliformnih bakterija /m³ na lokaciji Kraljeva glavica- Vranjina kretao od 3800 do 240000 u zimskom periodu, a od 3800 do 96000 u ljetnjem periodu. 50% zimskih vrijednosti bilo je iznad 14000 kolonija/m³, a ljetnjih 20900 što ne predstavlja statistički značajnu razliku (p = 0.767). Na osnovu Grafika 5.3. D uočavamo da se broj koliformnih bakterija fekalnog porijekla/m³ na lokaciji Kraljeva glavica-Vranjina kretao od 3800 do 240000 u zimskom periodu, a od 3800 do 96000 u ljetnjem periodu. 50% zimskih vrijednosti bilo je iznad 14000 kolonija/m³, a ljetnjih 20900 što ne predstavlja značajnu razliku (p = 0.767). Tabela 5.3.f Mikrobiološka analiza kvaliteta vode "Tanki rt"- ispod mosta u toku 2017/2018. godine "Tanki rt"- ispod mosta (6) Ispitivani parametri

Januar 2017	Maj 2017	Jun 2017	Avgust 2017	Septem- bar 2017	Novembar 2017	Decembar 2017	Januar 2018
240000	380	240000	20	96	240000	150	27000

Najvjerojatniji broj koliformnih bakterija 240000 24000 24000 150 96 240000 2000 27000

Streptococcus faecalis --- 10 - 20 -- *Proteus* vrste ----- Sulfidoredukujuće klostridije + 1 kolonija - + 5 kolonije --- *Pseudomonas aeruginosa* - + --- + -- IDENTIFIKACIJA BAKTERIJA *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter sp.*, *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter aerogenus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Citrobacter sp.*, *Serratia sp.*, *Klebsiella oxytoca*, *Streptococcus faecalis*, *Citrobacter sp.*, *Citrobacter amalonatiens*, *Streptococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, *Citrobacter sp.*, *Citrobacter freundii*, *Escherichia coli* Iz (tab. 5.3.f) vidimo da se u toku ovog istraživanja, na lokalitetu "Tanki rt" brojna poklapanja u brojnostima za koliformne bakterije fekalnog porijekla i najvjerojatnijeg broja koliformnih bakterija. To se desilo u toku januraj novembra 2017. godine, odnosno januara 2018. godine. Prisustvo *Streptococcus faecalis*, dokazano je dva puta u toku ovog istraživanja: u agustu i novembru 2017. godine. Klostridije su bile zabilježene u maju i septembru 2017.godine. Identifikacija bakterija dokazala je prisustvo: *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter aerogenus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Citrobacter amalonatiens*, *Enterobacter aerogenes*, *Citrobacter freundii*. Grafik 5.3.E Najvjerojatniji broj koliformnih bakterija (1) i Koliformne bakterije fekalnog porijekla (2) za lokalitet "Kraljeva glavica"-Vranjina 12.. Na osnovu Grafika 5.3.E vidimo da se najvjerojatniji broj koliformnih bakterija /m³ na lokaciji Tanki rt-ispod mosta Jezero kretao od 2000 do 240000 u zimskom periodu, a od 96 do 24000 u ljetnjem periodu. 50% zimskih vrijednosti bilo je iznad 133500 kolonije/m³, a ljetnjih iznad 12075 kolonija/m³ što ne predstavlja statistički značajnu razliku (p = 0.080). Broj koliformnih bakterija fekalnog porijekla/m³ na lokaciji Tanki rt-ispod mosta Jezero se kretao od 150 do 240000 u zimskom periodu, a od 20 do 24000 u ljetnjem periodu. 50% zimskih vrijednosti bilo je iznad 133500 kolonije/m³, a ljetnjih iznad 238 kolonija/m³ što ne predstavlja statistički značajnu razliku (p = 0.237). 5.4 Fenotipske karakteristike mikroorganizama u toku 2016-2018. godine Mikrobiološke zajednice imaju veliku adaptivnu sposobnost promjenama, u prostoru i vremenu, i na taj način predstavljaju sredstvo dovoljno jako da uspostavi dinamiku primjenjivu u ekološkim kontekstima. Svoje osnovne karakteristike mikroskopsku vidljivost i brz rast koriste za brze odgovore na prirodne sukcesije i eksperimentalnu manipulaciju koja se može generacijski pratiti. U prirodnim akvatičnim uslovima njihov glavni zadatak je razgradnja, reciklaža organske materije, te stoga imaju veliki uticaj na akvatične ekosisteme, predstavljaju glavni izazov u ekologiji, i moćan forum za razumijevanje ciklusa kruženja materije i energije u prirodi. Razumijevanje ciklusa standardnim metodama ne daje odgovor na mnoga pitanja, zato je pristup u ovom radu akcentat

stavljen na izučavanju fenotipskih karakteristika mikroorganizama na nivou fizioloških grupa ili zajednica (CLPP) a rezultati AMR, i CDM u ovom radu prikazani su poslije 48 sata inkubacije, kada je postignut maksimalni razvoj koloritosti. Dobijeni rezultati prikazani su grafički, a predstavljaju dvogodišnju opservaciju fenotipskih karakteristika sa posebnim osvrtom na razlike između "ljetnjeg" i "zimskog" režima voda. Nakog "monitoringa" voda na prisustvo EmS u vodama ispitivanih lokacija obavljenih u "zimskom" režimu 2013. godine, i "ljetnjem" režimu 2014. godine, dobijenih u maju 2015. godine, sprovedeno je dvogodišnje posmatranje fiziološke grupe mikroorganizama sa osvrtom na CLPP tj. na metabolički diverzitet fizioloških zajednica mikroorganizama. Graf. 5.4. A AMR istraživanih lokacija tokom 2016-2018.godiine Prikaz vrijednosti AMR istr a ivanih lokacija tokom 2019- 2018.godine 1.600 1.400 1.200 Vrijednost AMR 1.000 0.800 0.600 0.400 0.200 0.000 12345678 91 01 11 2 Sep-17 Jan-18 Aug-16 Dec-16 Legenda za Grafik 5.4. A: 1-Vranjina-"Kraljeva glavica"-Jezero-lipolitske, 2-Vranjina-"Kraljeva glavica"-Jezero- protrolitske, 3-"Tanki rt"-lipolitske, 4-"Tanki rt" -proteolitske, 5-Vukovci-lipolitske,6- Vukovci-proteolitske, 7-"Desni krak rijeke Morace"-lipolitske, 8-"Desni krak rijeke Morace"-proteolitske, 9-"Lijevi krak rijeke Morače"-lipolitske, 10-"Lijevi krak rijeke Morače"- proteolitske, 11-Zlatica-"Smokovac" -lipolitske,12-Zlatica-"Smokovac" -proteolitske Sa Graf. 5.4.A uočavamo da su se vrijednosti AMR kretale od 1,517 na lokaciji "Kraljeva glavica" Vranjina-Jezero, u toku "ljetnjeg" režima voda 2017. godine za lipolitsku grupu mikroorganizama, dok je najniža vrijednost zabilježena na lokaciji "Desni krak rijeke Morače" za proteolitsku grupu mikroorganizama sa vrijednošću 0,026. Koristeći se Graf. 5.4. A vidimo da je tokom "ljetnjeg" uzorkovanja 2016. godine najveća vrijednost za AMR bila 1, a utvrđena je na lokaciji "Tanki rt" za lipolitsku grupu bakterije. Pomoću Graf. 5.4.A možemo da vidimo da je tokom januarskog istraživanja 2018. godine na lo- kalitetu Vukovci proteolitska grupa mikroorganizama zabilježila maksimalna vrijednost AMR-od 1,009; a minimalnu vrijednost AMR u toku tog januarskog ispitivanja bila je 0,053 na "Desnom kraku rijeke Morače" za proteolitske bakterije. Prema rezultatima sa Graf 5.4. A minimalna vrijednost AMR-a u toku "zimskog" aspekta voda za 2016. godinu, dokazana je na lokaciji "Lijevi krak rijeke Morače" za proteolitsku grupu mikroorganizama, dok je maksimalna vrijednost AMR-a, izračunata na lokaciji "Kraljeva glavica"-Vranjina-Jezero za protrolitsku grupu mikroorganizama. Prema rezultatima za srednju vrijednost AMR-a, najveća srednja vrijednost je izračunata na lokalitetu 0,672 Vranjina-"Kraljeva glavica"-Jezero-lipolitske, slijedi sa 0,611 Tanki rt"-lipolitske. Treća po veličini srednja vrijednost od 0,544 je izračunata za lokalitet Vukovci-proteolitske,dok je najmanja srednja vrijednos AMR iznosila 0,123 za lokalitet Zlatica-"Smokovac" -lipolitske. Ukupna srednja vrijednost za AMR je iznosila 0,423 Graf. 5.4.B Vrijednost CMD za ispitivane lokacije tokom 2016-2018.godine. 12 41 11 10 3 4 30 4849 9 50 8 7 6 3 7 20 27 31 38 57 5 51 57 4 3 2 3 3 5 29 30 42 1 32 58 dec.16 avg.16 jan.18 sept.17 1-Vranjina-"Kraljeva glavica"-Jezero-lipolitske, 2-Vranjina-"Kraljeva glavica"-Jezero- protrolitske, 3-"Tanki rt"-lipolitske, 4-"Tanki rt" -proteolitske, 5-Vukovci-lipolitske,6- Vukovci-proteolitske, 7-"Desni krak rijeke Morace"-lipolitske, 8-"Desni krak rijeke Morace"-proteolitske, 9-"Lijevi krak rijeke Morače"-lipolitske, 10-"Lijevi krak rijeke Morače"- proteolitske, 11-Zlatica-"Smokovac" -lipolitske,12-Zlatica-"Smokovac" -proteolitske Na osnovu (Graf. 5.4. B) uočavamo da je vrijednost CMD bila najveća na lokalitetu "Kraljeva glavica"-Vranjina-Jezero za lipolitske bakterije u toku „ljetnjeg" uzorkovanja 2017. godine sa vrijednošću 58. Vrijednosti CDM su bile za jedan manja na lokalitetu"Vukovci" za proteolitsku grupu bakterija. Koristeći se (Graf. 5.4. B) možemo da vidimo da se u toku septembra 2017. godine vrijednost za CDM nalazila u opsegu od 3 na lokacijama"Tanki rt" -proteolitske, Desni krak rijeke Morace"-lipolitske i Zlatica-"Smokovac" -lipolitske pa do maksimalne vrijednosti od 58 na lokalitetu "Kraljeva glavica"-Vranjina-Jezero.. Januarsko uzorkovanje u toku 2018. godine, prikazuje sasvim drugačiji metabolički odgovor fizioloških grupa mikroorganizama. Najveća vrijednost CDM zabilježeno je na lokaciji Vukovci za lipolitsku grupu bakterija 57; zatim slijedi neznatno niža vrijednost CDM za lokaciju "Lijevi krak rijeke Morače",takođe za lipolitsku grupu bakterija 50; pa 48 na lokaciji Lijevi krak rijeke Morače" za

proteolitsku grupu mikroorganizama. U toku 2016. godine fenotipski odgovor je bio znatno slabiji i manji i u toku „zimskog“ ali i u toku „ljetnjeg“ uzorkovanja. To dokazuju i dobijene vrijednosti. Na osnovu Grafika 5.4. B vidimo da je maksimalna zabilježena vrijednost CMD za istraživane lokacije bila za "Kraljeva glavica"-Vranjina-Jezero za lipolitsku grupu mikroorganizama 40, da sa vrijednošću slijedi lokalitet "Tanki rt"-ispod mosta-Jezero-lipolitska grupa mikroorganizama, pa 30 za lokalitet "Kraljeva glavica"-Vranjina -Jezero-proteolitsku grupu mikroorganizama. Evidentno je da se promjene dešavaju i da se fenotipski mikroorganizmi mijenjaju, ali za to je potrebno vrijeme i generacijske promjene mikroorganizama, što je prikazano tabelom 5.4.a za ljetno 2017. godine kada su evidentirane i najveće promjene u AMR i CMD. Najveća srednja vrijednost CDM je bila na lokalitetu Vranjina-"Kraljeva glavica"-Jezero-lipolitske 35, a najmanja je zabilježena na Zlatica-"Smokovac" -lipolitske 16,5. Srednja vrijednost CDM za sve lokalitete se kretala između najmanje i najveće izračunate vrijednosti po lokalitetima i iznosila je 26. Na osnovu (tab.5.4.a) vidimo da je D-ksiloza registrovana na svim lokacijama izuzetak je lokalitet "Tanki rt" lipolitske bakterija. Putrescin je registrovan na lokaciji Vukovci za obje fiziološke grupe mikroorganizama. Grupa polimernih jedinjenja nije evidentirana na lokacijama ("Tanki rt"-proteolitske, Zlatica-"Smokovac"-lipolitske, Zlatica-"Smokovac"-proteolitske). Iz tabele 5.4.a vidimo da amino kiseline kao izvor C nisu korištene tokom našeg istraživanja na lokalitetima ("Tanki rt"-proteolitske, Zlatica-"Smokovac"-lipolitske). Na lokalitetima ("Desni krak rijeke Morace"- lipolitske, "Desni krak rijeke Morace"-proteolitske i Zlatica-"Smokovac"-lipolitske) nisu uopšte dokazane ugljene kiseline. Tabela 5.4.a Fenotipske karakteristike mikroorganizama tokom 2017. godine

Izvori C /Ugljeni-hidrati	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
D-Celiobioza	α-D-Lactoza	β-Metil-D-Glukozid	D-Ksiloza	i-Eritritol	D-Manitol	N-Acetil-D-Glkozamid	α-Ciklodekstrin	Izvori C /Karboksilne kiseline	***** 1	***** 2	3
D-Glukozaminska kiseline	***** 4	5	***** 6	7	8	9	10	11	12	*** 12	*
γ-lakton D-Galakturozna kisjelina	2-Hidroksi benzoična kisjelina	4- Hidroksi benzoična kisjelina	γ-Hidrobutirinska kisjelina	Itakonična kisjelina	α-Ketobutirična kisjelina	D-Maleinna kisjelina	Glicil-L-Glutaminska kisjelina	D-Galaktoninozna kisjelina	*****	Izvori C /Fosforilati	1
2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
Glukoza-1 Fosforilat	D,L-α-Glicerol Fosforilat	Izvori C / Esteri Metil Estar	Piruvatne kiseline	Izvori C/ Amino kiseline	L-Arginin	L-Asparagin	L-Fenilalanin	L-Serin	L-Treonin	Izvori C/ Amini	Fenilenetil amin
** 1	* 1	*** 1	2	** 2	3	* 3	*** 3	4	4	** 5	* 5
*** 5	** 6	* 6	*** 6	* 7	** 7	*** 7	8	** 8	* 9	** 9	10
* 10	* 10	* 11	11	11	* 12	** 12	** 12	Putrescin	Izvori C/ Polymeri	Tween 40	Tween 80
Glikogen	* 1	** 2	** 3	** 4	* 5	** 6	*** 7	* 8	* 9	* 10	** 11
12	1-Vranjina-"Kraljeva glavica"-Jezero-lipolitske,	2-Vranjina-"Kraljeva glavica"-Jezero-protrolitske,	3-"Tanki rt"-lipolitske,	4-"Tanki rt" -proteolitske,	5-Vukovci-lipolitske,	6-Vukovci-proteolitske,	7-"Desni krak rijeke Morace"-lipolitske,	8-"Desni krak rijeke Morace"-proteolitske,	9-"Lijevi krak rijeke Morače"-lipolitske,	10-"Lijevi krak rijeke Morače"- proteolitske,	11-Zlatica-"Smokovac" -lipolitske,
12-Zlatica-"Smokovac" -proteolitske. Tabelom (5.4.a) je prikazano da je lokalitet Vranjina-"Kraljeva glavica"-Jezero-lipolitske,pokazao 22 promjene, Vukovci lipolitske i proteolitske 21 promjenu, "Lijevi krak rijeke Morače"-lipolitske 16 promjena., dok su najmanje promjena pokazali lokaliteti: "Tanki rt" -proteolitske, "Desni krak rijeke Morace"-proteolitske i Zlatica-"Smokovac" -lipolitske sa samo 2 promjene.											

5.5 Rezultati „Skrining“ ispitivanja za EmS tokom 2013-2014. godine U toku 2013-2014. godine na lokalitetima obilježenim ovim redom: 1. 1.Vukovci; 2."Lijevi krak" rijeke Morače; 3."Desni krak" rijeke Morače; 4."Kraljeva glavica"-Vranjina ; 5."Tanki rt" Jezero, vršeno je "Skrining" ispitivanje uzoraka vode, sa ciljem utvrđivanja prisustva Em supstanci. Tabela 5.5.a Detektovane i identifikovane EmS Lokalitet/ Datum uzorkovanja Detektovani Identifikovani

Lokalitet/ Datum uzorkovanja	Detektovani	Identifikovani
1,2,3- (11.2013)	272	78
4,5- (11.2013)	187	34
1,2,3- (08.2014)	34	5
4,5- (08.2014)	35	2

Iz Tabele (tab. 5.5.a) vidimo da na lokalitetima "Desni krak rijeke Morače", "Kraljeva glavica"-Vranjina-Jezero, Vukovci za "zimski skrining" ukupno je detektovano 272 hemikalije, a 78 identifikovano. Na lokacijama "Lijevi krak rijeke Morače", "Tanki rt"-ispod mosta-Jezero, detektovano 187 hemikalije a

identifikovano 34. Tabela 5.5.a pokazuje utvrdimo da je na svim lokacijama za vrijeme „ljetnjeg skrininga“ detek- tovano je ukupno 69, a identifikovano 7 hemikalija. Tabela 5.5. b Rezultati „skrining“ ispitivanja EmS u toku novembra 2013. godine za istraživane lokacije RT (min) Komponente Podudaranje Biblioteka Lokaliteti

90,331 Hexadecanoic acid (CAS); Palmitic acid 99 WILEY 2 96,817 9-Octadecenoic acid (Z)- (CAS); 1
Oleic acid; 99 WILEY 3 99,507 9-Octadecenoic acid (Z)- (CAS); Oleic acid; 99 WILEY 1,2,4 92,81
Hexadecanoic acid (CAS); Palmitic acid; 99 WILEY 1,3,5 91,167 Octadecanoic acid 99 WILEY 1,2,3,4,5
22,613 dl-Limonene; Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)- 98 WILEY 1 81,201 Hexadecanoic acid,
methyl ester (CAS); Methyl palmitate 97 WILEY 1 90,911 9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester (CAS);
Methyl oleate; 97 WILEY 1 97,66 Oleic Acid; 9-Octadecenoic acid (Z)- 97 WILEY 2 102,855 9,12-
Octadecadienoic acid (Z,Z)- (CAS); Linoleic acid; 97 WILEY 2,3

14,369 Disulfide, dimethyl 95 WILEY 1 95,673 Octadecanoic acid (CAS); Stearic acid; 91 WILEY 1 1
83,963 Benzoic acid, 2-hydroxy-, phenylmethyl ester (CAS); Benzyl salicylate; 90 WILEY 1,2,3,4,5

97,129 9-

Octadecenoic acid, (E)- 89 NIST 3 46,969 1-Octanol 87 NIST 1,2,3,4,5 100,73 Dibutyl phthalate 1
85 NIST 1,2,3,4,5

26,647 1-

Pentanol (CAS); Amylol 83 WILEY 1 44,716 Undecane, 3-methyl- 82 NIST 1,2,3,4,5 22,607 1
Bicyclo [4.1.0]heptane, 7-(1-methylethylidene)-; 81 PBM 2,5 38,266 Decane, 2-methyl- 81 NIST 2,3,4,5

23,548 1-

Butanol, 3-methyl- (impure) 80 WILEY 1 53,488 Nonane, 1-chloro- 80 NIST 1 60,926 Dodecane, 1
2,6,10-trimethyl- 79 NIST 1,2,3,4,5 93,869 Hexadecenoic acid, Z-11-; 78 WILEY 2 81,9 3-
Ethylidibenzothiophene; 78 WILEY 1,2 20,915 trans-3-Penten-2-ol 78 NIST 1,2,3 87,389 Cyclohexane,
nonadecyl- 78 NIST 1,2,3,4,5

30,065 2-

Pentanol, 4-methyl- 76 NIST 1 53,331 2-Furanmethanol 75 NIST 3 43,798 n-Caproic acid vinyl ester 75 NIST 2,3 ,5 41,142 dihexylsulfide 74 WILEY 2,4 17,101 2-Butanol, 3-methyl- 74 NIST 4,5 88,203 Heneicosane, 11-(1-ethylpropyl)- 74 NIST 1,2,3,4,5

1

30,264 2-

Propanone, 1-hydroxy- 72 NIST 3 60,735 2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, (Z)- ; (Nerol) 72

1

NIST 1,3,4,5 78,332 2,6-

Diisopropylnaphthalene 72 NIST 1,2,3,4,5 101,884 Sulfurous acid, butyl dodecyl ester 71 NIST 2,3,4,5 73,997 Disulfide, di-tert-dodecyl 71 NIST 1,2,3,4,5

1

104,383 Diisooctyl adipate

71 NIST 1,2,3,4,5 50,169 Cyclohexane, octyl- 70 NIST 2 74,823 1-Octanol, 2-butyl- 70 NIST 5 93,365 Allopregnane; Pregnane, (5.alpha.)- 70 WILEY 2,4,5 82,792 1-Heneicosyl formate 70 NIST 1,2,3,4,5

