

# Doktorska disertacija

By: Neda Bošković

As of: Apr 5, 2022 10:39:46 AM  
72,946 words - 174 matches - 51 sources

Similarity Index

4%

Welcome Back Centre for Studies and Quality control University of Montenegro

Mode: Similarity Report ▼

## paper text:

UNIVERZITET CRNE GORE PRIRODNO?MATEMATIČKI FAKULTET Neda Bošković PROCJENA  
EKOLOŠKOG STANJA MORA NA OSNOVU SADRŽAJA TEŠKIH METALA I MIKROPLASTIKE U  
SEDIMENTU I RIBAMA U PRIOBALNOM MORU CRNE GORE

11

Doktorska disertacija Podgorica , 2022 UNIVERSITY OF MONTENEGRO FACULTY OF  
NATURAL SCIENCES AND MATHEMATICS

13

Neda Bošković

ASSESSMENT OF THE ECOLOGICAL STATE OF THE SEA ON THE BASIS OF THE CONTENTS OF  
HEAVY METALS AND MICROPLASTICS IN SEDIMENT AND FISHES IN THE COASTAL SEA OF  
MONTENEGRO

9

Doctoral dissertation Podgorica, 2022 Članovi komisije: Mentor \_\_\_\_\_ Dr Danijela  
Joksimović,

viši naučni saradnik Univerzitet Crne Gore Institut za biologiju mora Komentor

10

\_\_\_\_\_ Dr Oliver Bajt, vanredni profesor Univerzitet

u Ljubljani Fakultet za hemiju i hemijsku tehnologiju \_\_\_\_\_ Dr Biljana Damjanović  
Vratnica,

redovni profesor Univerzitet Crne Gore Metalurško – tehnološki fakultet

10

\_\_\_\_\_ Dr Nada Blagojević, redovni profesor Univerzitet Crne Gore

Datum odbrane: \_\_\_\_\_

**Procjena ekološkog stanja mora na osnovu sadržaja teških metala i mikroplastike u sedimentu i ribama u priobalnom moru Crne Gore REZIME U**

12

ovoj doktorskoj disertaciji prikazani su rezultati sadržaja teških metala i mikroplastike u sedimentu i morskim ribama: barbanu (*Mullus barbatus*) i osliću (*Merluccius merluccius*). Ispitivani uzorci sedimenta sakupljeni su sa deset lokacija duž crnogorskog primorja, dok su mjesta uzorkovanja riba definisana u okviru dva područja (Bokokotorski zaliv i otvoreno more) u periodu od proljeća 2019. do jeseni 2020. godine. Ciljevi ovog rada bili su određivanje:

**sadržaja teških metala** (As, **Pb, Cd, Hg**, Cr, Ni, **Cu**, Zn, **Fe i Mn**) **u**

2

uzorcima sedimenta i ribe; koncentracionog faktora (CF); indeksa opterećenja metalima (PLI); geoakumulacionog indeksa (Igeo), kao i procjene rizika (THK) i indeksa opasnosti (HI) po ljudsko zdravlje uzrokovane konzumiranjem analiziranih riba. Takođe, ciljevi ovog rada bili su vizualna i hemijska identifikacija sadržaja mikroplastike u površinskom sedimentu i ekonomski značajnim vrstama riba (*M. barbatus* i *M. merluccius*) na crnogorskom primorju primjenom jedinstvene metodologije određivanja prisustva mikroplastike. Za obradu rezultata mjerenja upotrijebljena je analiza glavnih koordinata (PCO), klsterska analiza (CO) i permutaciona multivarijantna analiza (korelacija).

**Klsterskom i PCO analizom je izvršena karakterizacija uzoraka, tj. identifikovano je grupisanje uzoraka u odnosu na** područje, **lokacije**, sezonu, godinu uzorkovanja **kao i**

1

vrste ispitivanih riba, dok su na osnovu permutacione multivarijantne analize izvršene korelacije promjenljivih faktora. Vrijednosti PLI su bile  $> 1$  u sedimentima za većinu ispitivanih lokacija, dok su se Igeo vrijednosti kretale od  $\leq 0$  do  $> 5$ , što ukazuje da je zagađenje prisutno. Rezultati ovog istraživanja ukazuju da koncentracije As u ispitivanim uzorcima ribe prelaze dozvoljene granične vrijednosti, dok su koncentracije ostalih metala u ispitivanim ribama bile u okviru ili niže od dozvoljenih graničnih vrijednosti. Iako povećane vrijednosti THQ i HI ukazuju da As može predstavljati faktor ograničenja za konzumiranje barbuna i oslića sa crnogorskog primorja, sadržaj As u ribama obično uključuje organska jedinjenja As (npr. arsenobetain) koja su niske toksičnosti. Mikroplastika je identifikovana u svim ispitivanim sedimentima i većini ispitivanih uzoraka riba. U uzorcima sedimenta i riba je zabilježena povišena zastupljenost mikroplastike u odnosu na dostupne podatke iz literature, pri čemu su polietilen i polipropilen bili najdominantniji tipovi polimera u analiziranim uzorcima. Koncentracija teških metala i mikroplastike u analiziranim uzorcima varirala je u zavisnosti od lokacije, područja, sezone, godine uzorkovanja i vrste ribe. Navedeni rezultati ukazuju da je crnogorsko primorje izloženo

različitim antropogenim aktivnostima, naročito na mjestima gdje je cirkulacija vode slabija, kao što je slučaj u Bokotorskom zalivu, zbog čega je neophodno vršiti redovan monitoring. Analizom svih parametara se došlo do zaključka da su analizirane ribe (*M. barbatus* i *M. merluccius*), kao i sediment, dobri indikatori zagađenja morske sredine. Poseban doprinos ove doktorske disertacije predstavlja primjenu jedinstvene metodologije identifikacije i određivanja sadržaja mikroplastike u površinskom sedimentu i izabranim vrstama riba, koje se po prvi put sprovode na istraživanom području. Ključne riječi: teški metali, mikroplastika, *Mullus barbatus*, *Merluccius merluccius*, sediment, crnogorsko primorje Naučna oblast: zaštita životne sredine Uža naučna oblast: zaštita životne sredine

**Assessment of the ecological state of the sea based on the content of heavy metals and microplastics in sediment and fish in the coastal sea of Montenegro**

9

**ABSTRACT** This doctoral dissertation presents the results of the content of heavy metals and microplastics in sediment and marine fish: red mullet (*Mullus barbatus*) and hake (*Merluccius merluccius*). The examined sediment samples were collected from ten locations along the Montenegrin coast, while fish sampling locations were defined within two areas (Boka Kotorska Bay and the coastal part of the open sea) in the period from spring 2019 to autumn 2020. The objectives of this work were to determine: the content of heavy metals (As, Pb, Cd, Hg, Cr, Ni, Cu, Zn, Fe, and Mn) in sediment and fish samples; concentration factor (CF); pollution load index (PLI); geoaccumulation index (Igeo); as well as target hazard quotient (THQ) and hazard index (HI) for human health caused by the consumption of analyzed fish. Also, the objectives of this work were visual and chemical identification of microplastic content in surface sediment and economically important fish species (*M. barbatus* and *M. merluccius*) on the Montenegrin coast using a unique methodology for determining the presence of microplastics. Principal coordinate analysis (PCO), cluster analysis (CO) and permutation multivariate analysis (correlation) were used to process the measurement results. Cluster and PCO analysis characterized the samples, ie. grouping of samples in relation to area, location, season, year of sampling as well as fish species, while based on permutation multivariate analysis correlations of variable factors were performed. PLI values were  