1

41,669 3-

Furaldehyde 69 NIST 3 82,815 Tridecane, 6-cyclohexyl- 69 NIST 1,4 54,069 3,3,5,5-Tetramethylcyclohexanol 69 NIST 2,3 81,116 7,7-Diethylheptadecane 69 NIST 2,3,5

1

,1 23,043 2-

Oxabicyclo[2.2.2]octane, 1,3,3-trimethyl-;Eucalyptol 67 NIST 1 46,421 1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl- 67 NIST 4

1

,5

103,74 17-Octadecynoic acid 66 NIST 3 96,316 Sulfurous acid, butyl pentadecyl ester 66 NIST 4 1
58,105 1-Decanol 66 NIST 1,2,3 65,481 Octadecane, 3-methyl- 66 NIST 2,3,4 79,368 Hydroxylamine,
O-decyl- 66 NIST 1,2,3,4,5 31,664 Acetic acid, (1,2-dimethyl-1-propenyl) ester 65 NIST 2 65,136 2-
Bromotetradecane 65 NIST 2,3,4 72,967 Isopropyl myristate 64 NIST 1 97,762 Bicyclo[3.1.1]heptan-3-one,
2,6,6-trimethyl-, (1.alpha.,2.alpha.,5.alpha.)-; Pinocamphone; 64 WILEY 1 13,09 Methane, dichloro- (CAS);
Dichloromethane; R 30; Freon 30; Narkotil; 64 WILEY 2 72,921 Cyclohexane, tetradecyl- 64 NIST 2 49,205 2-
Propanol, 1-hydrazino- 64 NIST 1,3 59,371 1-Chloroundecane 64 NIST 1,3 61,381 1-Tridecyne 64 NIST 1,3
104,062 17-Octadecynoic acid 64 NIST 2,4 78,66 1-Tricosanol 64 NIST 1,2,3,4,5 68,95 Phytol 62 NIST 2
103,822 Octadecanoic acid, 2,3-dihydroxypropyl ester 62 NIST 2 45,182 1,3-Dioxan-4-one, 2-(1,1-
dimethylethyl)-6-methyl- 62 NIST 2,3 58,919 7-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl-, (S)- 62

NIST 1,4,5 63,287

Trifluoroacetyl-lavandulol 62 NIST 2,4,5 72,951 8-Azabicyclo[3.2.1]octan-3-amine, 8-methyl- 62 1
NIST 3,4,5

28,949 2,4-

Dithiapentane; Formaldehyde dimethyl mercaptal 61 NIST 1 104,534 Octadecanoic acid, 3-oxo-, 1
methyl ester 61 NIST 1 59,669 2-Methyl-1-undecanol 61 NIST 1,2,3 85,038 Oxalic acid ,
cyclohexylmethyl tetradecyl ester 61 NIST 1,3,4,5 66,51 Benzeneethanol (CAS); Phenethyl alcohol 60
NIST 1 83,477 Phenol, 2,6-dimethoxy- 60 NIST 1 98,516 Myristoyl chloride 60 NIST 1 72,528 Octadecane, 1-
(ethenyloxy)- 60 NIST 2 45,569 2-Heptanol, acetate 60 NIST 2,3 56,085 4-Pyridinol-1-oxide 60 NIST 2,3
103,78 Hexanedioic acid, dioctyl ester 60 NIST 4,5 92,915 1-Decanol, 2-octyl- 60 NIST 2,4 ,5 83,162 1-
Tricosanol 60 NIST 1,2,3,4,5

1.Vukovci; 2.“Lijevi krak” rijeke Morače; 3.“Desni krak” rijeke Morače; 4.“Kraljeva glavica”- Vranjina ; 5.“Tanki rt”-ispod mosta. Tokom analiza koristena je NIST i WILEY datoteka podataka. Svaka hemikalija ima svoje retenciono vrijeme za odvajanje komponenti (Rt) koje se mjeri u minutima. Podudaranje koje je prihvatljivo za komponente “Skrining” je prihvatljivo do 60. Iz tabele Tabela 5.5. b zabilježeno je prisustvo EmS u vodi svih lokaliteta, ali i ostataka EmS, sa posebnim osvrtom na prisustvo jedne od najznačajnije klase EmS- farmaceutika (PhACs). Ukupno je identifikovano 12 hemikalija sa CAS brojem, Iz tabele Tabela 5.5. b vidimo da je su na svim lokalitetima identifikovane hemikalije ili njihove solmabilne komponente: Benzyl salicylate, Hydroxylamine, 1-Tricosanol, Octadecanoic acid, 1-Octanol, Dibutyl phthalate, Undecane, 3-methyl-Dodecane, 2,6,10-trimethyl-,Cyclohexane, Heneicosane, 11-(1-ethylpropyl), 2,6-Diisopropyl-naphthalene, Disulfide, di-tert-dodecyl, 1-Tri- cosanol, Acetic acid, (1,2-dimethyl-1-propenyl) ester. Ove komponente se koriste u industriji sapuna, šampona, hemijskoj idustriji, ostaci iz indutrije farbi i boja, industriji parfema i

krema. Zapaženo je i prisustvo ostataka farmaceutika, pesticida, anestetika, plastifikanata. Zajedničko je da im prirodno stanište nisu prirodne i čiste vode, takođe, da se ne mogu ukloniti poznatim načinima prečišćavanja ispusnih komunalnih i otpadnih voda. Tabela 5.5.c Rezultati "Skrining" ispitivanja EmS u toku avgusta 2014. godine za istraživane lokalitete RT(min) Komponente Podudaranje Formula n.Scan Lokaliteti 12,215 unknown 39 3,5 14,208 unknown chloric compound 647 1,2,5 14,605 Propane, 1-iodo-2,2-dimethyl- 80 C5H11I 768 1,2,3,5 15,596 Butane, 1-iodo-2-methyl- 83 C5H11I 1107 1,2,3,5 17,54 1-Butanol, 3-methyl-, acetate 90 C7H14O2 1663 1,2,3,5 18,16 Benzene, 1,3-dimethyl- (CAS); m-Xylene; 93 C8H10 1852 1,2,3,5 18,508 Benzene, 1,2-dimethyl- (CAS); o-Xylene; 80 C8H10 1958 1,2 20,81 3-Penten-2-ol 86 C5H10O 2660 1,2,3,4,5 21,557 Benzene, ethyl- 90 C8H10 2888 1,2 23,391 Isoamylalcohol 72 C5H12O 3447 1,2 23,482 1-Butanol, 3-methyl- (impure) 72 C5H12O 3475 3 24,483 unknown benzene compound 3780 2 25,82 unknown 4188 2,3 27,067 Styrene; benzene, ethenyle- 83 C8H8 4568 2,3 28,529 Benzene, 1-ethyl-3-methyl- (CAS); Toluene 80 C9H12 5014 1,2,3 29,074 unknown nitrogen compound 5180 1,2,3,4,5 30,553 2-pentanol, 4-methyl- (MAOH) 78 C6H14O 5631 1,2,3,4,5 31,609 2-Buten-1-ol, 2-methyl- 86 C5H10O 5953 2,3,4,5 32,392 Benzene, 1,2,4-trimethyl- (CAS); Pseudocumol; Pseudocumene 91 C9H12 6192 1,2,3 33,199 Ethanol, 2-methoxy- 72 C3H8O2 6438 1,2,3 34,468 unknown benzene compound 6825 2,3 36,806 unknown 7538 3 37,961 Pyridine, 2-ethenyl- (CAS); 2-Vinylpyridine 91 C7H7N 7890 1,2,3 38,019 unknown 7908 4,5 40,8 unknown phenolic compound 8756 3 42,725 1-Hexanol, 2-ethyl- (CAS); 2-Ethylhexanol 59 C8H18O 9343 4 44,444 unknown nitrogen compound 9867 3 44,975 unknown benzene compound 10029 3 46,024 unknown 10349 2,3 53,367 Benzene, (2,2-dimethylpropoxy)- 83 C11H16O 12588 2,3 66,543

Phenol, 4,6-di(1,1-dimethylethyl)/2/methyl 83 C15H24O

59

16606 1 71,2 unknown 18026 3 76,6 Hexadecane 78 C16H34 19673 5 80,788 unknown 20950 5 81,211 Isohexadecene 78 C16H34 21079 2,4,5 82,507 unknown 21474 5 83,533 unknown 21787 5 84,212 unknown 21994 5 84,74 unknown 22155 5 85,32 unknown 22332 4 85,327 unknown 22334 1 85,33 unknown 22335 2 85,346 unknown phenolic compound 22340 5 85,605 Nonadecane 86 C19H40 22419 2,4,5 85,779 unknown 22472 2 86,691 unknown 22750 5 87,16 unknown 22893 5 87,868 unknown 23109 5 88,488 unknown 23298 5 89,813 Heneicosane 90 C21H44 23702 2,4,5 90,941 unknown amine compound 24046 5 91,554 unknown 24233 5 93,843 unknown 24931 2 93,889 unknown alkane 24945 2,5 94,656 unknown phthalate compound 25179 2 95,919 unknown 25564 5 97,808 unknown alkane 26140 2,5 99,241 unknown 26577 5 99,91 unknown 26781 5 100,674 Dibuthyl phthalate 78 C16H22O4 27014 1, 2,3,4,5 101,645 unknown 27310 5 102,274 unknown 27502 5 1. Vukovci; 2. "Lijevi krak" rijeke Morače; 3. "Desni krak" rijeke Morače; 4. "Kraljeva glavica"- Vranjina ; 5. "Tanki rt"-ispod mosta. U toku ljeta 2014. godine (www.mrt.gov.me), u Crnoj Gori zabilježeno je 50 tropskih dana sa temperaturom iznad 300C. Nizak vodostaj na ispitivanim lokacijama uslovio je migriranje emergenata u sediment i malu brojnost hemikalija, a veliki i znatan broj nepoznatih djelova hemikalija koji su rastvorljivi u vodi Na osnovu (tab.5.5.c), možemo da konstatujemo da su za vrijeme "ljetnjeg skrininga" na svim lokacijama identifikovane hemikalije: 3-Penten-2-ol, Dibuthyl phthalate, 2-pentanol, 4-methyl- (MAOH), koje se koriste u različite svrhe kao npr. kao plastifikani, farmaceutici, a neke je moguće koristiti u industriji sapuna, krema i dezifisijenasa. Iz tabele (tab.5.5.c) brojima 62 komponente kojima je mjereno RT(min), samo je ustanovljena podudaranje bilo kod 24 komponente, a određene su 6 komponenti sa Cas brojeem. To su: Hexanol, 2-ethyl- (CAS); 2-Ethylhexanol, Pyridine, 2-ethenyl- (CAS); 2-Vinylpyridine, Benzene, 1,2,4-trimethyl- (CAS); Pseudocumol; Pseudocumene, Benzene, 1-ethyl-3-methyl- (CAS); Toluene, Benzene, 1,2-dimethyl- (CAS); o-Xylene; Benzene, 1,3-dimethyl- (CAS); m-

Xylene. 5.6 Rezultati analize koncentracije EDCs i PhACs u tkivu riba Tkivo vrsta: Rutilus prespensis, Squalius platyceps, Sardinius Knezevici, Chondrostoma ohridanum, Alburnus alburnus i Ciprinus carpio ispitane su na prisustvo EDCs i PhACs a njihove koncentracije date tabelarno. Rezultati analize koncentracije EDCs i PhACs u tkivu riba prikazani su tabelarno tabelama Tabela 5.6. a i Tabela 5.6. b. Tabela 5.6.a odnosi se na rezultate EDCs u tkivima riba, dok je tabelom 5.6.b dati rezultati 20 vrste farmaceutika na koje su ispitivani uzorci tkiva riba. Zastupljeni su različite grupe lijekova: lijekovi za kardiovaskularna oboljenja i hipertenziju, različiti neurološki lijekovi i lijekovi za epilepsiju, antianksiozitivi, antidepresivi, lijekovi koji se koriste za opuštanje mišića, antikoagulant, antihelmintici, lijekovi za inhaliranje, za bolove i temperaturu kao i diuretici Iz tabele 5.6.a vidimo da je analizirano više različitih grupa EDCs kao i prioriternih supstanci prvenstveno plastifikanata, toksikanata, prirodnih i vještačkih hormona, prisustvo anti bakterici- da i anti fungicida, raznih komercijalnih deterdženata i hemikalija koje se koriste u kozmetičkoj industriji, antikorozi i kofeina. Na osnovu Tabele 5.6.a vidimo da 1-H-benzotrizol nije bio mjerljiv. Sa iste tabele možemo utrditi da u tkivima riba koncentracija kofeina, progesterona, levonogestrala, tolitriazola, TCEP-a, TBEP-a, TCCP-a, estona, estradiola estriola, etinil-stradiola, estron sulfata, bifenil A., metilparena, metilparena, propilparena i benzilparena se nalazila ispod minimum koncentracije analita koji može biti identifikovan. Utvrđeno je prisustvo "Triclosan"-a u koncentraciji 14,1±1,3µg/L i to samo u tkivu Alburnus alburnus. Nađena hemikalija se najčešće koristi u kozmetičkoj industriji (za pravljenje sapuna koji su antibakterijski i antimikotični), ali i u farmaceutskoj industriji kao komponenta antibiotika. Međutim, upravo ova karakteristična osobina "Triclosana", omogućava često korporiranje sa drugim elementima, te da služi i kao baza za spravljanje insekticida. Tabela 5.6 a Rezultati ispitivanja tkiva riba na prisustvo EDCs tokom 2016.godine Sample name Rutilus prespensis Squalius platyceps Sardinius Knezevici Chondrostoma ohridanum Ciprinus carpio Alburnus alburnus LOD LOQ EDCs 1-H-benzotri- zoles NM NM NM NM NM NM Caffeine < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD 0,3255 1,0849 Progesterone <

LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD 0 ,0158 0 ,0526 Levonorgestrel < LOD < LOD < LOD < 49
LOD < LOD < LOD

0,0002 0,0006 Tolytriazole NM NM NM NM NM NM NM TCEP < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD 0,25 0,84 TBEP <

LOQ < LOQ < LOQ < LOQ < LOQ < LOQ 0 ,07 0 ,27 TCCP < LOQ < LOQ < LOQ < LOQ < LOQ < 50
LOQ

25,40 84,80 Estrone < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD 0,0030 0,0099 17β-Estradiol < LOD <

LOD < LOD < LOD < LOD < LOD 0,01 0 ,05 Estriol < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < 9

0,0002 0,0007 17-α-Ethinylestra- diol <

LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD 0 ,0004 0 ,0014 Estrone- 3 -sulfate < LOD < LOD

57

<

LOD < LOD < LOD < LOD 0 ,0007 0 ,0022 Bisphenol A < LOD < LOQ < LOQ < LOQ < LOQ < LOQ 0
,02 0

5

,07 Triclosan < LOQ < LOQ < LOQ < LOQ < LOQ 14,1±1,3 0,0018 0,0061 Methylparaben < LOD < LOQ < LOQ < LOQ < LOQ <
LOQ 0,01 0,03 Ethylparaben

NM NM NM NM NM NM Propylparaben NM NM NM NM NM NM Benzylparaben NM NM

47

NM NM NM NM Objašnjenje: NM-nije mjerljivo; < LOD je minimum koncentracije analita koji može biti identi- fikovan; < LOQ-Minimalni analitički kvantifikacioni nivo. Iz tab. 5.6.b vidimo da su dobijeni rezultati ispitivanja za Atenolola, Carazolola Nadolola, Pro- panolola, Sotalola, Carbamazepina, Citalopram, Diazepam, 10,11-EpoxyCBZ-a, Lorazepam, Sertraline, Venlafaxine, te za za Venlafaxine, Clopidrogel, Codeine, Levamisole, Salbutamoal, Diclofenaka i Hydrochlorothiazida bili manji od LOD (< LOD) odnosno, od minimuma kon- centracije analita koji može biti identifikovan, ili su bili manji od minimalnog kvalifikacionog nivoa (<LOQ). I to se odnosi na sve uzorke riba. Na osovu tabele 5.6.b možemo ustanoviti da je samo za lijekove: Metropolola u slučaju Chrondro- stoma ohridanum i Squalius platyceps, odnosno i I2-HydroxyCBZ u slučaju Sardinius Knezevici koncentracija bila ispod granice minimalne detekcije (MDL). Tabela 5.6.b Rezultati ipitivanja tkiva riba na prisustvo PhACs tokom 2016.godine Sample name Rutilus prespensis Squalius platyceps Sardinius Knezevici Chron- drostoma ohridanum Ciprinus carpio Alburnus alburnus LOD LOQ PhACs Atenolol < LOD <

LOD < LOD < LOD < LOD < LOD 0,01 0,02 Carazolol < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD 0,01

10

0,02 Metropolol < LOQ <MDL < LOQ <MDL < LOQ < LOQ 0,10 0,35 Nadolol <

LOQ < LOQ < LOQ < LOQ < LOQ < LOQ 0 ,31 1, 04 Propanolol < LOD < LOD < LOQ < LOQ

36

< LOQ < LOQ 0,09 0,29 Sotalol < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD <

LOD 0,08 0 ,26 Carbamazepine < **LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD 0** ,05 **0** ,17
Citalopram < **LOD < LOD < LOD < LOD**

9

<

LOD < LOD 0 ,12 **0** ,40 Diazepam < **LOD < LOD** < LOQ < **LOD < LOD < LOD 0**

8

,03 0,10 10,11-EpoxyCBZ <

LOD < LOD < LOQ < **LOD** < LOQ < **LOD 0,02 0** ,05 2-HydroxyCBZ < **LOD < LOD** < MDL <
LOD < LOD < LOD **0**

10

,01

0,03 Lorazepam < **LOD < LOD < LOD < LOD** < LOD < LOD **0** ,06 **0** ,20 Sertraline < **LOD <**
LOD < LOD < LOD < LOD < LOD

8

0,25 0,83 Venlafaxine < LOD <

LOD < LOD < LOD < LOD < LOD 0,01 0,03 Clopidrogel < **LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD 0,01**
0,04 Codeine < **LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD**

10

0 ,02 **0** ,06 Levamisole < **LOD < LOD < LOD < LOD** < LOD < LOD **0,02** 0,05 Salbutamol <
LOD < LOD < LOD < LOD

9

<

LOD < LOD 0,01 0 ,04 Diclofenac < **LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD**

9

1,73 5,77 Hydrochlorothiazide <

LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD " Kraljeva glavica"-Vranjina < **LOD < LOD <** 5
LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD

„Tanki rt” – ispod mosta <

LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD Tabelom 5 8

.7. a dat je uvid u rezultate koji se odnose na prisustvo analgetika, neuroleptika i alergena za vrijeme „ljetnjeg” i „zimskog” uzorkovanja. Uzorkovanjem, ispitano je prisustvo 5 analgetika (Oxycodon, Codein, Carbamazepin, 10,11-epoxycarbamazepin i 2-hydroxycarbamazepin); dva neuroleptika (Azaperon i Azaperol) i dva alergena (Loratadina i Desloratadina). Na osnovu Tabele 5.7. a vidimo da se LOD kretao od 1,11 ng L⁻¹, do 8,96 ng L⁻¹. Za lijek Carbamazepin, vrijednost za LOD i LOQ nijesu bile mjerljive. Izuzetak su rezultati sa lokacija: Vukovci, "Lijevi krak" rijeke Morače i "Desni krak" rijeke Morače, za vrijeme "ljetnjeg" istraživanja. U toku ovog istraživanja (tab.5.7.a) vrijednost lijeka Carbamazepina iznosila je 5,78 ng L⁻¹, za lokalitet Vukovci, a za lokalitete "Lijevi " i "Desni" krak rijeke Morače 5,79 ng L⁻¹ odnosno 5,94 ng L⁻¹. Iz pomenute tabela vidimo da su rezultati bili ispod limita detekcije, odnosno < LOD, za sva ostala mjerenja Tabela 5.7.b Rezultati ispitivanja koncentracije PhAC (antiviretici, antihelmitici, lijekovi za stomachne i želučane tjegebe, anestetici, kontrasti) u vodama istraživanih lokacija tokom "ljetnjeg" i "zimskog" istraživanja a tokom 2017.-2018. godine. "ljetnje uzorkovanje" Zlatica/Smokovac Acridonea < LOD Dimetridazole < LOD Ronidazole < LOD Albendazole < LOD Levamisole < LOD Ranitidine Famotidin Cimetidine Diltiazem Iopromide <

LOD < LOD < LOD < LOD < LOD Xylazine < **LOD** Vukovci < **LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD** 5
< **LOD < LOD < LOD** 119,2 < **LOD**

Lijevi krak rijeke Morače <

LOD < LOD < LOD < LOQ < LOQ < LOD < LOD < LOD < LOD 209,68 < **LOD** 5

Desni krak rijeke Morače <

LOD < LOD < LOD < LOQ < LOQ < LOD < LOD < LOD < LOD 177,93 < **LOD** " Kraljeva glavica"-
Vranjina < **LOD < LOD < LOD < LOQ < LOQ < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD** 16

„Tanki rt” – ispod mosta <

LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD LOD 1 ,68 3 ,27 1

45

,44 0,72 3,42 0,62 0,15 0,42 0,31 4,26 1,41 LOQ "zimsko uzorkovanje" Zlatica/Smokovac 5,60 Acridonea < LOD 10,90 Dimetridazole < LOD 4,80 Ronidazole < LOD 2,39 Albendazole < LOD 11,41 Levamisole < LOD Ranitidine Famotidin Cimetidine Diltiazem Iopromide Xylazine < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD 2,02 0,49 1,41 1,04 14,2 4,69 Vukovci <

LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD

5

Lijevi krak rijeke Morače <

LOD < LOD < LOD < LOQ < LOQ < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD

5

Desni krak rijeke Morače <

LOD < LOD < LOD < LOQ < LOQ < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD "Kraljeva glavica"-Vranjina < 16

LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD

„Tanki rt” – ispod mosta <

LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD

5

Tabelarnim prikazom vode istraživanih lokaliteta za vrijeme "ljetnjeg" i "zimskog" uzorkovanja (Tab.5.7.b) uočava se da je na svim lokalitetima koncentracija: antiviretika, antihelmitika, lijekova za stomachne i želudačne tjegobe, anestetika i kontrasta bila ispod detektvanog limita. LOD za predstavnika antivirotika (Acridonea), iznosio je 1,68 ng L-1 . LOD za grupu antihelmitika je bio različit, pa je za lijek (Albendazole) npr. bio 0,72 ng L-1. Za lijek Iopromide, koji predstavlja lijek koji se kao contrast ubrizgava tokom ispitivanja X-zracima LOD je bio 4,26 ng L-1. Ovaj lijek (tabela 5.7.b) je detektovan na lokalitetima Vukovci, "Lijevi krak" rijeke Morače i "Desni krak" rijeke Morače. Vrijednosti Iopromide na lokalitetu Vukovci iznosila 119,2 ng L-1, na lokalitetu "Lijevi krak" rijeke Morače 209,68 ng L-1, dok je na lokalitetu "Desni krak" rijeke Morače izmjerena vrijednost izbosila 177,93 ng L-1. Prema (www.calims.me) najviše korišćeni lijek u Crnoj Gori je acetilsalicilna kiselina, prate je bromazepan-lijek za smirenje i eritromicin antibiotik. Tabela 5.7.d Rezultati ispitivanja koncentracije PhAC (antidepresivi) u vodama istraživanih lokacija tokom "ljetnjeg" i "zimskog" istraživanja a tokom 2017.-2018. godine. "ljetnje uzorkovanje" Sertraline Zlatica/Smokovac < LOD Citalopram Venlafaxine Olanzapine Trazodone Fluoxetine Norfluoxetine Paroxetine Diazepam Lorazepam Aprazolam <

LOD < LOD n .a. < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD Vukovci < LOD < LOD < LOD
n.a. < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD

22

Lijevi krak rijeke Morače <

LOD < LOD < LOD n .a. < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD

37

Desni krak rijeke Morače <

LOD < LOD < LOD n.a. < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD "Kraljeva glavica"-Vranjin <
LOD < LOD < LOD n. a. < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD

22

„Tanki rt” – ispod mosta <

LOD < LOD < LOD n.a. < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD LOD 3,92 1

8

,54 n.a. n.a. 1,37 0,22 1,66 1,33 3,02 3,22 4,05 LOQ "zimsko uzorkovanje" Zlatica/Smokovac 13,07 Sertraline < LOD
Citalopram Venlafaxine Olanzapine Trazodone Fluoxetine Norfluoxetine Paroxetine Diazepam Lorazepam Aprazolam <

LOD < LOD n .a. < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD

37

5,14 n.a. n.a. 4,46 0,22 5,53 4,43 10,06 10,72 13,48 Vukovci <

LOD < LOD < LOD n .a. < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD

20

Lijevi krak rijeke Morače <

LOD < LOD < LOD n .a. < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD

20

Desni krak rijeke Morače <

LOD < LOD < LOD n.a. < **LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD** " Kraljeva glavica"-Vranjin < 30
LOD < LOD < LOD n .a. < **LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD**

„Tanki rt” – ispod mosta <

LOD < LOD < LOD n.a. < **LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD** Tokom ovog istraživanja < 30
na

ukupno 6 lokaliteta, u toku "ljetnjeg" i "zimskog" aspekta visine i hemizma vodenog stuba ispitano je prisustvo 11 vrsta antidepresiva, koji su analizirani u tripletu, što ukupno čini 396 ispitivanja. Na osnovu tabela 5.7.d konstatujemo da u uzorcima voda ispitivani antidepresivi nisu dokazani, a da su vrijednosti bile ispod limita detekcije (<LOD), odnosno, za Olanzapine vrijednosti nisu primjenjive (n.a). Ustanovljene vrijednosti LOD-a kretale su se od 0,22 ng L-1 do 4,05 ng L-1, dok se za lijekove Venlafaxina i Olanzapina nije mogao izračunati. Pregledom tabele (tabela 5.7.e) vidimo da ni jedan od ispitivanih anitibiotika (Cefaleksin, Eri- tromicin, Azitromicin, Tetraciklin, Ofloksacin, Ciprofloksacin, Sulfametoksazol, Trimetoprim, Metronidazol, Metronidazol-OH) nije identifikovan u uzorcima vode tokom istraživanja. Uzorci vode sa svih lokacija analizirani su i za uzorkovanja tokom vremena niskih i visokih voda, na ukupno 11 najčešće korišćenih antibiotika, počevši od cefaleksina antibiotika druge generacije, pa do ciprofloksacina antibiotika najnovije generacije. Svi dobijeni rezultati uzoraka voda nalazili su se ispod LOD-a, limita detekcije. Tabela 5.7.e Rezultati ispitivanja koncentracije PhAC (antibiotici) u vodama istraživanih lokacija tokom "ljetnjeg" i "zimskog" istraživanja a tokom 2017.-2018. godine. "ljetnje uzorkovanje" Cefalexin Erythromycin Azithromycin Clarithromycin Tetracycline Ofloxacin Ciprofloxacin Sulfamethoxazole Trimethoprim Metronidazole Metronidazole-OH Zlatica/Smokovac <

LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD Vukovci < **LOD < LOD < LOD** 5
< LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD

Lijevi krak rijeke Morače <

LOD < LOD < LOD < LOQ < LOQ < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD 5

Desni krak rijeke Morače <

LOD < LOD < LOD < LOQ < LOQ < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD " Kraljeva glavica"-Vranjina < 16
LOD < LOD < LOD < **LOQ < LOQ < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD**

LOD < LOD

Lijevi krak rijeke Morače <

LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD

5

Desni krak rijeke Morače <

LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD “

5

Kraljeva glavica"-Vranjina < **LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD <**
LOD < LOD < LOD < LOD

„Tanki rt” – ispod mosta < LOD <

LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD LOD 0 ,86

39

3,47 1 ,44 3,14 1 ,07 4,71 0

,56 1,20 0,81 2,45 0,81 0,88 0,98 1,60 0,67 LOQ "zimsko uzorkovanje" Zlatica/Smokovac Losartan Valsartan Atorvastatin
Fluvastatin Ibersartan Pravastatin Amlodipine Verapamil Norverapamil Atenolol Sotalol Propanolol Metoprolol Nadolol <

LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD 2

8

,89 11,57 4,81 10,47 3,58 15,70 1,87 4,01 2,70 8,17 2,71 2,95 3,27 5,32 2,22 Carazolol < LOD Vukovci <

LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD

5

Lijevi krak rijeke Morače <

LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD

5

Desni krak rijeke Morače <

LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD “

5

Kraljeva glavica"-Vranjina < **LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD**

LOD < LOD < LOD < LOD

„Tanki rt” – ispod mosta <

LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD Na

30

osnovu rezultata prikazanih u tabeli 5.7. f možemo da konstatujemo da su se koncentracije svih ispitivanih lijekova u vodi nalazile ispod limita detekcije. Limiti detekcije kretali su se od 0,56 ngL⁻¹ do 3,47 ngL⁻¹. Sporadično i rijetno nalaženje lijekova u vodi istraživanih lokaliteta, u toku zimskog i ljetnjeg istraživanja potvrdila je grupa lijekova NSAID (Nesteroidni antiinflamatorni lekovi). Na osnovu Tab.5.7. n možemo da konstatujemo da su i u toku "ljetnjeg" i u toku "zimskog" istraživanja na ispitivanim lokacijama dokazani lijekovi Acetaminofen i Salicylic acid (salicilne kisjeline). Iz tabele 5.7. n konstatujemo da se u ljeto 2017. godine na lokalitetima: Vukovci Acetaminophen (acetaminofen-paracetamol) nalazio u koncentraciji (6,02 ngL⁻¹), na lokalitetu "Lijevi krak" rijeke Morače u koncentraciji (8,62 ngL⁻¹) i na lokalitetu "Desni krak" rijeke Morače u koncentraciji (5,82 nL⁻¹). LOD za Acetaminophen je izračunat i iznosio je (0,86 ngL⁻¹). U toku "ljetnjeg" ispitivanja za ostala tri lokaliteta su zabilježile vrijednosti ispod LOD-a, odnosno ispod (0,86 ngL⁻¹). Na osnovu iste tabele (5.7. n) uočavamo da je prisustvo Salicylic acid (salicilne kisjeline) dokazano na svim lokalitetima pa i na "nultoj tački". LOD za ovaj lijek iznosio je (1,14 ngL⁻¹), dok se izračunata koncentracija lijeka u uzorcima vode na lokalitetima kretala od maksimalnih (21,15 ngL⁻¹) na lokalitetu "Lijevi krak" rijeke Morače, do minimalnih (8,3 ngL⁻¹) na lokalitetu "Kraljeva glavica"-Vranjina. Prisustvo ibobrufen, diklofena, naproksena i ostalih devet nesteroidnih antiinflamatornih lijekova u vodama ispitivanih lokaliteta nije dokazano. Tabela 5.7. n Rezultati ispitivanja koncentracije PhAC (NSAID) u vodama istraživanih lokacija tokom "ljetnjeg" i "zimskog" istraživanja a tokom 2017.-2018. godine. Zlatica/Smokovac Acetaminophen < LOD Salicylic acid 19,58 Ibuprofen < LOD Ketoprofen < LOD Bezafibrate Gemfibrozil Naproxen Diclofenac Meloxicam < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD Piroxicam < LOD Tenoxicam Indomethacine Phenazone Propyphenazone < LOD < LOD < LOD < LOD Vukovci 6,02 15,

98 < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD

51

Lijevi krak rijeke Morače 8,62 21,

15 < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD

8

Desni krak rijeke Morače 5,82 17,7 <

LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD "Kraljeva glavica"-
Vranjina < **LOD** 8,3 < **LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD**

5

„Tanki rt” – ispod mosta < LOD 14,23 <

LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD LOD 0

8

,95 1,14 10,27 23,55 2,03 4,72 13,27 4,55 2,76 1,45 0,59 5,55 3,66 1,51 LOQ Zlatica/Smokovac 3,16 Acetaminophen 1,91
3,79 Salicylic acid 11,22 < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD 34,23 Ibuprofen 78,49 Ketoprofen Bezafibrate
Gemfibrozil Naproxen Diclofenac Meloxicam 6,76 15,73 44,22 15,16 9,19 4,83 Piroxicam < LOD Tenoxicam
Indomethacine Phenazone Propyphenazone < LOD < LOD < LOD < LOD 1,95 18,50 12,19 5,02 Vukovci <

LOD 12 ,72 < **LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD**

46

Lijevi krak rijeke Morače 7,37 25,

13 < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD

8

Desni krak rijeke Morače 6,87 12,09 < LOD <

LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD "Kraljeva glavica"-Vranjina **3**
,63 24,64 < **LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD**

9

„Tanki rt” – ispod mosta 5,68 31,

04 < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD

8

U vrijeme visokih voda, zbog miješanja voda, visokog dodostaja, podizanja PhAC iz sedimenta, i pseudorezistencije kao izuzetno značajne osobine, koncentracije Acetaminophen i Salicylic acid su znatno uvećane (Tab. 5.7.n). Na osnovu pomenute tabele vidimo da se u toku "zimskog" uzorkovanja na se lokalitetu Vukovci prisusvo Acetaminophen-a gubi, odnosno, njegova koncentracija biva ispod granice detekcije. Iz tabele 5.7.n vidimo da je na ostalih pet lokacija najniža koncentracija zabilježena na lokalitetu Zlatica/Smokovac (1,91 ngL⁻¹), a najviša na lokalitetu "Desni" krak rijeke Morače (6,87 ngL⁻¹). Prisustvo salicilne kiseline dokazano je na svih šest lokaliteta, a njena koncentracija u analiziranim

uzorcima vode kretala se od maksimalne (30,04 ngL-1) na lokalitetu "Tanki rt"-ispod mosta do minimalne koncentracije od (1,22 ngL-1), na lokalitetu Zlatica/Smokovac. Tokom ovog istraživanja uzorci vode su analizirani i na prisustvo kortikosteroida (Deksametazon), diuretike (Furosemid, Hidrohlorotiazid i Torasemid). Uzorci su takođe analizirani i na prisustvo Tamsulosin-lijek protiv uvećanja prostate, kao i na prisustvo antitrombocida/antikoagulant (Klopidogrel i Warfarin), antidiijabetik (Glibenclamide). Rezultati „ljetnjeg“ i „zimskog“ uzorkovanja predstavljeni su tabelom 5.7.m. Tabela 5.7. m Rezultati ispitivanja koncentracije PhAC (kortigosteroidi, diuretici, lijekovi za liječenje uvećanja prostate, antikoagulant, antidiabetici) u vodama istraživanih lokacija tokom "ljetnjeg" i "zimskog" istraživanja a tokom 2017.-2018. godine. "ljetnje uzorkovanje" Dexamethasone Furosemid Hydrochlorothiazide Torasemide Tamsulosin Clopidogrel Warfarin Glibenclamide Zlatica/Smokovac <

LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD Vukovci < **LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD** 5
< LOD < LOD

Lijevi krak rijeke Morače < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD Desni krak rijeke Morače <

LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD "Kraljeva glavica"-Vranjina < **LOD < LOD < LOD <** 5
LOD < LOD < LOD < LOD < LOD

„Tanki rt“ – ispod mosta <

LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD LOD 2 ,42 10,90 **2** 26

,18 1,46 1,47 2,13 1,97 2,4 LOQ "zimsko uzorkovanje" 8,07 Dexamethasone 36,32 Furosemid 7,25 Hydrochlorothiazide 4,85 Torasemide 4,91 Tamsulosin Clopidogrel Warfarin 7,10 6,58 8 Glibenclamide Zlatica/Smokovac <

LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD Vukovci < **LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD** 5
< LOD < LOD

Lijevi krak rijeke Morače < LOD < LOD < LOQ < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD Desni krak rijeke Morače <

LOD < LOD < LOQ < **LOD < LOD < LOD < LOD < LOD** "Kraljeva glavica"-Vranjina < **LOD < LOD <** 36
LOQ < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD

„Tanki rt“ – ispod mosta < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD < LOD Pregledom rezultata prikazanih u (tab. 5.7. m) možemo da vidimo da su sve izračunate vrijednosti bile ispod nivoa detekcije. Izuzetak predstavlja „zimsko“ ispitivanje za lijek Hidrohlorotiazida za lokalitete: Lijevi i Desni krak rijeke Morače i „Tanki rt“ – ispod mosta, gdje su vrijednosti ispod limita kvalifikacije, odnosno <LOQ. 5.8 Rezultati HQ Water Framework Directive (Okvirna direktiva EU o vodama 200/60/EC) smatra da sve dobijene vrijednosti HQ ispod 0,01 nemaju uticaja, nijesu rizične za akvatične organizme. Potencijani ekološki rizik, u odnosu na ispitivane farmaceutike u vodi, izračunat je preko odnosa dobijene koncentracije iz uzorka i poznate koncentracije date iz (NORMAN network) odnosno preko indeksa HQ. PNEC za Acetaminofen (paracetamol) je izračunat za slatku vodu prema ECHA DOSSIER (03/2018), dok je PNEC za Salicilnu kiselinu izračunat na vrsti Daphnia longispina a prema izvoru Aquire 111312. U toku ovog istraživanja samo za farmaceutike iz reda NSAID, možemo da tvrdimo sa sigurnošću da su konstantni, pa je stoga i HQ izračunat za njih, a rezultati prikazani tabelarno (tab.5.7. s). Tabela 5.7.s. HQ indeks za PhAC (NSAID) tokom istraživanja 2017.-2018. godine ljetnje Acetaminophen Salicylic acid Zlatica/Smokovac 0,001 0,006 Vukovci 0 0,007 Lijevi krak rijeke Morače 0,0055 0,001 Desni krak rijeke Morače 0,005 0,006 “ Kraljeva glavica”-Vranj 0,002 0,001 „Tanki rt“ – ispod mosta 0,004 0,001 zimsko Acetaminophen Salicylic acid Zlatica/Smokovac 0 0,001 Vukovci 0,0044 0,008 Lijevi krak rijeke Morače 0,0064 0,001 Desni krak rijeke Morače 0,0043 0,009 “ Kraljeva glavica”-Vranj 0 0,004 „Tanki rt“ – ispod mosta 0 0,007 Uvidom u tabelu 5.7.s, vidimo da su vrijednosti HQ za Acetaminophen (Acetaminofen-Paracetamol) za lokalitet Zlatica-Smokovac u toku ljetnjeg perioda bile 0,001 a u toku zime 0 tj, nije identifikovano prisustvo ovog lijeka. Na osnovu tabele 5.7.s, za isti lokalitet, vidimo da je HQ za lijek Salicylic acid (Salicilna kiselina-Aspirin) u “ljetnjem” uzorkovanju imao vrijednost 0,006; dok je tokom “zimskog” uzorkovanja HQ indeks iznosio 0,001. Iz iste tabele vidimo da se zbog ne identifikovanja prisustva Acetaminophen-a nije bilo moguće ni izračunati HQ za lokalitet Vukovci za “ljetnje” uzorkovanje. HQ je za “zimsko” uzorkovanje iznosio 0,0044. Vrijednost HQ za salicilnu kiselinu za ljetnje ispitivanje za lokalitet Vukovci bila je 0,007; a za zimsko ispitivanje 0,008. Izuzetno su niske vrijednosti HQ i za lokalitete “Lijevi” i “Desni” krak rijeke Morače, i kreću se od 0,005 za Acetaminofen tokom ljeta, do 0,0064; odnosno, 0,0043 tokom zime. Tabelom 5.7.s prikazano je da je HQ za Salicilnu kiselinu za lokalitet “Lijevi” krak rijeke Morače i za “zimsko” i za “ljetnje” uzorkovanje iznosio je 0,001. Za lokalitet “Desni” krak rijeke Morače iznosio je 0,006 za ljetnje, odnosno 0,009 za zimsko ispitivanje. Na osnovu tabele 5.7.s zaključujemo da postoji mala razlika u vrijednostima HQ za lokalitete “Kraljeva glavica”-Vranjina i “Tanki rt”-ispod mosta, kako za Acetaminofen tako i za Salicilnu kiselinu. Za lokalitet „Kraljeva glavica”-Vranjina tokom “ljetnjeg” uzorkovanja HQ za Acetaminofen 0,02 a za lokalitet “Tanki rt”-ispod mosta, za taj isti period 0,04. Tokom “zimskog” uzorkovanja po- menuti lijek nije dokazan (<LOD) pa stoga nije bilo moguće ni utvrditi HQ. Potencijani ekološki rizik, izražen HQ-om, za istraživane lokalitete “Kraljeva glavica”-Vranjina i “Tanki rt”-ispod mosta trebalo je da dokazati i za lijek Salicilna kiselina. HQ je za oba lokaliteta za vrijeme “ljetnjeg” uzorkovanja iznosio 0,001, dok je tokom “zimskog” uzorkovanja njegova vrijednost za lokalitet “Kraljeva glavica”-Vranjina iznosio 0,004 a za lokalitet “Tanki rt”-ispod mosta 0,007. DISKUSIJA 6. DISKUSIJA Lokaliteti obuhvaćeni ovim istraživanjima predstavljaju posebne dionice rijeke Morače (Zlatica-Smokovac, Vukovci, “Lijevi krak rijeke Morače”, “Desni krak rijeke Morače”) i Skadarskog jezera (“Kraljeva glavica” Vranjina i “ Tanki rt”-ispod mosta Jezero). Ovi lokaliteti zajedno su profili koji se tokom svake ljetnje sezone, izuzev lokaliteta „Lijevi krak rijeke Morače” i „Desni krak rijeke Morače” ispituju od strane Ministarstva ekologije i zaštite životne sredine. Za potrebe Ministarstva istraživanja vrši Hidrometerološki zavod. Međutim, od strane pomenutog Ministarstva i Zavoda, mjerodavne vrijednosti kvaliteta vode, (Uredba o klasifikaciji i kategorizaciji voda “SI list RCG 15/97”) obuhvataju vremenski period od juna do oktobra, tako da ne postoje podaci koji se tiču „zimskog” aspekta te je prosto nemoguće izvesti zaključak o stanju kvaliteta vode u toku godišnjeg ciklusa voda.

Vode pomenutih lokacija istraživane su prema postavljenim ciljevima istraživanja u toku 2013.- 2018. godine. U cilju sagledavanja distribucije i populacione brojnosti ispitivanih grupa bakterija u vodi istra- živanih lokaliteta, kao i u cilju određivanja kvaliteta vode na ispitivanim lokalitetima Morače i Skadarskog jezera paralelno su vršena i fizičko-hemijska istraživanja po sljedećim parametrima: temperatura vode i vazduha, pH, elektrolitička provodljivost, utrošak KMnO₄, određivana je koncentracija nitrata i nitrita u vodi, kao i hlorida, fluorida, rastvorenog kiseonika u vodi, zasi- ćenost vode kiseonikom i biološka potrošnja kiseonika u vodi (BPK₅). Temperatura vode je jedan od značajnih faktora koji utiču na kvantitativni i kvalitativni sastav i brojnost bakterijskih populacija. Na osnovu prikazanih rezultata (tabele 5.1. a., 5.1.b., 5.1.c., 5.1.d) istraživani lokaliteti nisu bili izloženi većim temperaturnim variranjima, izuzetak je lokalitet Zlatica/Smokovac. Takođe, su podložni uticaju niza abiotičkih i biotičkih činilaca sredine kao što su: temperatura vazduha, količina padavina, obraslost obala biljkama, prisutnost mikroalgi, kao i antropogeni uticaj. Relativno neujednačena temperatura vode, kao abiotički faktor za razvoj organizama, osnovni je uzrok velikog sezonskog variranja u brojnosti istraživanih grupa mikroorganizama. Temperatura vode u toku „zimskog“ aspekta ispitivanja pokazala je jedino odstupanje u, na lo- kaciji Zlatica/Smokovac, pa je maksimalna temperatura vode za ovaj period na toj lokaciji 130C i to u novembru 2017. godina, a najniža u januaru te iste godine 30C. Temperaturne razlike za „ljetnji period“ vode na lokaciji Zlatica/Smokovac jedino je evidentna u toku majskog istraživanja kada je bila za 50C niža u odnosu na ostale lokalitete. Temperatura vode za lokalitet „Kraljeva glavica“Vranjina u toku „zimskog režima“ voda kretala se od 5,20C- 18,20C. Istražujući kvalitet voda Skadarskog jezera u periodu visokog vodostaja, Pešić i saradnici (2002) daju podatke o temperaturi vode jezera koja varira od 6,0-9,00C. Temperatura vode prvenstveno zavisi od spoljašnje temperature vazduha, dubine na kojoj se vrši uzorkovanje, ali na nju takođe ima uticaj i količina reasorbovanih čestica u njoj (Otieno et al., 2017). Variranje temperatura vode je očekivano i u zavisnosti je od spoljašnjih faktora (Boyd & Lichtkoppler (1979) ali je izuzetno važno da se temperatura vode u slatkovodim sistemima kreće u granicama koje su vezane za metaboličku aktivnost živućih organizama posebno riba. Hemijski sastav vode zavisi od geološko-klimatskih uslova, biohemijske aktivnosti biološke kompo- nente u ekosistemu, kao i od direktnog i indirektnog antropogenog uticaja, čija uloga i djelovanje na kvalitet vode postaju sve aktuelniji (Radonjić 2007). Pregledom fizičko-hemijskih rezultata voda istraživanih lokacija, tokom 2017.-2018. godine konstatujemo da je saturacija kiseonikom tokom sveukupnog istraživanja velika. I u toku „ljetnjeg režima“ vode ispitivanih lokacija bile su saturisane kiseonikom i uglavnom su se kretale preko 100% zasićenja sa kiseonikom. Kiseonik se nalazi u vodi u rastvorenom stanju. Iz atmosfere dospijeva apsorpcijom, a u vodi nastaje u procesom fotosinteze akvatičnih biljaka i fitoplanktona. Sve vode istraživanih lokaliteta pokazuju suficit kiseonika što ukazuje na aktivnost akvitične vegetacije. Saturacija kiseonikom je esencijalna za kvalitet vode, ekološki status i produktivnost jezera. Mustapha, (2008) ukazuje da je ovako rastvoren kiseonik u vodi sveza između bioloških i hemij- skih reakcija za što on pokretač. Postoji tendencija rasta utrošenog KMnO₄, od lokacije Zlatica/ Smokovac (0,91- 2,77) do lokacije „Tanki trt“-ispod mosta (1,99-2,77), nema značajni Tendencije rasta, utrošenog kalijum permanganata, u uzorcima vode je očekivana, imajući u vidu da rijeka Morača svojim donjim tokom protiče kroz Podgoricu i da se u nju ulivaju djelimično prečišćene i neprečišćene otpadne vode. Istražujući više lokaliteta na Skadarskom jezeru tokom 1966- 1968. godine i 1972-1973. godine, uključujući i jul 1976. godine, Petrović i Beeton, (1981) navode da hemijske karakteristike vode Skadarskog jezera nastaju kao rezultat uliva voda iz glavnih pritoka, sublakustričkih izvora, kao i razmjene između sedimenata vode i ekstenzivnih poplava (Radonjić, 2017). Upoređivanjem rezultata fizičko-hemijskog ispitivanja voda „zimskog“ i „ljetnjeg“ aspekta, utvr- đuju se značajne razlike u temperativnom režimu vode i vazduha. Utrošak KMnO₄ značajniji je u toku ljetjeg uzorkovanja i kreće se od (1,29-3,2) za lokalitet Smokovac/Zlatica do maksimalno izračunatih 5,82 mg/dm³ za lokalitet „Lijevi krak“ rijeke Morače. Na osnovu obavljenih hemijskih analiza

voda istraživanih lokaliteta, možemo reći da one pokazuju dobre karakteristike pa se sve vode istraživanih lokacija mogu svrstati u A1 i A2 klasu (Uredba o klasifikaciji i kategorizaciji voda, "Sl list RCG 15/97"). Prikazujući hemijski kvalitet vode rijeke Morače, u periodu 1998-2002. godine, Topalović i saradnici (2003) navode da se rijeka Morača uzvodno od Podgorice nalazi u A1 klasi (Uredba o klasifikaciji i kategorizaciji voda, "Sl. list RCG" 15/97). Međutim, često se u dijelu vodotoka kroz grad, dešavaju odstupanja od normalnih vrijednosti mnogih parametara (BPK5 i nitrita) tj., granične vrijednosti često pripadaju A2 klasi. Radonjić (2003) navodi, da na više lokacija duž cijelog toka rijeke Morače (od izvorišta -lokalitet Pernica do Ušća) kvalitet vode je u direktnoj vezi sa hemizmom vode, koji je rezultat kako geomorfoloških uslova, tako i antropogenog uticaja na što su ukazali i Topalović i saradnici, (2003). Aktivnost heterotrofni bakterija u vodenim ekosistemima povezana je sa transformacijom organskih materija i brzinom razgradnje izumrlih biljaka i životinja. Kochl (1975) navodi da brojno stanje heterotrofni bakterija može poslužiti kao indikator kod utvrđivanja boniteta vode. U toku ovog istraživanja koristeći heterotrofne bakterije kao indikatore kvaliteta vode, može se reći da voda kvalitet vode varira i da pripada I, I-II klasi i II klasi (najveći broj lokaliteta od avgusta do novembra 2017. godine boniteta vode (graf. 5.2.C) U toku 1992-1995. godine, Institut za javno zdravlje Crne Gore je proučavao kvalitet vode, Skadarskog jezera (jedan od lokaliteta je bio i lokalitet Vranjina). U sklopu navedenih istraživanja analizirane su i fiziološke grupe mikroorganizama (heterotrofne, oligotrofne, proteolizne, amilolizne, lipolizne i saharolizne), a takođe je rađen i stepen autopurifikacije po Kohl-u. Istraživanjem su na lokalitetu Vranjina utvrđene sve ispitivane grupe mikroorganizama. Najmanje vrijednosti fizioloških grupa mikroorganizama bile su u aprilu 1993. godine kada je broj heterotrofa iznosio 5×10^2 , oligotrofa 3×10^2 , proteolitičkih bakterija 33, saharolitičnih 0, lipolitičnih 3×10^2 , amilolitičnih 0. Grafikom (5.2.F) možemo vidjeti da se brojnost lipolitskih bakterija za istraživani lokalitet "Tanki rt" - ispod mosta kretala od 13-85 bakterije/cm³, dok se brojnost proteolitskih bakterija nalazila u opsegu od 24-40,000 bakterija/cm³. Ovo veliko odstupanje pripisuje se indikativnom antropološkom zagađenju. Amilolitske bakterije nisu porasle na zasijanim podlogama u januaru 2017. godine kao i u januaru 2018.godine. Njihov maksimalni broj na istraživanom lokalitetu zabilježen je tokom septembarskog uzorkovanja i iznosio je 1,280 kolonija/cm³. Pošto je biologija planktonskih mikroorganizama specifična, a njihov život rijetko se odvija u optimalnim uslovima sredine, budući da su vodeni ekosistemi podložni periodičnosti bioloških procesa, izazvanih sezonskom dinamikom kompleksa ekoloških faktora i unutrašnjim uzrocima bioloških sistema, to svaki bitniji poremećaj u kvantitativnom kao i kvalitativnom sastavu pojedinih fizioloških grupa mikroorganizama ima indikativno značenje i u pogledu poremećenosti životnih uslova (Đukić, 1982; Radonjić, 2007). Polazeći od ovoga, određivana je sezonska dinamika amiloliznih, proteoliznih i lipoliznih od kojih zavisi kvalitet biogenih elemenata, koji su neophodni za razvoj drugih grupa organizama na primjer fitoplanktona, a čime se obezbjeđuje biološko kruženje (Novožilova, 1973; Radonjić, 2007). Prateći sezonsku dinamiku fizioloških grupa mikroorganizama (graf. 5.2.D 5. 2. E i 5.2.F) uočava se da su u toku perioda visokih voda prisutne sve tri vrste bakterija, ali da je u odnosu na ostale lokalitete za lokalitet Zlatica/Smokovac abudantno niska i kontantna. Dominacija amilolitskih bakterija na lokalitetu „Desni krak rijeke Morače“u registrovana je toku septembra 2017. godine sa 9000 kolonija. Na osnovu Graf. 5.2 E. očitavaju se tri dominantna „pika“: „Kraljeva glavica“-Vranjina preko 60000 proteolitskih bakterija, u septembru 2017, „Desni krak rijeke Morače“ u januaru 2018. godine, preko 60000 i treći interesantan „pik“ je na lokalitetu „Tanki rt“ u decembru 2018. godine 40000 proteolitskih bakterija. Korišćenjem Mann Whitney U testa, statistički su dokazne razlike dobijenih rezultata u toku „zimskog“ i „ljetnjeg“ uzorkovanja mikrobiološkog kvaliteta vode na istraživanim lokacijama kako u pogledu rezultata dobijenih opservacijom fizioloških grupa mikroorganizama, tako i u sanitarnom aspektu mikrobiološkog kvaliteta vode istraživanih lokacija, gdje je kao „nulta tačka“ bila lokacija Zlatica/Smokovac-hipotetički zamišljena kao tačka bez ili sa smanjenim

antropogenim uticajem, jer se geografski nalazi izvan uticaja grada Podgorice. 50% dobijenih vrijednosti za „zimsko“ uzorkovanje (5.2.1 C) bilo je brojčano više od 37.5 kolonija/cm³, dok se za „ljetnje“ uzorkovanje ta vrijednost povećala do više od 370 kolonija/cm³. Ovaj podatak nam govori da postoji statistički značajna razlika u broju amilolitskih bakterija na ispitivanim lokacijama između ljetnjeg i zimskog uzorkovanja koja se može prikazati kao ($p = 0.014$) u korist „ljetnjeg“ istraživanja. Lipolizne bakterije su u toku septembra 2017. godine lokaciji „Tanki rt-ispod mosta Jezero, brojno bile najdominantnije sa 40000 kolonija bakterija. Takođe, zabilježena su još dva manja „pika“ u novembru 2017. godine 5000 na lokalitetu Vukovci i na lokalitetu Zlatica/Smokovac u decembru 2017. godine. Na distribuciju lipoliznih bakterija sa posebnom pažnjom na amplitude pronalaženja u zimskom i kasnom ljetnjem periodu ukazuje Lokovska, (2003) godine. Proučavajući kvalitet Čerave, autor ukazuje na dominaciju amiloliznih u odnosu na proteolizne bakterije. Ako se ovi podaci uporede sa vlastitim istraživanjima evidentna je sličnost koja može biti uslovljena većom količinom organske materije u vodi, koja uslovljava njihovu fenotipsku modifikaciju i razvoj. Lokovska (2003) bakteriološkom analizom kvaliteta vode Koselske rijeke, utvrđuje da su heterotrofne bakterije u svim uzorcima imale minimalne vrijednosti tokom proljetne sezone, a da je maksimalna vrijednost utvrđena u septembru za vrijeme poznog ljeta. U ovim istraživanjima minimalne i maksimalne vrijednosti heterotrofnih bakterija odgovaraju vrijednostima za proteolizne, amilolizne i lipolizne bakterije, koje su rezultat organskog opterećenja. Zbog male visine vodenog stuba u ljetnjem periodu, a velike debljine mulja, može se pretpostaviti da su rezultati ovakvog stanja vode istraživanih lokaliteta prevagnuli u korist koliformnih bakterija i bakterija fekalnog porijekla (tab. 5.2.1.a), kao i intenzivnih anaerobnih procesa razgradnje organskih materija u mulju, gdje indentifikacija sulfidoredukujućih klostridija može poslužiti kao dokaz. Tokom istraživanja sprovedenog 2017- 2018. godine na svim istraživanim lokacijama bile su prisutne koliformne bakterije fekalnog porijekla. Kao sanitarni pokazatelji, koji se primjenjuju u ocjeni prisustva patogenih mikroorganizama u vodi, služe mikroorganizmi za koje je digestivni trakt su stalna životna sredina. Prisutnost ovih mikroorganizama, njihova distribucija i populaciona dinamika indikator su zagađenja i omogućavaju preciznu ocjenu stepena bakterijskog zagađenja vode. U vodi lokaliteta Zlatica/Smokovac tokom cijelogodišnjeg istraživanja evidentirano je prisustvo koliformnih bakterija fekalnog porijekla. Identifikovani su: *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter diversus*, *Serratia* sp. *Citrobacter aerogenus*, *Streptococcus faecalis*-a, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii* identifikovani su na lokalitetu. *Pseudomonas aeruginosa*, je identifikovan u septembru 2017. godine. Sulfidoredukujuće klostridije i *Proteus* vrste nisu identifikovane. 50% izmjerenih vrijednosti za koliformne bakterije fekalnog porijekla, (Graf. 5.3.A) na svim lokacijama za vrijeme „zimskog“ uzorkovanja bilo je više od 14000 kolonija/cm³, a za vrijeme „ljetnjeg“ uzorkovanja više od 3800 kolonija/cm³ što se statistički značajno ne razlikuje ($p = 0.0196$). Koliformne bakterije fekalnog porijekla najveću brojnost za lokalitet Vukovci su imale tokom januarskog uzorkovanja 24,000 bakterija/cm³, a najmanju vrijednost 440 bakterija/cm³. Prema (tab. 5.3.b) prisustvo *Streptococcus faecalis* zabilježeno je tokom majskog i novembarskog uzorkovanja, a *Proteus vulgaris*-a u toku januara 2018. godine. Vrsta *Pseudomonas aeruginosa* je identifikovana u avgustovskom, septembarskom i decembarskom istraživanju. Sulfidoredukujuće klostridije (1 kolonija) dokazane su u maju 2017. godine. Najčešće identifikovana koliformna bakterija fekalnog porijekla je *Escherichia coli*. U toku 2003. godine sprovedeno je istraživanje distribucije i populacione dinamike bakterija u rijeci Morači na potezu izvorište-lokalitet Pernica do Ušća-lokalitet Vukovci. Na osnovu broja koliformnih bakterija i bakterija fekalnog porijekla, a po Uredbi o klasifikaciji i kategorizaciji voda, Morača na lokalitetu Pernica tokom šestomjesečnog istraživanja pripada A1 klasi boniteta voda, dok nizvodno od kolektora pripada A3 klasi boniteta voda (Radonjić, 2003). Ako ta istraživanja uporedimo sa sadašnjim, uočava se da na osnovu brojnosti koliformnih bakterija i koliformnih bakterija fekalnog porijekla, status istraživanih lokaliteta nije bitnije pogoršao (5.3.a,

5.3.b). Rezultati mikrobioloških analiza sanitarnog stanja vode koriste se za procjenu rizika po zdravlje ljudi pri upotrebi tih voda, kao i za procjenu pogodnosti voda za vodosnabdijevanje i praćenje efikasnosti prečišćavanja vode za piće (Đukić 2000). Upoređivanjem lokaliteta „Lijevi krak rijeke Morače“ i „Desni krak rijeke Morače“ prisustvo bakterije *Streptococcus faecalis*-a dokazano je na oba lokaliteta. Prisustvo *Proteus vulgaris*-a i sulfidoredukujućih klostridija dokazano je u toku majskog uzorkovanja samo na lokalitetu „Lijevi krak rijeke Morače“. Koliformne bakterije fekalnog porijekla: *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter sp.*, *Enterobacter sp.*, zajedničko je za oba lokaliteta (tab.5.3.c, 5.3.d) Na lokalitetu „Kraljeva glavica“-Vranjina (tab.5.3.e) prebrojane 38 kolonije *Streptococcus faecalis*-a. 15 kolonija sulfidoredukujućih klostridija u toku septembarskog ispitivanja, a jedna kolonija u maju 2017.godine, dok je na lokalitetu „Tanki rt“-ispod mosta (tab. 5.3.f) prebrojano 30 kolonija *Streptococcus faecalis*-a, 6 kolonija sulfidoredukujućih klostridija takođe tokom septembra i maja. Prisustvo *Escherichia coli* dokaz je konstantnog zagađenja, za oba lokaliteta dok je prisustvo truleži dokazano je u septembru 2017. godine „rojenjem u /kroz podlogu“ samo za lokalitet „Kraljeva glavica“-Vranjina identifikovana je bakterija *Proteus vulgaris*. U januaru 2018.godine dokazano je prisustvo *Proteus mirabilis*. *Pseudomonas aeruginosa* bio je prisutan na oba lokaliteta. Na osnovu grafičkog prikaza koliformnih bakterija fekalnog porijekla (Graf. 5.3.B) za lokalitet „Kraljeva glavica“-Virpazar uviđamo da su maksimalne vrijednosti tih parametara se kretale od 50,000-100,000 bakterija/cm³ toku junskog i septembarskog ispitivanja. „Tanki rt“-ispod mosta-Jezero pokazuje upečatljivo najveće „pikove“ u toku januarskog, junskog i novembarskog ispitivanja kada je zabilježeno po 240,000 bakterija/cm³. U istraživanjima populacija bakterija i gljiva u Skadarskom jezeru Ristanović (1981) ističe da su mikroorganizmi u oksidoreduktivnim procesima najbrojniji i najaktivniji članovi vodenog ekosistema. Prema istom autoru, to je i osnovni razlog zbog koga je neophodno izučavanje fizioloških grupa mikroorganizama. Za ova istraživanja uzorci vode su uzeti sa više lokaliteta Skadarskog jezera. Jedan od lokaliteta je bio i lokalitet Vranjina. Ovim istraživanjem obuhvaćene su fiziološke grupe, mikroorganizama koje su u stanju da koriste jedinjenja koja sadrže ugljenik, azot, sumpor i gvožđe. Na osnovu istraživanja kvaliteta vode Skadarskog jezera Pešić i saradnici (2002) konstatovali su prisustvo koliformnih bakterija u svim ispitivanim uzorcima vode. Isti autori identifikovali su vrste koje pripadaju rodovima: *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, dok je *Escherichia coli*, bila najčešće izolovana vrsta. U cilju utvrđivanja kvaliteta litorala Ohridskog jezera Jordanovski i saradnici (2000) vršili su ispitivanje organskog i neorganskog opterećenja litoralnog dijela Ohridskog jezera. Radonjić i saradnici (2013) identifikovali su mikroorganizme kao indikatore emergentskih supstanci u vodi Prisustvo koliformnih bakterija bilo je registrovano na svim lokalitetima, tokom cijele godine. Sulfidoredukujuće klostridije su bile takođe prisutne u vodi analiziranih uzoraka tokom cijele godine. Radonjić i Krivokapić (2006) utvrdili su da su koliformne bakterije, sulfidoredukujuće klostridije, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, kao i *Pseudomonas aeruginosa* bile prisutne u toku ljetnjeg uzorkovanja u vodi na lokalitetu Vranjina (Skadarsko jezero). Litoralna zona akvatičnih ekosistema, je međuprostor između kopna i otvorene vode (pelegijal) i u suštini ima viši produktivitet od pelagijalne. Ona se odlikuje sa velikim unošenjem organskog materijala, radi toga, u ovoj zoni postoji veza čvrsta veza između autotrofnih i heterotrofnih zajednica koje imaju jak uticaj na jezerski metabolizam (Overbeck & Chrost, 1990). Da je bakterijska biomasa količina organske materije koja se transformisala iz rastvorenog stanja, u bakterijske ćelije koje će je iskoristiti u narednom trofičnom nivou lanca ukazuje na to Ivanov (1955). Novevska i Vasilevska (2002) su istraživale problem bakterijske biomase kao pokazatelja trofičkog statusa vode litoralnog regiona Ohridskog jezera, odnosno, cilj im je bio da utvrde kako rječna voda utiče na jezersku. Analize su pokazale da se bakterijska biomasa u litoralnoj zoni Ohridskog jezera, razvila gotovo identično sa onom u rječnoj vodi rijeke Velgoške. Ako se ovo istraživanje uporedi sa vlastitim istraživanjima na lokalitetima ušće Morače i Vranjina (Skadarsko jezero), dolazi se do zaključka da

bakterijska biomasa akumulirana na Ušću utiče na Vranjinu. Bakterijski diverzitet lokaliteta „Lijevi krak rijeke Morače“ i „Desni krak rijeke Morače“ u korelaciji je sa lokalitetima „Kraljeva glavica“-Vranjina i „Tanki rt“- ispod mosta. Ova pozitivna sprega, posebno se ogleda u dominaciji vrste *Escherichiae coli* koju Đukić i saradnici (2000), navode kao rezultat sanitarnog mikrobiološkog ispitivanja stanja vode, koji se koristi u procjeni rizika po zdravlje ljudi. Mikrobiološke zajednice, pružaju nam izuzetno korisne informacije o stanju u kome se ekosistem nalazi. Kao ubikvotarni organizmi, praktično su prvi na udaru hemijskih i fizičkih promjena u ekosistemu, pa svaka njihova promjena je u stari prekusor svim ostalim promjenama u lancu. Fenotipske adaptacije fizioloških grupa mikroorganizama određivane su na osnovu promjena de- finisanih vrijednostima CLPP tj. kalkulacijama AMR i CDM, ali i prikazom fenotipskih adaptacija na korištenje različitih izvora ugljenika kroz vrijeme (2016.godine -2018. godine) na istraživanim lokalitetima. Prosječan metabolički odgovor (AMR) po definiciji je srednja respiracija C-ničnih izvora koje koriste mikrobiološke zajednice a predvidljiv je i mjerljiv a među zajednicama može biti upoređivan. AMR (Graf. 5.4.A) predstavlja utvrđene rezultate istraživanja 2016-2018. godine. U toku januara 2018. godine zabilježena je maksimalna vrijednost za AMR od 1,009 na lokalitetu Vukovci za proteolitsku grupu mikroorganizama, odnosno minimalna vrijednost za AMR od 0,053; na lokalitetu „Desni krak rijeke Morače“ za tu istu grupu. Ovi rezultati ukazuje nam da je proteolitska grupa mikroorganizama imala različitu adaptivnu sposobnost za različite lokalitete. Veća kompeticija za prostor i hranu u toku „ljetnjeg“ režima voda 2017. godine presudila je u korist lipolitske grupe mikroorganizama, kada je izračunata maksimalna vrijednost od 1,517 na lokaciji „Kraljeva glavica“-Vranjina i čini dokaz i to da je u ovom uzorkovanju ova grupa mikro- organizama od ukupno 31 odreagovala na 22 različita izvora ugljenika (tab.5.4.a). Najniža vrijednost za AMR i tokom 2017.godine zabilježena na lokaciji „Desni krak rijeke Mo- rače“ za proteolitsku grupu mikroorganizama sa vrijednošću 0,026 i bila je za (-0,027) niža u odnosu na 2018. godinu. U „ljetnjem“ periodu 2016. godine „pik“ za AMR imao je za 0,517 nižu vrijednost. Ova vrijed- nost je izračunata na lokaciji „Tanki rt“ prateći razvoj biohemijakih reakcija na ploči za lipolitske bakterije. Minimalna vrijednost u toku „zimskog“ aspekta voda za 2016. godinu izračunata je na lokaciji „Lijevi krak rijeke Morače“ za proteolitsku grupu mikroorganizama, dok je maksimalna vrijednost izračunata na lokaciji „Kraljeva glavica“- Vranjina na proteolitskoj grupi mikroorganizama. Radonjić (2016) ističe da se AMR razvija postepeno, takođe i da je maksimalna koloritost na kupo- lama, mjerena od 0 do 168 sati najizražajinja nakon 48 sati. Ovime dokazuje da su mikrobiološke zajednice predkazivači informacija o promjenama u vodenim ekosistemima. (Preston-Mafham et al., 2002) u svome radu daje osvrt razvoju mikrobioloških zajednica u odnosu na različite izvore nalaženja i njihove kultivizacije. Različita životna sredina, različit način kultivizacije, različita gustina analiziranog uzorka tj. raz- blaženja uzorka kulture za analizu, daje različite rezultate AMR/ AWCD tvrde (Janniche et al., 2012). Razblaženja ne utiču na AMR/ AWCD tvrde ova grupa naučnika. Choi & Dobbs, (1999) su dokazali da gotovo 0,6% istraživanih populacija nije pokazao svoj maksimum koloritnosti poslije 24 sata. Diverzitet metabolizma zajednice mikroorganizama (CMD) predstavlja ukupan broj promijenjenih medijuma na mikrotitar ploči, i analogan je sastavu i funkciji mikrobiološke zajednice. Mikrobi- ološki diverzitet zajednice se izračunava prostim brojanjem pozitivnih odgovora manifestovanih promjenom boje u narandžasto, tokom inkubacije i mjerenja aktivnosti. Promjene metaboličkih karakteristika (Graf. 5.4.B) zabilježena je na svim lokalitetima. Za lokalitet „Kraljeva glavica“- Vranjina lipolitska grupa bakterija u toku „ljetnjeg“ uzorkovanja 2017. godine sa vrijednošću od 58 (a to je ujedno bila najveća zabilježena vrijednost tokom istraživanja) za CDM u korelaciji je sa prosječnim metaboličkim odgovor 1,517; a i sa najboljom adaptacijom u korišćenju različitih izvora ugljenika 22 (tab.5.4.a). Međutim, ako uporedimo (Graf. 5.4.A) i (Graf. 5.4.B) za lokalitet Vukovci postoji varijacija iz- među ova dva istraživana parametra. AMR za lokalitet Vukovci -lipolitske je 0,649; a na lokalitet Vukovci-proteolitske je 0,671; dok su vrijednosti CMD bile 57 i 51. Metabolički diverzitet ovog lokaliteta potvrđen je i fenotipskih adaptacijama

za obje grupe mikroorganizama sa po 20 različitih izvora ugljenika na koje su odreagovale. Ovakvi rezultati mogu biti tumačeni direktnim uticajem različitih toksikanata na mikrobiološke populacije. (Battaglin et al., 2009), nalaze da je prisustvo različitih pesticida i njihovih ostataka u uzorcima površinskih i podzemnih voda uticalo na veličinu prosječnog metaboličkog odgovora mikrobioloških zajednica. Takođe, istraživani su i glifosati i ostali herbicidi, kako i na koji način djeluju na bakterijske populacije. Međutim, organski zagađivači ne moraju samo da utiču na diverzitet akvatičkih mikroorganizama, ekološki stres je zabilježen i na mikroorganizmima terestričnih ekosistema (Dobbins et. al., 1999). Radonjić (2016), navodi da su brojni ostaci EmS, dobijenih na osnovu „Skrining“ istraživanja uticali su na promijenjen fenotip mikrobioloških zajednica na lokalitetu Vukovci koje kao izvor „hrane“ koriste ugljenik. Takođe, ukazuju da su fiziološke grupe mikroorganizama tampon za ublažavanje gradijenta ekoloških promjena. Metabolički odgovor za 2018. godinu najveću vrijednost sa 57 je dao lokalitet Vukovci za lipolitske bakterije. Lipolitske bakterije su metabolički dobro odgovorile na lokalitetima „Lijevi krak rijeke Morače“ i „Tanki rt“. Znatno manje vrijednosti za sve parametre i u toku „zimskog“ i u toku „ljetnjeg“ uzorkovanja dobijene su za sve istraživane lokalitete tokom 2016. godine. Pa je maksimalna zabilježena vrijednost za CMD (Graf.5.4.B) na istraživanim lokalitetima bila na lokalitetu „Kraljeva glavica“-Vranjina za lipolitsku grupu bakterija 40, kada je izračnati AMR bio 0,574. Fenotipski mikroorganizmi se mijenjaju, za te promjene potrebno vrijeme i generacijske promjene mikroorganizama. Sedam velikih grupa organskih jedinjenja: ugljeni hidrati, karbonatne kiseline, amino kiseline, fosforilirajuća jedinjenja, estri, amini i polimeri su jedinjenja koja dokazano prva reaguju na eko stres u vodenim sredinama. (Huanhuan et al., 2011) pokazali su da postoji značajne razlike u strukturi zajednica i metaboličkom korišćenju izvora ugljenika između mikroorganizama iz laboratorijski pravljenih uslova i tkz. „divljih sojeva“ iz različitih vodenih ekosistema. Međutim, zajedničko im je da će za izvor energije koristiti polimere, ugljene hidrate, karboksilne kiseline i aminokiseline. U našem slučaju (tab.5.4.a) iz grupe ugljenih hidrata najčešće je bila iskorštena D-ksiloza, a od karboksilne kiseline Glicil-L-glutaminska. D,L- α -Glicerol fosfat kao izvor energije iskoristilo je 50% istraživane populacije fizioloških grupa mikroorganizama. Amino kiseline nije koristila ukupno istraživana populacija, na svi lokalitetima pa se na osnovu (tab.5.4.a) njihovo prisustvo nije zabilježilo na lokalitetima („Tanki rt“-proteolitska grupa bakterija i Zlatica/„Smokovac“-lipolitska grupa bakterija). Amidno jedinjenje putrescin registrovan je na lokaciji Vukovci za obje fiziološke grupe mikroorganizama. Grupa polimernih jedinjenja nije evidentirana u uzorcima (Tanki rt“-proteolitska grupa bakterija, Zlatica/„Smokovac“-lipolitska grupa bakterija i Zlatica/„Smokovac“-proteolitska grupa bakterija). S ciljem utrdivanja i identifikacije postojanja EmS u rijeci Morači i Skadarskom jezeru izvedeno je „Skrining istraživanja“ uzoraka vode, na određenim lokalitetima rijeke Morače i Skadarskog jezera. Lokacije se prostiru na 30.000 ha, i to tri na rijeci Morači: „Vukovci“, „Lijevi“ krak rijeke Morače i „Desni“ krak rijeke Morače, i dvije lokaciji na Skadarskom jezeru. Akcenat je stavljen na donji tok rijeke, njen ravničarski mirni tok i kao i lokacije na Skadarskom jezeru, koje su najviše pod uticajem lokalnog i turističkog stanovništva Tanki rt“ (ispod mosta) i „Kraljeva glavica“ kod Vranjine. Uzorkovanje je izvršeno

u toku visokih voda (zimsko) i niskih voda (ljetnje uzorkovanje) u

4

probalju litoral u toku 2013-2014. godine. Skriningom za „zimski period“ je detektovano 528 hemijskih jedinjenja, a identifikovano je 119. Proporcionalno možemo dokazati da se brojčano na svih 5 lokaliteta u prosjeku hemijska jedinjenja kreću od 90,66 do 93,5 po lokalitetu, dok je identifikacija kod prva tri lokaliteta 28 po lokalitetu, a na lokalitetima 4 i 5 po 17 hemijskih jedinjenja (Tab.5.4.a) EmS pokazuju interesantne fizičko-hemijske osobine:

rastvorljivost, isparljivost, sposobnost adsorpcije i apsorpcije, biorazgradljivost, stabilnost, perzistencija, polarnost i

6

slično, a zavise od strukture i broja asimetričnih ugljenikovih atoma. Takođe, utvrđeno da različite grupe jedinjenja mogu imati jednu ili više izraženijih sposobnosti u odnosu na ostale grupe hemikalija. Tako npr.

estri, aromatični alkoholi i nitril grupa imaju izraženu **sposobnost biodegradacije dok aromatični amini, jodidi, nitro i azo grupa perzistenciju jedinjenja**

6

. Upravo te njihove osobine, nizak vodostaj kao i mogućnost migracije-taloženja u sediment, detektujemo sa 70-hemijskih jedinjenja u toku „ljetnjeg“ režima, odnosno desetak identifikacija na svih pet lokaliteta. Analizom vode rijeke Morače njenog ravničarskog dijela toka, na svim lokalitetima kvantifikovane su različite EmS: Benzil salicilat, Hidroksilamin, 1-Tricosanol, 1-Octanol, Dibutil ftalat, Undecan, 3-metil-Dodecan, Ciclohexan, Heneicosan, 11-(1-ethylpropil), 2,6-Diisopropilnafen, Disulfid, di-tert-dodecil, 1-Tricosanol, Acetic acid, (1,2-dimetil-1-propenil) a koriste se u industriji sapuna, šampona, hemijskoj industriji, industriji parfema i krema, čime se najprije može pretpostaviti najveći uticaj kanalizacionih voda sa tradicionalnim metodama prečišćavanja. Glavna pritoka Skadarskog jezera, rijeka Morača, svakako je i najveći recipijent otpusnih, industrijskih i kanalizacionih voda glavnog grada Crne Gore, Podgorice i okolnih naselja. Podgorica ima samo jedan kolektor za preradu otpadnih voda, pa uz to i saznanje da je taj kolektor pravljen u vrijeme kada je Podgorica ima 150, 000 stanovnika, što je duplo manje u odnosu na današnji broj. Uz to saznanje kao i da se najveći broj EmS ne mog tretiranjem u Kolektorima (Sistemima za prečišćavanje voda) otkloniti sasvim je jasno odakuda njihovo prisustvo u analiziranim uzorcima voda tokom ovog istraživanja. Na lokalitetima „Kraljeva glavica“-Virpazar i „Tanki rt“-ispod mosta zapaženo je prisustvo farmaceutika i to: Allopregnane; Pregnane, (5.alpha.) Methane; kao i dichloro- (CAS); Dichloromethane; R 30; Freon 30; Narkotil. Prisustvo proizvoda za ličnu higijenu utvrđeno otpadnoj, površinskoj i pitkoj vodi i u sedimentima sliva reke Turije (Valensija, Španija) (Carmona et al., 2014). Na osnovu istraživanja objavljenim na <http://publications.gc.ca/site/eng/474929/publication.html> utvrđene je prisustvo lekova, hormona i drugih EmS u rijeci St. Lawrenceu na 11 lokaliteta i tri njene pritoke Ottawa, Richelieu i Saint-Maurice, analizirajući uzorke vode nizvodno od Monteala.

Primarnim skriningom uzoraka površinske vode Dunava u okolini grada Novog Sada detektovano je više od 150 organskih polutanata iz grupe industrijskih emergentnih i prioriternih supstanci

35

Istraživanja su pokazala da se određene EmS češće registruju u samom Dunavu nego u njegovim pritokama (Loos, 2010). **Karakteristično je da se kofein, gemfibrozil, nitrofenoli, PFHpA, PFOA,**

6

PFOS, karbamazepin , sulfametoksazol, **terbutilazin** , NPE1C i **benzotriazoli** detektuju **skoro u svakom uzorku vode Dunava. U pritokama frekventnije se registruju simazin, bisfenol A i**

nonilfenol (Dimkić et al., 2011).

Uočena pojava objašnjava se specifičnim emisionim izvorima, degradacionim procesima i razblaženjem nakon ulivanja u Dunav

6

. Preliminarna kvalitativna

analiza ukazuje na prisustvo kofeina , metiljasmonata, **cikloheksasiloksana, trifenilfosfata, terc**
-bu-tiloksaspirodeka- dien-diona , metil jona i **benzotriazola**

6

(Miloradov et al., 2011) S

obzirom na to da je velika teritorija aluvijalne ravni Dunava

6

država kroz koje protiče: **Nemačke, Austrije, Slovačke, Mađarske, Hrvatske, Srbije, Bugarske, Rumunije, Moldavije, Ukrajine i drugih u okviru sliva**

6

, razumljivo je da postoji značajno odstupanje u broju i kvalitativnoj dinamici EmS u rijeci Dunav u odnosu na rijeku Moraču i Skadarsko jezero.

Jedna od novoprepoznatih fizičko-hemijskih karakteristika EmS **u životnoj sredini je**
pseudoperzistencija. **Permanentno ispuštanje otpadnih voda iz postrojenja za prečišćavanje i**
direktan unos u akvatične sisteme bez tretmana, izazivaju pojavu nove karakteristike –
pseudoperzistencije. I pored relativno kratkog vremena polu-života

6

($t_{1/2}$) emergentnih hemikalija, karakteristika konstantnog prisustva EmS i delovanje na akvatične organizme kategorizuje ih u pseudoperzistentne polutante. Odnedavno, nalaženje, sudbina, i uticaj farmaceutika na akvatične organizme je od izuzetnog značaja. Evropska komisija je od 31. januara 2012. godina predložila spisak supstanci (tkz. Watch list) od značajnog rizika i u isti uvrstila: 17-etinilestradiol (EE2), 17- β -estradiol (E2) i diclofenac (EU, 2012)

Environmental Protection Agency-Agencija za zaštitu životne sredine (EPA) je formirala i listu farmaceutskih supstanci za pijaće vode u koju je uključila i antibiotik eritromicin i estrogene hormone17--estradiol, estriol and estrone (Rodriguez, 2007). Na osnovu

[https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/PDF/?uri=CELEX :32018D0840& from=EN](https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32018D0840&from=EN)

25

, možemo da konstatujemo da Članom 8b Direktive e 2008/105/EZ lista proširena još Clarithromycin, Azithromycin, Amoxicilin i Ciprofloxacin. (Bringolf et al., 2010; Ramirez et al., 2007) dokazali su da se različiti farmaceutici akumuliraju u ribama, pa je u svih 11 ispitivanih uzoraka prisustvo dokazano u koncentraciji od 0,11 do 5,14 ng/g. Detektovani su diphenhydramin, diltiazem, carbamazepin i norfluoxetin. 1-H-benzotriazol, kofein, progesteron, levonorgestrel, tolitriazol, TCEP, TBEP, TCCP, estron, 17β-estradiol, estriol, 17-α-Ethinylestradiol, estron-3-sulfat, bisphenol A, triklosan, methylparaben, ethilparaben, propilparaben i benzilparaben su 19 EDCs koji su ispitivali različiti naučnici iz različitih razloga (

Brooks et al., 2005; Ramirez et al., 2009; Du et al., 2012; Jakimska et al., 2013

28

). Svima je nalažnje koncentracije PhAC i EDCs u tkivima riba bilo interesantno prvenstveno što ribe organizmi koji su plivajući, mogu biti u svim djelovima akvatičnih ekosistema, te su im stoga dostupne relativno velike oblasti, tokom dužeg vremenskog perioda na koji se mogu metabolički prilagoditi, bioakumulacija je manje prepoznatljiva kod njih nego kod drugih organizama. Od svih EDCs koji su ispitani u mišićima riba u toku ovog istraživanja jedino je dokazano prisustvo Triclosana u koncentraciji 14,1±1,3 ng g⁻¹ mišićnom tkivu ribe *Alburnus alburnus*. Nijesu detektovani ostalih 18 komponenti u istraživanoj bioti. Od početka vijeka pa na ovamo, vršena su različita ispitivanja kojima je prepoznat uticaj EDCs, koje mogu izuzetno negativno mogu da utiču na akvatične organizme, djelujući na fertilitet i fekunditet, muskulinizaciju ženskih odnosno feminizaciju muških organizama, prvenstveno riba (Jobling et al., 2003; Falconer et al.,). Huerta et al., (2013), u analizi riba Mediteranskog sliva utvrdili su prisustvo EDCs i to: setilparaben, metilparaben, propilparaben, TBEP i triklosan u koncentraciji do 100 ng g⁻¹. Vršena su ispitivanja iz tkiva riba

Barbus graellsii, Micropterus salmoides, Cyprinus carpio, Salmo trutta, Silurus glanis, Anguilla anguilla, Lepomis gibbosus, Gobio gobio, Luciobarbus sclateri, Aburnus alburnus i *Pseudochondrostoma willkommii*

19

izlovljenih u toku ljeta 2010. godine iz četiri rijeke Mediteranskog sliva (Ebro, Llobregat, Júcar i Guadalquivir). U toku ovog istraživanja istraživani farmaceutici: atenolol, carazolol, metropolol, nadolol, propranolol, sotalol, karbamazepin, citalopram, diazepam, 10,11-epoxyCBZ, 2-hydroxyCBZ, lorazepam, sertralin, venlafaxine, clopidrogel, kodein, levamisol, salbutamol, diclofenak i hydrochlorothiazid i nisu dokazani. Zajednička karakteristika PhACs kao i EDCs je njihova najčešće izuzetno niska koncentracija koja se kreće u rangu ng/L i niže, njihovi djelovi molekula mogu biti izuzetno reaktivni sa bilo kojim organizmima (Hernando et al., 2006; Huerta et al., 2013) U literaturi ima mnogo radova kojima je

objašnjeno zašto baš ribe predstavljaju naznačajniju limnetičku komponentu u lancu ishrane, kao tema za ispitivanje bioakumulacije u svojim tkivima (

Brooks et al., 2005; Ramirez et al., 2009; Du et al., 2012; Jakimska et al., 2013

28

). Bioakumulacija PhACs i EDCs u akvatičnim organizmima može se desiti direktnom biokoncentracijom putem inhalacione izloženosti i trofičkim transverom. Mackay & Fraser, (2000) ukazali su da je najvjerovatnije hidrofobična komponenta odgovorna za bioakumulaciju u slatkovodne organizme, a da će se najvišije pozicioniranim organizmima u trofičkom sistemu najviše prepoznati efekat (Fisk et al., 2005). U okviru eksperimentalnog istraživačkog rada 2017-2018. godine detektovan je značajan broj EmS i nastavak istraživanja usmjeren na određen broj prioriternih supstanci/farmaceutika (PhACs) u vodi na istraživanim lokalitetima. Istraživanja su bila fokusirana na sledeće grupe jedinjenja: Analgetici/anti-inflamatori, regulatori lipida i holesterola, psihotici, histamin H1 i H2, β -blokatori, diuretici, antidiabetici, lijekovi za snižavanje pritiska, antiagregatori, lijekovi hi- perplazije prostate, lijekovi za astmu, antikoagulanti, rendgenski kontrastni agensi, antihelminthici, sintetički glukokortikoidi, lijekovi za sedaciju i relaksaciju mišića, trankvilizatori, antibiotici, blokatori kalcijumskih kanala. Pozitivni rezultati su dobijeni u grupama: Analgetici/anti-inflamatori i rendgenski kontrastni agensi. Analizom vode Morače duž čitavog toka, od Zlatice/Smokovca, do "Lijevo" i "Desno" kraka rijeke Morače, u svakom analiziranom uzorku kvantifikovani su značajni koncentracijski nivoi salicilne kiseline. Salicilna kiselina detektovana je na svim lokacijama u rangu koncentracije (11,91 ng L⁻¹) i više, što je i do 10 niža viša koncentracija nego što su (Cormona et al., 2014) pronašli ispitujući površinske i pijaće vode bazena rijeke Turia. Što se tiče nalaženja ostalih PhACs najniže koncentracije u vodi rijeke Morače i Skadarskog jezera zabilježene su za Acetaminophen ne steroidni, inflamatorni lijek u prosjeku (1,97 ng L⁻¹) i više, što je mnogo niže nego što su (Huerta et al., 2014) zabilježili (222 ng L⁻¹) u rijeci Segre Španija. Lijek Isopromid identifikovan je na lokacijama Vukovci, "Lijevi" i "Desni" krak rijeke Morače samo tokom ljetnjeg uzorkovanja. Faisal et al., (2018) predložili su da se nalaženje PhACs prihvati kao jedan sveopšti marker antropogenog uticaja na vodeni ekosistem. Neočekivano mala abudanca nalaženja PhACs u uzorcima vode, na svim lokalitetima tokom ovog istraživanja (od 19 grupa identifikovane su dvije grupe) nije neuobičajna pojava. Naime, autori (Sanderson et al. 2004), smatraju da je stvarna abudanca u vodenim ekosistemima za većinu PhACs ispod one koja se predviđa, ali da najveću opasnost predstavljaju kardiovaskularni i gastrointestikalni lijekovi, što se ne poklapa sa našim istraživanjima. Maksimalne koncentracije

u uzorcima Dunava detektovane su za sulfametoksazol (11600 ng/l), ciprofloksacin (2610 ng/l 6
, gemfibrozil (1700 ng/l), kofein (1467 ng/l), eritromicin (420 ng/l), benzotriazol (380 ng/l), 4-AAA (354 ng/l), NPE1C (307 ng/l), nonilfenol (240 ng/l), trimetoprim (223 ng/l), 4-FAA (213 ng/l), toliltriazol (130 ng/l), bisfenol A (68 ng/l), karbamazepin (66 ng/l) i terbutilazin (63 ng/l), a u pritokama reke Dunav za kofein (6798 ng/l), NPE1C (3352 ng/l), nonilfenol (1400 ng/l), karbamazepin (945 ng/l), ibuprofen (718 ng/l), bisfenol A (490 ng/l

) (Loos et al., 2010; Dimkić et al., 2011; Miloradov et al., 2011). Maksimalno dobijena vrijednost HQ za sve istraživane lokacije tokom istraživanja 2017.-2018. godine bila je 0,009 ng/l za lokalitet "Desni" krak rijeke Morače za lijek Salicilna

kisjelina. Tokom ovog istraživanja HQ indeks za PhAC je bilo moguće izračunati samo za grupu NSAID lijekova odnosno, pomenute za Salicilna kisjelina i Acetaminofen. (Gonzalez-Naranjo & Boltes, 2014) takođe, proučavali HQ NSAID lijekova, u njihovom slučaju Ibuprofena, na različitim organizmima u kombinaciji sa uzorcima vode i sedimenta. Tokom našeg istraživanja maksimalna vrijednost HQ lijeka Acetaminofen koji je po generičkom imenu Paracetamol, iznosila je 0,007 ng/l, čime je daleko ispod visoko rizične. U studiji Valcar- cel et al. (2011), dobijeni su HQ za nekoliko farmaceutskih proizvoda na različitim mestima za uzorkovanje duž rijeka i u oblastima snabdevanja pitkom vodom u regionu Madrida (Španija). Cilj je bio da se procijene postojeći i istovremeno, uporede podaci o ekotoksičnosti za svaku pojedinačnu hemikaliju uzeti iz literature ili, ako nisu dostupni, procijenjeni pomoću modela (K) SAR. Slično tome, Yamamoto et al. (2011) primijenili su dva pristupa za kumulativnu procjenu rizika, kako bi procijenili rizik zbog pojave sedam parabena u vodi, ali njihova procjena opasnosti bila je zasnovana na podacima o toksičnosti dobivenim za svako jedinjenje pojedinačno, i nisu uključivali nikakve sinergističke ili antagonističke efekte. Desbiolles et al., (2018), utvrđujući pojavu i ekotoksikološku procjenu lijekova: odnosno utvrđujući postoji li HQ za Mediteranski sliv i okruženje, ciljano su ispitivali prisustvo 49 PhACs u vodenom ekosistemu. Na osnovu MEC i primjenom HQ indeksa za ekološku procjenu rizika utvrđeno je da postoji rizik za 13 jedinjenja od kojih su najznačajnija 17 α -etinilestradiol, metoprolol, 8 antibiotika i 3 NSAID. Utvrđivanje HQ za NSAID u uzorcima voda na istraživanim lokalitetima, tokom našeg istraživanja, potvrđuje se sve veća prisutnost i potreba za ovom vrstom lijekova. Identifikujući HQ kao jedan od ekoloških pokazatelja stanja voda u odnosu na prisustvo polutanata u urbanim otpusnim vodama, (Gosset et al, 2017) su konstatovali da od 207 uzoraka Evropskih voda, samo je bilo moguće utvrditi vrijednosti za MEC u uzorcima 61 kišnice i 49 kombinovanih uzoraka ispusnih i industrijskih voda, poslije prečišćivača. U uzorcima su (Orias et al, 2013), utrdili su prisustvo 17 β -estradiol, klotrimazola, kao i prisustvo lijekova NSAID ibuprofen i salicilna kisjelina. Naučnici kao Passerat et al. (2011) visoku koncentraciju bakterija E.coli (107 kolonija/litru) do- vode u vezu s time da je smanjen broj indentifikovanih hemikalija u vodi i da su mnogo češća jedinjenja koja su nastala kao rezultat razgradnje istih od stane bakterija, pa je njihova toksičnost time manja i umjerenija. Istraživanja u okviru ovog rada pokazala su da postoji izvjesna različitost ekoloških faktora na "nultoj tački" Zlatica/Smokovac, u odnosu na ostale lokalitete, te da to ima uticaja na distribuciju i populacionu dinamiku bakterija, ali isto tako i na njihovu fenotipsku adaptaciju, odnosno prosje- čan metabolički odgovor. Istraživanja su dokazala prisustvo EmS na svim lokalitetima, prisustvo PhACs takođe je u uzorcima vode na svim lokalitetima, te da je njihovo prisustvo izražajnije za vrijeme „niskih voda“ pa ovo istraživanje predstavlja dobru smjernicu za buduća istraživanja a značajnu osnovu za usaglašavanje ekoloških legistiva sa Evropskim ekološkim legistivama.

ZAKLJUČCI 7. ZAKLJUČCI U okviru ove disertacije dato je na predlog uvođenje novih terminina u naučno tijelo Crne Gore: „Emergentne supstance“ (EmS) i „Endokrino uznemiravajućih komponenti“ (EDCs), sa poseb- nim ciljem unapređenje ekoloških smjernica za usaglašavanje postojeće legistive sa Evropskom legistivom. U tu svrhu sprovedena su istraživanja u periodu od 2013. do 2018. godine u početku sa pet, a od 2017. na šest lokaliteta najvećih vodenih tijela Crne Gore, rijeke Morače i Skadar- skog jezera na površini od 30, 000 hektara, u toku „zimskog“ i „ljetnjeg“ aspekta voda, odnosno u vrijeme viskih voda i niskog vodostaja. Ukupno je analizirano 130 uzoraka vode na različite vrste ispitivanja i 6 vrsta tkiva ekonomski najznačajnih vrsta riba Skadarskog jezera na ukupno 39 vrsta EDCs i farmaceutika.

grupa bakterija u vodi istraživanih lokaliteta, zavisi od fizičko-hemijskih parametara što je dokazano istraživanja po sljedećim parametrima: temperatura vode i vazduha, pH, elektrolitička provodljivost, utrošak KMnO₄, određivana je koncentracija nitrata i nitrita u vodi, kao i hloriga, fluorida, rastvorenog kiseonika u vodi, zasićenost vode kiseonikom i biološka potrošnja kiseonika u vodi (BPK₅). Relativno neujednačena temperatura vode, osnovni je uzrok velikog sezonskog variranja u brojnosti istraživanih grupa mikroorganizama. Temperatura vode u toku „zimskog“ aspekta ispitivanja datih lokacija pokazala je odstupanje u odnosu na ostale lokalitete, na lokaciji Zlatica/Smokovac, pa je maksimalna temperatura vode za ovaj period na lokaciji 13°C i to u novembru 2017. godine, a najniža u januaru te iste godine 3°C. Temperaturne razlike za „ljetnji period“ vode na lokaciji Zlatica/Smokovac evidentna je u toku majskog istraživanja kada je bila za 5°C niža u odnosu na ostale lokalitete. Upoređivanjem rezultata fizičko-hemijskog ispitivanja voda „zimskog“ i „ljetnjeg“ aspekta, utvrđuju se značajne razlike u temperativnom režimu vode i vazduha. Pregledom vrijednosti fizičko-hemijskih rezultata voda istraživanih lokacija, tokom 2017.-2018. godine konstatujemo da je saturacija kiseonikom tokom sveukupnog istraživanja velika. I u toku „ljetnjeg režima“ vode ispitivanih lokacija bile su saturisane kiseonikom i uglavnom su se kretale preko 100% zasićenja sa kiseonikom. Utrošak KMnO₄ značajniji je u toku ljetjeg uzorkovanja i kreće se od (1,29-3,2) za lokalitet Zlatica/Smokovac do maksimalno izračunatih 5,82 mg/dm³ za lokalitet „Lijevo“ krak rijeke Morače. Na osnovu obavljenih hemijskih analiza voda istraživanih lokaliteta, možemo reći da one pokazuju dobre karakteristike pa se sve vode istraživanih lokacija mogu svrstati u A1 i A2 klasu (Uredba o klasifikaciji i kategorizaciji voda, „SI list RCG 15/97“). Zaključujemo da u toku ovog istraživanja koristeći heterotrofne bakterije kao indikatore kvaliteta vode, kvalitet vode varira i da pripada I, II klasi i III klasi. Prateći sezonsku dinamiku fizioloških grupa mikroorganizama (amilolitskih, proteolitskih i lipolitskih bakterija) uočava se da su u toku perioda visokih voda prisutne sve tri vrste bakterijskih grupa ali da je u odnosu na ostale lokalitete za lokalitet Zlatica/Smokovac abudantno niska i kontantna. Utvrđena je dominacija amilolitskih bakterija na lokaciji „Desni krak rijeke Morače“ registrovana je toku septembra 2017. godine sa 9000/cm³ kolonija. Izračunate su vrijednosti proteolitskih grupa bakterija i pokazuju najznačajniju brojnost na lokacijama: „Kraljeva glavica“-Vranjina sa preko 60000/cm³ u septembru 2017; „Desni krak rijeke Morače“ u januaru 2018. godine sa preko 60000/cm³. Dokazano je da su lipolizne bakterije su u toku septembra 2017. godine na lokaciji „Tanki rt-ispod mosta Jezero, brojno bile najdominantnije sa 40000 kolonija bakterija. Takođe, zabilježena su još dva manja „pika“ u novembru 2017. godine 5000 na lokalitetu Vukovci i na lokalitetu Zlatica/Smokovac u decembru 2017. godine. Korišćenjem Mann Whitney U testa, statistički su dokazane razlike dobijenih rezultata u toku „zimskog“ i „ljetnjeg“ uzorkovanja, mikrobiološkog kvaliteta vode na istraživanim lokacijama, kako u pogledu rezultata dobijenih opservacijom fizioloških grupa mikroorganizama, tako i u sanitarnom aspektu mikrobiološkog kvaliteta vode istraživanih lokacija. Postoji statistički značajna razlika u broju amilolitskih bakterija na ispitivanim lokacijama između ljetnjeg i zimskog uzorkovanja koja se može prikazati kao ($p = 0.014$) u korist „ljetnjeg“ istraživanja. Visina vodenog stuba u ljetnjem periodu i velika debljina mulja, pomogli su prevagnu u korist koliformnih bakterija i bakterija fekalnog porijekla. Ujedno su doprijetili intenzitetu anaerobnih procesa razgradnje organskih materija u mulju, gdje indentifikacija sulfidoredukujućih klostridija može poslužiti kao dokaz. Tokom istraživanja sprovedenog 2017. - 2018. godine na svim istraživanim lokacijama bile su prisutne koliformne bakterije fekalnog porijekla. Značajan podatak da je i se u vodi lokaliteta Zlatica/Smokovac tokom cijelogodišnjeg istraživanja evidentiralo prisustvo koliformnih bakterija fekalnog porijekla. Identifikovani su: *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter diversus*, *Serratia* sp. *Citrobacter aerogenus*, *Streptococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii* identifikovani su na lokalitetu. *Pseudomonas aeruginosa*, je identifikovan u septembru 2017. godine. Sulfidoredukujuće klostridije i *Proteus* vrste nisu identifikovane. Na lokalitetu „Kraljeva glavica“-Vranjina

prebrojane 38 kolonije *Streptococcus faecalis*, 15 ko- lonija sulfidoredukujućih klostridija u toku septembarskog ispitivanja, a jedna kolonija u maju 2017.godine pa možemo konstatovati da je na ovom lokalitetu zabilježen i najveći broj kolonoja sulfidoredukujućih bakterija. Fenotipske adaptacije fizioloških grupa mikroorganizama određivane su na osnovu promjena definisanih vrijednostima CLPP izračunavanjem AMR i CDM, ali i fenotipskih adaptacija na korištenje različitih izvora ugljenika kroz vrijeme (2016.godine-2018. godine) na istraživanim lokalitetima. U toku "ljetnjeg" režima voda 2017. godine izračunata je maksimalna vrijednost za AMR 1,517 na lokalitu „Kraljeva glavica“-Vranjina i čini dokaz i to da je u ovom uzorkovanju ova grupa mikroorganizama od ukupno 31 odreagovala na 22 različita izvora ugljenika. Najniža vrijednost za AMR i tokom 2017.godine zabilježena na lokaciji-„Desni krak rijeke Mo- rače“ sa vrijednošću 0,026 i bila je za (-0,027) niža u odnosu na 2018. godinu. U "ljetnjem" periodu 2016. godine "pik" za AMR imao je za 0,517 nižu vrijednost u odnosu na isti period 2017. godine. Ova vrijednost je izračunata na lokaciji "Tanki rt", a minimalna vrijednost u toku „zimskog“ aspekta voda za 2016. godinu na lokaciji "Lijevi krak rijeke Morače" izračunata na lokaciji "Kraljeva glavica"-Vranjina. Dokazano je da postoje promjene metaboličkih karateristika na svim lokalitetima. Za lokalitet "Kraljeva glavica"- Vranjina toku „ljetnjeg“ uzorkovanja 2017. godine zabilježeno su najznačajnije fenotipske adaptacije sa vrijednošću od 58 (a to je ujedno bila najveća zabilježena vrijednost tokom istraživanja) za CDM, sa prosječnim metaboličkim odgovor 1,517; sa najboljom adaptacijom u korišćenju različitih izvora ugljenika 22. Utvrđeno je da na lokalitetu Vukovci postoji varijacija između AMR i CMD. Metabolički diver- zitet ovog lokaliteta potvrđen je i fenotipskih adaptacijama za obje grupe mikroorganizama sa po 20 različitih izvora ugljenika na koje su odreagovala, što ukazuje na direktan uticaj različitih toksikanata na mikrobiološke populacije. Utvrđene su znatno manje vrijednosti za sve parametre i u toku „zimskog“ i u toku „ljetnjeg“ uzorkovanja dobijene su za sve istraživane lokalitete tokom 2016. godine. Pa je maksimalna zabilježena vrijednost CMD za istraživane lokacije bila na lokaciji "Kraljeva glavica"-Vranjina CMD 40, a AMR je iznosio 0,574. Možemo zaključiti fenotipski mikroorganizmi se mijenjaju, ali da je za te promjene potrebno vrijeme i generacijske promjene mikroorganizama. Na osnovu prvih „Skrining analiza“ površinskih voda rijeke Morače i Skadarskog jezera utvrđeno je prisustvo velikog broja organskih jedinjenja (528), a identifikovano je (119). Na svim lokalite- tima utvrđeno je prisustvo: Benzil salicilat, Hidroksilamin, 1-Tricosanol, 1-Octanol, Dibutil ftalat, Undecan, 3-methyl- Dodecan, Ciclohexan, Heneicosan, 11-(1-ethylpropil), 2,6-Diisopropilnafta- len, Disulfid, di-tert-dodecil, 1-Tricosanol, Acetic acid, (1,2-dimetil-1-propenil) estar, a koriste se u industriji sapuna, šampona, hemijskoj idustriji, industriji parfema i krema, farmaceutske industriji i hemijskoj industriji. Od svih EDCs i PhACs u tkivima riba utvrđena je koncentracija Triclosan od $14,1 \pm 1,3$ ng g⁻¹ mišićnom tkivu ribe *Alburnus alburnus*. Analizom uzoraka vode na prisustvo PhACs na lokalitetima, registrovane su Salicilna kisjelina detektovana je na svim lokacijama u rangu koncentracije (11,91 ngL⁻¹) i više. Od ostalih NSAD u ispitivanim uzorcima voda rijeke Morače i Skadarskog jezera zabilježeno je prisustvo acetami- nophen (Paracetamola) sa prosječnom koncentracijom od (1,97 ngL⁻¹). Ovo navodi na zaključak da ispitivane vode pokazuju vrlo niske koncentracije EmS, značajno niže u odnosu na slične rijeke u Evropi. U odnosu na identifikovane koncentracije lijekova u uzorcima vode, utvrđeno je da ne postoji potencijani ekološki rizik, odnosno da su se vrijednosti HQ nalazile ispod 0,01. Na osnovu svega izloženog može se zaključiti da su rijeka Morača i Skadarsko jezero, zahvalju- jući prije svega dominaciji autotrofnih vrsta mikroorganizama, kao i prisustvu fizioloških grupa mikroorganizama još uvijek "nezagađeni" akvatični ekosistemi. Preporuke: Bez obzira na to što je na osnovu HQ zaključeno da ne postoji potencijalni ekološki rizik, sma- tramo da se mora završiti projekat pravljenja novog postrojenja za prečišćavanje voda (otpadnih i odcjednih) koje nakon tretmana idu u rijeku Moraču, odnosno Skadarsko jezero. Sagledavajući i to da je ovakvo sveobuhvatno istraživane prvo ovakve vrste urađeno u Crnoj Gori, kao i da su slična istraživanja pokazala da se i poslije sistema za prečišćavanje voda EmS nalaze u vodi, dali smo sebi dodatni zadatak a to je kako da pomognemo

vodenim ekosistemima da iskoriste svoje prirodne potencijale. U tu svrhu koristili smo model cilindričnog reaktora i autopurifikacije autohtonim mikroorganizmima. Izabrali smo lokalitet Vukovci zbog najbolje pristupačnosti. Kinetički cilindrični model reaktora dokazano povećava nivo autopurifikacije, smanjuje koncentracije NADCs, predstavlja odličnu teoriju za bolji regionalni razvoj i ekološku održivost. Rad je objavljen u Application of the Model of Cylindrical Reactor for Self-Purification by Indigenous Microorganisms. LITERATURA Literatura: 1. Albright, L.J., Mc Crae, S.K. (1987): Annual Bacterioplankton Biomasses and Productivities in a Temperature West Coast Canadian Fjord, Appl. Environ. Microbiol., 1277-1285. 2. Alvero, C.C. (1987): Antibiotic resistance of heterotrophic bacterial flora of two lakes, System Appl. Microbiol., 9, 169–172. 3. Al-Ghazali, M.R., Jazrawi S.F., Al-Doori Z.A. (1988): Antibiotic resistance among pollution indicator bacteria isolated from Al-Khair River, Baghdad, Water Res., 22, 641–644. 4. Battaglin, W.A., Kolpin D.W., Scribner, E. A., Kuivila, J. M., Sandstrom, M.W.(2005):Glyphosate, other herbicides, and transformation products in Midwestern streams, 2002., Journal of the American Water Resources Association 41(2): 323-332. 5. Bečelić-Tomin, M., Leovac, A., Kerkez, Đ., Krčmar, D., Dalmacija, M. (2012):Parametri kvaliteta vode i sedimenta i tumačenje standarda (imisioni standardi), PMF – Departman za hemiju, biohemiju i zaštitu životne sredine, Novi Sad, str. 133–208. 6. Bianco, P. G., Kottelat, M. (2005): Scardinius knezevici, a new species of rudd from Lake Skadar, Montenegro (Teleostei: Cyprinidae), Ichthyol. Explor. Freshwat. 16(3):231-238. 7. Bonaparte, C. L. (1841): Aspius alburnus (Aspius alborella). – In Iconografia della fauna italica. Pesci, Salvucci, Roma 3: 1832-1941. 8. Boyd, C. E., Lichtkoppler, F. (1979): Water quality management in pond fish culture, Research and Development series No. 22. Project AD/DSANG0039. Alabama, 30 pp. 9. Buser, H.R., Poiger, T., Müller, M.D. (1998): Occurrence and fate of the pharmaceutical drug diclofenac in surface waters: rapid photodegradation in a lake, Environ. Sci. Technol., 32, 3449–3456. 10. Bringolf, R.B., Heltsley, R.M., Newton, T.J., Eads, C.B., Fraley, S.J., Shea, D., Cope, W.G (2010): Environmental occurrence and reproductive effects of the pharmaceutical fluoxetine in native freshwater mussels, Environ. Toxicol. Chem., 29, 1311–1318. 11. Carmona E, Vincente, A., Picó, Y.(2014): Occurrence of acidic pharmaceuticals and personal care products in Turia River Basin: from waste to drinking water, Science of the Total Environ. Volume 484; 5363. 12. Choi, K.H, Dobbs, F.C.(1999): Comparison of two kinds of Biolog microplates (GN and ECO) in their ability to distinguish among aquatic microbial communities, J. Microbiol. Meth., 36: 203–213. 13. Connell, D. W., Paul, L., Richardson, B. (2009): Introduction to Ecotoxicology. Hoboken, NJ, USA, Wiley-Blackwell 44–80. 14. Campeau, R.C., Gulli, L.F., Graves J.F. (1996): Drug resistance in Detroit River Gram-negative bacilli, Microbios., 88, 205–212. 15. Carballa, M., Omil, F., Lema, J.M., Lompart, M., Garcia-Jares, C., Rodriguez, I., Gomez, M., Ternes, T. (2004): Behavior of pharmaceuticals, cosmetics and hormones in a sewage treatment plant, Water Res., 38, 2918–2926. 16. Clara, M., Strenn, B., Kreuzinger, N. (2004): Carbamazepine as a possible anthropogenic marker in the aquatic environment: investigations on the behaviour of Carbamazepine in wastewater treatment and during groundwater infiltration, Water Res., 38, 947–954. 17. Céspedes, R., Lacorte, S., Raldúa, D., Ginebreda, A., Barcelò, D., Piña, B. (2005): Distribution of endocrine disruptors in the Llobregat River basin (Catalonia, NE Spain), Chemosphere 61, 1710–1719. 18. Choi, K.H., Dobbs, FC. (1999): Comparison of two kinds of Biolog microplates (GN and ECO) in their ability to distinguish among aquatic microbial communities, J. Microbiol. Meth. 36, 203–213. 19. Dalmacija, B. (2001): Kontrola kvaliteta voda, 381-457. Novi Sad, Prirodno-matematički fakultet, Institut za hemiju Katedra za hemijsku tehnologiju i zaštitu životne sredine.p.p. 1-243 20. Daughton, C.G.(2002): Environmental stewardship and drugs as pollutants, Lancet 360, 1035–1036. 21. Dobbin, P.S., Carter, J. P., San Juan. C., von Hobe, M., Powell, A. K., Richardson DJ.(1999):Dissimilatory Fe(III) reduction by Clostridium beijerinckii isolated from freshwater sediment using Fe(III) maltol enrichment, FEMS Microbiol. Lett., 176, 131–138. 22. Daubner, I. (1975): Changes in the properties of E.coli under the influence of water environments, Verh. Internat. Verein. Limnol., 19, 2650–

2657. 23. Dimkić, M.A., Đurić, D., Milovanović, M., Laušević, M., Jevtić, G., Petković, A. (2011): Natural attenuation of emerging pharmaceuticals by bank filtration in addressing regional groundwater management issues, *Water Research and Management* 1 29–45. 24. DIRECTIVE 2000/60 EC of the European Parliament and of the council of 23 October 2000. 25. Đukić, N. (1982): Sastav faune Oligochaeta u nekim vodama Vojvodine u zavisnosti od ekoloških faktora, *Zbornik za prirodne nauke Matice srpske*, No. 63, 107–141. 26. Đukić, N., Pujin, V., Maletin, S., Gajin, S., Gantar, M., Petrović, O., Ratajac, R., Seleši, Đ., Matavulj, M. (1991): Eutrofikacija stajaćih voda Vojvodine I deo u: *Vode Vojvodine 1991, Godišnjak vodoprivrede Vojvodine*, Novi Sad. 27. Đukić D., Jemecev V. (2000): *Mikrobiologija*, Beograd. p.p.1–965. 28. Đukanović, M. (1991): *Ekološki Izazov*, Elit Beograd. 29. European Commission, Proposal for a Directive of the European Parliament and of the Council amending Directives 2000/60/EC and 2008/105/EC as regards priority substances in the field of water policy, in 2011/0429 (COD), Brussels, 2012. 30. Fries, E., Mihajlovic, I. (2011): Pollution of soils with organophosphorus flame retardants and plasticizers, *J. Environ. Monit.* 13, 2692–2694. 31. Gajin, S., Svirčev, Z., Galonja, T., Matavulj, M., Petrović, O., Radnović, D., Simeunović, J. (1998): Stanje vode reke Tamiš prema mikrobiološko-biohemijskim pokazateljima. *Naučna monografija: Naš Tamiš*, Urednici: Marković B. I Svirev Z. Univerzitet u Novom Sadu. 39–44. 32. Gajin, S., Radnović, D. (1997): *Biološko ispitivanje kvaliteta vode, u Priprema vode za piće u svetlu novih standarda i normativa*, ed. Dalmacija, B., Univerzitet u Novom Sadu, 53–68. 33. Gajin, S., Gantar, M., Matavulj, M., Petrović, O. (1984): *Mikrobiološki pokazatelj kvaliteta Dunavske vode*, *Zbornik radova konferencije Zaštite voda 1984*, I, 91–94. 34. Gros, M., Rodríguez–Mozaz, S., Barceló, D. (2012): Fast and comprehensive multi-residue analysis of a broad range of human and veterinary pharmaceuticals and some of their metabolites in surface and treated waters by ultra-high-performance liquid chromatography coupled to quadrupole-linear ion trap tandem J. *Chromatog. A* 1248: 104–21. 35. Garland, J.L., (1996): Patterns of potential C source utilization by rhizosphere communities, *Soil Biol Biochem.*, 28, 223–230. 36. Garland, J.L., (1996): Analytical approaches to the characterization of samples of microbial communities using patterns of potential C source utilization, *Soil Biol. Biochem.* 28, 213–221. 37. Garland, J.L., Mills, A.L., (1991): Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level-sole-carbon-source-utilization, *Appl. Environ. Microbiol.* 57, 2351–2359. 38. Gould, T.W., Berninger, J.P., Connors, K.A. (2012): Human therapeutic plasma levels of the selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI) sertraline decrease serotonin reuptake transporter binding and shelter-seeking behavior in adult male fathead minnows, *Environ. Sci. Technol.* 46(4):2427–2435. 39. Gros, M., Rodríguez–Mozaz, S., Barceló, D. (2012): Fast and comprehensive multi-residue analysis of a broad range of human and veterinary pharmaceuticals and some of their metabolites in surface and treated waters by ultra-high-performance liquid chromatography coupled to quadrupole-linear ion trap tandem, *J. Chromatog. A* 1248: 104–21. 40. Huerta, B., Jakimska, A., Lorca, M., Ruhí, A., Margoutidis, G., Acuña, V., Sabater, S., Rodríguez–Mozaz, S., Barceló, D. (2015): Development of an extraction and purification method for the determination of multi-class pharmaceuticals and endocrine disruptors in freshwater invertebrates, *Talanta* 132: 373–381. 41. Huerta, B., Jakimska, A., Gros, M., Rodríguez–Mozaz, S., Barceló, D. (2013): Analysis of multiclass pharmaceuticals in fish tissues by ultra-high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry, *J. Chromatogr. A* 1288: 63–72. 42. Heberer, T. (2002): Occurrence, Fate, and Removal of Pharmaceuticals Residues in the Aquatic Environment: A Review of Recent Research Data, *Toxicology Letters*, 131, 5–17. 43. Hirsch, R., Ternes T., Heberer K., Kratz K.L. (1999): Occurrence of antibiotics in the aquatic environment, *Science of The Total Environment*, Volume 225, Issues 1. 109–118. 44. Halling-Sørensen, B., Nielsen, S.N., Lanzky, P.F., Ingerslev F., Lützhøft, H.C.H., and Jørgensen, S.E. (1998): Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment- a review, *Chemosphere*, 36, 357–393. 45. Hernando, M.D., Mezcua, M., Fernández–Alba, A.R., and Barceló D. (2006):

Environmental risk assessment of pharmaceutical residues in wastewater effluents, surface waters and sediments, *Talanta*, 69, 334–342. 46. Huerta, B., Jakimska, A., Lorca, M., Ruhí, A., Margoutidis, G., Acuña, V., Sabater, S., Rodríguez–Mozaz, S., Barceló, D. (2015): Development of an extraction and purification method for the determination of multi-class pharmaceuticals and endocrine disruptors in freshwater invertebrates, *Talanta* 132, 373–381. 47. Huerta, B., Jakimska, A., Gros, M., Rodríguez–Mozaz, S., Barceló, D. (2013): Analysis of multiclass pharmaceuticals in fish tissues by ultra-high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry, *J. Chromatogr. A* 1288, 63–72. 48. Ibanez, M., Guerrero, C., Sancho, J.V., Hernandez F. (2009): Occurrence and ecotoxicological assessment of pharmaceuticals: Is there a risk for the Mediterranean aquatic environment? *Chromatogr. A* 1216, 2529. 49. Ishida, Y., Shibahara, K., Uchida, H., Kadota, H. (1982): Distribution of Obligately Oligotrophic Bacteria in Lake biwa, *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish*, 46, 1151–1158. 50. Jakimska, A., Huerta, B., Bargańska, Ż., Kot–Wasik, A., Rodríguez–Mozaz, S., Barceló, D. (2013): Development of a liquid chromatography–tandem mass spectrometry procedure for determination of endocrine disrupting compounds in fish from Mediterranean rivers, *J. Chromatogr. A* 1306:44–58. 51. Jones, J. G. (1972): Studies on freshwater bacteria: association with algae and alkaline phosphatase activity, *J. Ecol.* 60 (1): 54–75. 52. Jordanovski, M.T., Stafilov, T. (2000): Opterećenje litoralnog dijela Ohridskog jezera teškim metalima, *Jugoslovensko društvo za zaštitu voda „Zaštita voda 2000“*, Maruška banja. 53. Jørgensen, S.E., Halling–Sørensen, B. (2000): Drugs in the environment *Chemosphe.*, 40(7): 691–699. 54. Janniche, G.S., Spliid, H., Albrechtsen, H.J., (2012): Microbial community–level physiological profiles (CLPP) and herbicide mineralization potential in groundwater affected by agricultural land use, *J. Contam. Hydrol.* 140: 45–55. 55. Karaman, S. (1924): *Pisces Macedoniae*, Split, pp 1–90. 56. Kohl, W. (1975): Über die Bedeutung Bakteriologischer Untersuchungen für die Beurteilung von Fleisgewässern, dargestellt am Beispiel der Osterreich, Donau, *Arch. Hydrobiol.*, 44, IV 392–461. 57. Kolpin, D.W., Furlong, E.T., Meyer, M.T., Thurman, E.M., Zaugg, S.D., Barber, L.B., Buxton, H.T. (2002): Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999–2000: a national reconnaissance, *Environ. Sci. Technol.*, 36, 1202–1211. 58. Lafteva, N. A. (1987): Ecological characteristics of *Caulobacter* incidence in fresh–water basins, *Mikrobiologija*, T 56, No 4, 677–685. 59. Lajeunesse, A., Gagnon, C., Gagne, F. (2011): Distribution of antidepressants and their metabolites in brook trout exposed to municipal wastewaters before and after ozone treatment–evidence of biological effects, *Chemosphere* 83. 564. 60. Landis, G. W., and Yun, M. H. (1995): *Introduction to Environmental Toxicology. Impacts of Chemicals Upon Ecological Systems*, Lewis Publishers 1–328. 61. Lokovska, L. (2003): Bakteriološka analiza rijeke Čerave, 32. Konferencija o aktuelnim problemima korišćenja i zaštite voda, Voda 2003. Zlatibor 3–6 jun 2003. godine 1–522, (305–309). 62. Loos, R. G., Locoro, G., Contini, S. (2010): Occurrence of polar organic contaminants in the dissolved water phase of the Danube River and its major tributaries using SPE-LC-MS2 analysis, *Water Res.* 44. 2325–2335. 63. Leschine, J., and Canale-Parola, D. (1983): Mesophilic cellulolytic clostridia from freshwater environments, *Appl. Environ. Microbiol.*, 46: 728–737. 64. Lehman, R.M., Colwell, F.S., Ringelberg, D.B., White, D.C., (1995): Combined microbial community-level analyses for quality assurance of terrestrial subsurface cores, *J. Microbiol. Methods* 22, 263–281. 65. Linnaeus, C. (1758): *Systema naturae per regna tria naturae, secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis. Tomus I.* 66. Marković, D. M. (2015): Ispitivanje ekotoksičnosti proizvoda degradacije organskih zagađujućih supstanci u vodi nakon tretmana unapređenim oksidacionim procesima, Doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu, Hemijski Fakultet. 67. Malik, A., Ahmad, M. (1994): Incidence of drug and metal resistance in *E. coli* strains from sewage water and soil, *Chem. Environ. Res.*, 3, 3–11. 68. Matavulj, M., Bokorov, M., Stojiljković, S., Gajin, S., Gantar, M., Erbežnik, M., Petrović, O. (1988): Enzim-ska aktivnost vode kao parametar monitoringa, *Zbornik radova Konferencije zaštite voda 1998*, 182–192. 69. Matavulj, M., and Flint, K.P. (1987): A model

for acid and alkaline phosphatase activity in a smail Pond, *Microbial Ecology*, 13 (2): 141–158. 70. Miloradov–Vojinović, M., Sekulić–Turk, M., Radonić, J. Stošić, M. (2012): Low doses effects of Emerging substances, pseudopersistance and hazard consequences to aquatic environment and public health, 6. simpoziju, Hemija i zaštita životne sredine *EnviroChem* 2013. Vršac, Srbija 21 - 24. maj 2013. 71. Mustapha, M. K. (2008): Assessment of the Water Quality of Oyun Reservoir, Offa, Nigeria, Using Selected Physico-Chemical Parameters, *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 8: 309–319. 72. Mehinto, A.C., Hill, E.M., Tyler, C.R. (2010): Uptake and biological effects of environmentally relevant concentrations of the nonsteroidal anti-inflammatory pharmaceutical diclofenac in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Environ. Sci. Technol.* 44. 2176. 73. Mihajlovic, I., Fries, E. (2012): Atmospheric deposition of chlorinated organophosphate flame retardants (OFR) onto soils, *Atmos. Environ.* 56.177–183. 74. Mihajlovic, I., Vojinovic–Miloradov, M., Fries, E. (2011): Application of Twisselmann extraction, SPME, and GC-MS to assess input sources for organophosphate esters into soil, *Environ. Sci. Technol.* 45, 2264–2269. 75. Nakić, S., and Božović, M. (1994): Sezonska dinamika populacija bakterija u akumulaciji “Grlišće” tokom 1993, godine, *Zbornik radova Konferencije zaštita voda 1994*, 160–163. 76. Novožilova, M. I. (1973): *Mikrobiologija Araljskoga morja*, Alma-Ata: AN Kaz SSR, 160. 77. Novevska, V., Vasilevska, A. (2003): Karakteristika vode litoralnog regiona Ohridskog jezera prema uporednim parametrima, 32. Konferencija o aktuelnim problemima korišćenja i zaštite voda, *Voda 2003. Zlatibor 3-6 jun 2003. godine 1-522*, (333-338). 78. Nikolić, M., and Ćirić B. (1996): Praćenje kvaliteta reke Nišave određivanjem Water Quality index-a, *Konferencija o aktuelnim problemima zaštite voda “Zaštita voda 1996”*, 292–296. 79. Neilson, A. H. (2000): *Organic Chemicals: An Environmental Perspective*, Lewis Publisher 103–177. 80. Novevska, V., Vasilevska, A. (2003): Karakteristika vode litoralnog regiona Ohridskog jezera prema uporednim parametrima, 32. Konferencija o aktuelnim problemima korišćenja i zaštite voda, *Voda 2003. Zlatibor 3-6 jun 2003. godine 1-522*, (333-338). 81. Norris, J.R. Ribbons, D.W. (1971): *Methods in microbiology*, Academic press, London, New York, Vol. 6A Rodina, A.G. (1965): *Metode u vodenoj mikrobiologiji*, Izdanje “Nauka”, Moskva-Lenjigrad. 82. Nyholm, N. Ingerslev, F. Berg, U.T. Pedersen, J.P. Frimer–Larsen, H. (1996): Estimation of kinetic rate constants for biodegradation of chemicals in activated sludge wastewater treatment plants using short term batch experiments and µg/L range spiked concentrations, *Chemosphere* 33, 851–864. 83. Ocevski, B. (1966): *Metode mikrobiološkog ispitivanja vode i mulja: u Mikrobiološke metode ispitivanja zemljišta i voda*, Jugoslovensko društvo za proučavanje zemljišta, II 69–82. 84. Osorio, V., Marcé, R., Pérez, S., Ginebreda, A., Cortina, J.L., Barceló, D.(2012): Occurrence and modeling of pharmaceuticals on a sewage-impacted Mediterranean river and their dynamics under different hydrological conditions, *Sci. Total Environ.* 440, 3–13. 85. Otieno, A.A., Kitur, E.L., Gathuru, G. (2017): *Physico-Chemical Properties of River Kisat, Lake Victoria Catchment, Kisumu County, Kenya Environ Pollut Climate Change 2017*, Vol 1(4): 4. 86. Overbeck, J., Chrost, R. (1990): Substrate-ectoenzyme interaction: Significance of β-glucosidase activity for glucose metabolism by aquatic bacteria, *Arch. Fur Hydrobiologie* 34: 93–98. 87. Orias, J., and Perrodin, Y.(2013): Characterization of the Ecotoxicity of Hospital Effluents: A Review, *Science of The Total Environment*, 250–276. 88. Passerat, J., Ouattara, N. K., Mouchel, J.M., Rocher, V. and Servais, P., (2011): Impact of an intense combined sewer overflow event on the microbiological water quality of the Seine River, *Water Research*, 45, 893–903. 89. Petrović, G., Beeton A. (1981): *The chemistry of Lake Skadar, The biota and limnology of Lake Skadar*, Published by Univerzitet “Veljko Vlahović” Institut za biološka i medicinska istraživanja u SRCG Biološki zavod Titograd, Yugoslavia. 1-446 (67–109). 90. Petrović, M., Hernando, M.D., Díaz-Cruz, M. S., Barceló, D. (2005): Liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the analysis of pharmaceutical residues in environmental samples: a review, *Journal of Chromatography A*, 1067(1–2): 1–14. 91. Petrović, M. Gonzalez, S. Barceló, D. (2003): Analysis and removal of emerging contaminants in wastewater and drinking water, *Trends Anal. Chem.*, 22, 685–696. 92. Petrović, O.

Gajin, S. Matavulj, M. Radnović, D. Svirčev, Z. (1998): Mikrobiološko ispitivanje kvaliteta površinskih voda, Institut za biologiju, Novi Sad. 1--122. 93. Petrović, O. Tamaš, I. (1997): Mikrobiološki aspekti vode za piće, u: Priprema vode za piće u svetlu novih standarda i normativa, ed. Dalmacija, B., Univerzitet u Novom Sadu, 69-86. 94. Pešić, V. Nikčević, S. Rakočević – Nedović, J. Topalović, A. Vukašinović, V. Mijović, G. Filipović, S. Karman, G.S. (2002): Kvalitet voda Skadarskog jezera, "Voda 2002", 31.konferencija o aktuelnim problemima korišćenja i zaštite voda, Jugoslovensko društvo za zaštitu voda, Vrnjačka Banja, 11. –14. jun, 78–83. 95. Preston–Mafham, J., Boddy, L., Randerson, P.F. (2002): Analysis of microbial community functional diversity using sole-carbon-source utilisation profiles – a critique, *FEMS Microbiol Ecol.* 1,42(1):1–14. 96. Radonjić, D. (2003): Specijalistički rad, Distribucija i populaciona dinamika bakterija u rijeci Morači, Biološki fakultet. Beograd. 97. Radonjić, D.(2007): Magistarski rad, Utvrđivanje kvaliteta vode na nekim lokacijama Skadarskog jezera i rijeka Morače i Bojane, Univerzitet Crne Gore, Prirodno-matematički fakultet. 98. Radonjić, D.,Krivokapić, M. (2006): Mikrobiološke i saprobiološke karakteristike rijeke Morače i Skadarskog jezera u toku 2004/2005., 35. Konferencija o aktuelnim problemima korišćenja i zaštite vode, Voda 2006. Zlatibor 6-9 jun 2006. 1-468 (133–138). 99. Radulović, V. (1989): Hidrogeologija sliva Skadarskog jezera. Titograd, 1–228. 100. Radulović, M. (2000): Hidrogeologija karsta Crne Gore, doktorska disertacija Podgorica. 1-- 276. 101. Ristanović, B. (1973): Mikroorganizmi reke Neretve i nekih njenih pritoka. II deo. Sezonska distribucija vodenih Phycomycetes, *Ekologija (Beograd)* 8(1) : 69–76. 102. Robinson, I. Junqua, G. Van Coillie, R. and Thomas O. (2007): Trends in the detection of pharmaceutical products, and their impact and mitigation in water and wastewater in North America, *Anal. Bioanal. Chem.*, 387, 1143–1151. 103. Radtke, T.M. and Gist, G.L. (1989): Wastewater sludge disposal- antibiotic resistant bacteria may pose health hazard, *J. Environ. Health*, 52, 102–105. 104. Roberts, P.H.,and Thomas, K.V. (2006): The occurrence of selected pharmaceuticals in wastewaters effluent and surface waters of lower Tyne catchment, *Sci. Total Environ.*, 356, 143–153. 105. Ristanović, B. (1981): Microbiological studies of Lake Skadar-bacteria and fungi populations, *The Biota and Limnology of Lake Skadar*,Published by Univerzitet "Veljko Vlahović" Institut za biološka i medicinska istraživanja u SRCG, 155–161. 106. Radonjić, D. (2016): Analysis and interpretation of community-level physiological profiles in Microbial ecology for some locations in Montenegro,*Journal of Biodiversity and Environmental Sciences (JBES)*, 116 – 125. 107. Radonjic, D. (2017): Correlation of Emerging Substances and Physiological Groups of Microorganisms in Surface Water of River Moraca, *International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology (IJEAB)*. Vol-2, Issue-1, 90–100. 108. Rodriguez–Mozaz, S., Weinberg, H.S. (2007): Meeting Report: Pharmaceuticals in Water-An Interdisciplinary Approach to a Public Health, *Challenge Environ. Health Perspect.* 118(7): 1016-1020. 109. Ramirez, A.J., Mottaleb, M.A., Brooks, B.W., Chambliss, C.K. (2007): Analysis of pharmaceuticals in fish using liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *Anal. Chem.* 79, 3155. 110. Radonjić, D., Krivokapić, M., Miloradov–Vojinović, M.(2013): Identification of Emergent Substances as an Indicator of the Presence of Microorganism in the Downstream of River Morača in Locality-Vukovci, *Journal of Environmental Science and Engineering; David Publishing*: 183–187. 111. Sánchez–Bayo, F., Baskaran, S., Kennedy, I.R. (2002): Ecological Relative Risk (EcoRR): Another approach for risk assessment of pesticides, *Agric. Ecosyst. Environ* 91, 37-57. 112. Stilinović, B. (1985): Zastupljenost proteolitičkih bakterija među aerobnim saprofitskim bakterijama u površinskim vodama različite kvalitete, i Jugoslovenski simpozijum mikrobne ekologije, *Izvodi* 15–16. 113. Stanković, S., Simić, D. (1995): Distribucija, populaciona dinamika i karakteristike bakterija u rijeci Gradac, VII Kongres mikrobiologa Jugoslavije, *Zbornik rezimea 1997*. 114. Stanković, S., Knežević–Vukčević, J. (1996): Bakteriološka analiza vode reke Obnice, V Kongres Ekologa Jugoslavije, *Zbornik sažetaka*, 101. 115. Stanković, S. (1998): Distribucija i populaciona dinamika bakterija u izvorskim ekosistemima, *Magistarska teza*. Biološki fakultet, Beograd. 116. Stilinović, B. (1979 b): Zastupljenost nekih fitioloških grupa bakterija u površinskim

vodama različite kvalitete, Drugi kongres ekologa Jugoslavije (poseban otisak), Zagreb, 335-343. 117. Simić, D. (1988): Mikrobiologija I, Naučna knjiga, Beograd. 1-312. 118. Sladaček V. (1973): System of Water Quality from Biological Point of View. Arch. Hydrobiolo., 7, Ergebnisse der Limnologie, 7, 1-218. 119. Spino, D.F. (1985): Characterization of dyagnostic, heterotrophic bacteria from drinking water, Appl. Environ. Microbiol., 50, 1213-1218. 120. Stirling, L. A., Watkinson, R. J., Higgins, I. J. (1977): Microbial metabolism of alicyclic hydrocarbons: isolation and properties of a cyclohexane-degrading bacterium, J. Gen. Microbiol. 99, 119-125. 121. Sremački, M., Simić, J., Kovačević, S., Radonjić, D., Vojinović-Miloradov, M. (2014): Detection of emerging and priority substances in surface water gc-ms screening method optimisation, iv International Conference; „Ecology of urban areas“ 2014”. 122. ("Sl. List SFRJ", 1987). 123. Škunca-Milovanović, S., Feliks, R., Đurović, B. (1990): Vode za piće, Standardne metode za ispitivanje higijenske ispravnosti vode za piće, Izdavač Savezni zavod za zdravstvenu zaštitu Beograd: 1-1229. 124. Vojinović-Miloradov, M., Dimkić, M., Stupavski, S., Jokanović, B., Beronja, B., Tot, M., Stošić, M. (2011): Emerging substances of concern and their occurrence in surface water and groundwater, TOP 2011, Časta, Pa-pirnička, Slovak Republic, 2011, Proceedings, pp. 277-28. 125. Vojinović-Miloradov, M., Turk, M., Sekulić, J., Radonić, I., Mihajlović, M., Stošić, M. (2011): Emerging substances of concern—a shift in traditional thinking, XV International EcoConference on environmental protection of urban and suburban settlements, Novi Sad, Serbia, 2011, Proceedings, pp. 265-271. 126. Vojinović-Miloradov, M., Turk, M., Sekulić, M., Radonić, J., Milić, N., Grujić-Letić, N., Mihajlović, I., Milanović Lj. (2014): Industrijske emergentne hemikalije u životnom okruženju, Hem Ind. 2014; 68(1): 51-62. 127. Vojinović-Miloradov, M., Turk, M., Sekulić, J., Radonić, J., Kiurski, D., Milovanović, I., Spanik, I., Mihajlović, I. (2011): Pseudopersistent pollutant in the environment: emerging substances, XVII International Symposium on Analytical and Environmental Problems, Szeged, Hungary, 2011, Proceedings, pp. 180-184. 128. Vandenberg, N. L., Colborn, T., Hayes, B.T., Heindel, J. J., Jacobs, R. D., Duk-Hee Lee Jr., T-S., Soto, M. A., vom Saal, S.F., Welshons, V.W., Zoeller, T., Peterson-Myers, J. (2012): Hormones and Endocrine-Disrupting Chemicals: Low-Dose Effects and Nonmonotonic Dose Responses Endocrine Reviews, First published ahead of print Marc 14, 2012. 129. Topalović, A., Nikčević, S., Pešić, V. (2003): Ispitivanje kvaliteta voda Skadarskog jezera u 2002. godini, Zbornik radova »Ekološka istina 2003«, XI naučno – stručni skup o prirodnim vrednostima i zaštiti životne sredine, Donji Milanovac, 2.-4. jun, 331-334. 130. Tumpling, W. (1969): Zur klassifizierung der Wasserbeschaffenheit aus Biologischer Sicht. Wiss. Z. Univ. Ro-stock, 18: 793-798. 131. Ternes, T.A., Meisenheimer, M., McDowell, D., Sacher, F., Brauch, H.J., Haist-Gulde, B., Preuss, G., Wilme, U., Zulei-Seibert, N. (2002a): Removal of pharmaceuticals during drinking water treatment, Environ. Sci. Technol., 36, 3855-3863. 132. Winding, A. (1994): Fingerprinting bacterial soil communities using Biolog microtitre plates, In: Beyond the Biomass (Ritz K. Dighton J. Giller K.E., Eds.), pp. 85-94. John Wiley and Sons, Chichester. 133. Webb, S.F. (2001): A data based perspective on the environmental risk assessment of human pharmaceuticals II-aquatic risk characterization, Pharmaceuticals in the Environment. Springer, pp. 203-219. 134. Wright, M. (1978): Evolution and the Genetics of Populations Vol.4. Variability Within and Between Populations, University of Chicago Press. Chicago. 135. Welshons, V., Wade, T., Thayer, A. (2003): Large effects from small exposures. I. Mechanisms for endocrine-disrupting chemicals with estrogenic activity, Environ Health Perspect. 111(8): 994-1006.

•••• Dražana Radonjić DINAMIKA EMERGENTNIH SUPSTANCI U VODI (EmS) I ENDOKRINO-UZNEMIRAVAJUĆIH HEMIKALIJA (EDCs) U EKOSISTEMIMA RIJEKE MORAČE I SKADARSKOG JEZERA Dražana Radonjić DINAMIKA EMERGENTNIH SUPSTANCI U VODI (EmS) I ENDOKRINO-UZNEMIRAVAJUĆIH HEMIKALIJA (EDCs) U EKOSISTEMIMA RIJEKE MORAČE I SKADARSKOG JEZERA Dražana Radonjić DINAMIKA EMERGENTNIH SUPSTANCI U VODI (EmS) I ENDOKRINO-UZNEMIRAVAJUĆIH HEMIKALIJA (EDCs) U EKOSISTEMIMA RIJEKE MORAČE I SKADARSKOG JEZERA Dražana Radonjić DINAMIKA EMERGENTNIH SUPSTANCI U VODI (EmS) I ENDOKRINO-UZNEMIRAVAJUĆIH HEMIKALIJA (EDCs) U EKOSISTEMIMA RIJEKE MORAČE I SKADARSKOG JEZERA

HEMIKALIJA (EDCs) U EKOSISTEMIMA RIJEKE MORAČE I SKADARSKOG JEZERA Dražana Radonjić DINAMIKA EMERGENTNIH SUPSTANCI U VODI (EmS) I ENDOKRINO-UZNEMIRAVAJUĆIH HEMIKALIJA (EDCs) U EKOSISTEMIMA RIJEKE MORAČE I SKADARSKOG JEZERA Dražana Radonjić DINAMIKA EMERGENTNIH SUPSTANCI U VODI (EmS) I ENDOKRINO-UZNEMIRAVAJUĆIH HEMIKALIJA (EDCs) U EKOSISTEMIMA RIJEKE MORAČE I SKADARSKOG JEZERA Dražana Radonjić DINAMIKA EMERGENTNIH SUPSTANCI U VODI (EmS) I ENDOKRINO-UZNEMIRAVAJUĆIH HEMIKALIJA (EDCs) U EKOSISTEMIMA RIJEKE MORAČE I SKADARSKOG JEZERA Dražana Radonjić DINAMIKA EMERGENTNIH SUPSTANCI U VODI (EmS) I ENDOKRINO-UZNEMIRAVAJUĆIH HEMIKALIJA (EDCs) U EKOSISTEMIMA RIJEKE MORAČE I SKADARSKOG JEZERA Dražana Radonjić DINAMIKA EMERGENTNIH SUPSTANCI U VODI (EmS) I ENDOKRINO-UZNEMIRAVAJUĆIH HEMIKALIJA (EDCs) U EKOSISTEMIMA RIJEKE MORAČE I SKADARSKOG JEZERA Dražana Radonjić DINAMIKA EMERGENTNIH SUPSTANCI U VODI (EmS) I ENDOKRINO-UZNEMIRAVAJUĆIH HEMIKALIJA (EDCs) U EKOSISTEMIMA RIJEKE MORAČE I SKADARSKOG JEZERA Dražana Radonjić DINAMIKA EMERGENTNIH SUPSTANCI U VODI (EmS) I ENDOKRINO-UZNEMIRAVAJUĆIH HEMIKALIJA (EDCs) U EKOSISTEMIMA RIJEKE MORAČE I SKADARSKOG JEZERA Dražana Radonjić DINAMIKA EMERGENTNIH SUPSTANCI U VODI (EmS) I ENDOKRINO-UZNEMIRAVAJUĆIH HEMIKALIJA (EDCs) U EKOSISTEMIMA RIJEKE MORAČE I SKADARSKOG JEZERA Dražana Radonjić DINAMIKA EMERGENTNIH SUPSTANCI U VODI (EmS) I ENDOKRINO-UZNEMIRAVAJUĆIH HEMIKALIJA (EDCs) U EKOSISTEMIMA RIJEKE MORAČE I SKADARSKOG JEZERA Dražana Radonjić DINAMIKA EMERGENTNIH SUPSTANCI U VODI (EmS) I ENDOKRINO-UZNEMIRAVAJUĆIH HEMIKALIJA (EDCs) U EKOSISTEMIMA RIJEKE MORAČE I SKADARSKOG JEZERA Dražana Radonjić DINAMIKA EMERGENTNIH SUPSTANCI U VODI (EmS) I ENDOKRINO-UZNEMIRAVAJUĆIH HEMIKALIJA (EDCs) U EKOSISTEMIMA RIJEKE MORAČE I SKADARSKOG JEZERA Dražana Radonjić DINAMIKA EMERGENTNIH SUPSTANCI U VODI (EmS) I ENDOKRINO-UZNEMIRAVAJUĆIH HEMIKALIJA (EDCs) U EKOSISTEMIMA RIJEKE MORAČE I SKADARSKOG JEZERA Dražana Radonjić DINAMIKA EMERGENTNIH SUPSTANCI U VODI (EmS) I ENDOKRINO-UZNEMIRAVAJUĆIH HEMIKALIJA (EDCs) U EKOSISTEMIMA RIJEKE MORAČE I SKADARSKOG JEZERA 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99 100 101 102 103 104 105 106 107 108 109 110 111 112 113 114 115 116 117

sources:

1 843 words / 2% - Internet from 21-Aug-2019 12:00AM
ijeab.com

2 278 words / 1% - Internet from 02-Nov-2017 12:00AM
fedorabg.bg.ac.rs

3 243 words / 1% - Internet
[Marković, Marijana D.. "Ecotoxicity testing og organic pollutants degradation products in Water after the treatment with advanced oxidation processes", Универзитет у Београду, Хемијски факултет, 2015](#)

4 490 words / 1% - Internet from 19-Jun-2017 12:00AM
senat.ucg.ac.me

5 375 words / 1% - Internet from 18-Dec-2021 12:00AM
online.osim.ro

-
- 6 258 words / 1% - Internet from 02-Sep-2015 12:00AM
www.doiserbia.nb.rs
-
- 7 189 words / 1% - Internet from 05-Dec-2018 12:00AM
www.ipohem.gov.rs
-
- 8 154 words / < 1% match - Internet from 18-Jun-2014 12:00AM
www.afn.ca
-
- 9 95 words / < 1% match - Internet from 18-May-2018 12:00AM
www.afn.ca
-
- 10 48 words / < 1% match - Internet from 20-Dec-2021 12:00AM
www.afn.ca
-
- 11 167 words / < 1% match - Internet from 05-Nov-2017 12:00AM
nardus.mpn.gov.rs
-
- 12 13 words / < 1% match - Internet from 02-Nov-2017 12:00AM
nardus.mpn.gov.rs
-
- 13 10 words / < 1% match - Internet from 05-Nov-2017 12:00AM
nardus.mpn.gov.rs
-
- 14 119 words / < 1% match - Internet from 19-Feb-2016 12:00AM
studenti.rs
-
- 15 104 words / < 1% match - Internet from 18-May-2014 12:00AM
www.envirochem2013.com
-
- 16 84 words / < 1% match - Internet
www.chemie.uni-wuppertal.de
-
- 17 76 words / < 1% match - Internet from 27-Oct-2021 12:00AM
doku.pub
-
- 18 41 words / < 1% match - Internet from 28-Jul-2020 12:00AM
docplayer.net
-
- 19 21 words / < 1% match - Internet from 30-Jun-2018 12:00AM
docplayer.net
-
- 20 43 words / < 1% match - Internet from 01-Mar-2017 12:00AM
www.gov.scot

-
- 21 42 words / < 1% match - Internet from 03-Dec-2020 12:00AM
www.chemsafetypro.com
-
- 22 41 words / < 1% match - Internet from 12-Nov-2021 12:00AM
www.montgomerycountymd.gov
-
- 23 38 words / < 1% match - Internet from 12-Jun-2018 12:00AM
scindeks.ceon.rs
-
- 24 37 words / < 1% match - Crossref
[Gros, Meritxell, Sara Rodríguez-Mozaz, and Damià Barceló. "Fast and comprehensive multi-residue analysis of a broad range of human and veterinary pharmaceuticals and some of their metabolites in surface and treated waters by ultra-high-performance liquid chromatography coupled to quadrupole-linear ion trap tandem mass spectrometry", Journal of Chromatography A, 2012.](#)
-
- 25 14 words / < 1% match - Internet from 29-Nov-2020 12:00AM
repositorij.unios.hr
-
- 26 11 words / < 1% match - Internet from 28-Apr-2021 12:00AM
repositorij.unios.hr
-
- 27 11 words / < 1% match - Internet from 27-Nov-2020 12:00AM
repositorij.unios.hr
-
- 28 32 words / < 1% match - Internet from 09-Oct-2017 12:00AM
dugi-doc.udg.edu
-
- 29 28 words / < 1% match - Internet from 02-May-2014 12:00AM
hemijskaskola.com.ba
-
- 30 27 words / < 1% match - Internet from 16-Dec-2018 12:00AM
ar.scribd.com
-
- 31 27 words / < 1% match - Internet from 28-Oct-2017 12:00AM
documents.mx
-
- 32 26 words / < 1% match - Crossref
[Meritxell Gros, Sara Rodríguez-Mozaz, Damià Barceló. "Fast and comprehensive multi-residue analysis of a broad range of human and veterinary pharmaceuticals and some of their metabolites in surface and treated waters by ultra-high-performance liquid chromatography coupled to quadrupole-linear ion trap tandem mass spectrometry", Journal of Chromatography A, 2012](#)
-
- 33 26 words / < 1% match - Internet
[Tilahun, Seifu A.. "Irrigation and agriculture development in Africa: Impact on water quality and ecosystem health in the Ethiopian highlands", Texas &M University. Libraries, 2019](#)

-
- 34 26 words / < 1% match - Internet from 02-Feb-2019 12:00AM
www.profpdhansen.de
-
- 35 25 words / < 1% match - Internet from 10-Sep-2014 12:00AM
ambassadors-env.com
-
- 36 25 words / < 1% match - Internet from 13-Sep-2019 12:00AM
www.umweltbundesamt.de
-
- 37 21 words / < 1% match - Internet from 15-Oct-2021 12:00AM
files.nc.gov
-
- 38 20 words / < 1% match - Crossref
[Dražana Radonjić. "Pharmaceuticals and endocrine-disrupting compounds: Accumulation in the tissue of Skadar lake fish", Bulletin of Natural Sciences Research, 2021](#)
-
- 39 19 words / < 1% match - Internet from 16-Mar-2019 12:00AM
ynu.repo.nii.ac.jp
-
- 40 18 words / < 1% match - Internet from 09-Dec-2021 12:00AM
www.ftn.uns.ac.rs
-
- 41 16 words / < 1% match - Internet from 18-Nov-2021 12:00AM
www.ime.fraunhofer.de
-
- 42 16 words / < 1% match - Internet
www.nparkovi.cg.yu
-
- 43 15 words / < 1% match - Internet from 11-Dec-2020 12:00AM
ec.europa.eu
-
- 44 15 words / < 1% match - Internet from 07-Oct-2018 12:00AM
www.mrt.gov.me
-
- 45 15 words / < 1% match - Internet from 30-Mar-2015 12:00AM
www.tdx.cat
-
- 46 14 words / < 1% match - Internet from 18-Oct-2021 12:00AM
agriculture.basf.com
-
- 47 14 words / < 1% match - Internet
[Nordin Saad, Oyas Wahyunggoro. "Development of Fuzzy-Logic-Based Self Tuning PI Controller for Servomotor", 'IntechOpen', 2010](#)
-

- 48 14 words / < 1% match - Internet from 10-Sep-2018 12:00AM
www.ipma.pt
-
- 49 14 words / < 1% match - Internet from 17-May-2009 12:00AM
www.mwnrm.com.au
-
- 50 14 words / < 1% match - Internet from 05-Sep-2008 12:00AM
www.st.nmfs.noaa.gov
-
- 51 13 words / < 1% match - Internet from 23-Apr-2021 12:00AM
epa.ohio.gov
-
- 52 13 words / < 1% match - Internet from 27-Aug-2021 12:00AM
vbook.pub
-
- 53 13 words / < 1% match - Internet from 17-May-2018 12:00AM
www.palgo.org
-
- 54 13 words / < 1% match - Internet from 21-Dec-2021 12:00AM
www.sbafla.com
-
- 55 12 words / < 1% match - Internet from 18-Nov-2017 12:00AM
eprints.undip.ac.id
-
- 56 12 words / < 1% match - Internet from 29-Oct-2021 12:00AM
www.saicm.org
-
- 57 11 words / < 1% match - Internet from 13-Nov-2021 12:00AM
dspace.akdeniz.edu.tr
-
- 58 11 words / < 1% match - Internet from 18-Jul-2021 12:00AM
repozitorij.pharma.unizg.hr
-
- 59 10 words / < 1% match - Internet from 18-Dec-2021 12:00AM
admisiononline.uft.cl
-
- 60 10 words / < 1% match - Internet from 06-Dec-2018 12:00AM
reefcatchments.com.au
-
- 61 10 words / < 1% match - Internet
[Vadkerti-Tóth, Nikolett. "Agrárpiaci Jelentések, Baromfi", Agrárgazdasági Kutató Intézet, 2018](#)
-
- 62 10 words / < 1% match - Internet from 19-Aug-2014 12:00AM
www.middletpw.k12.nj.us
-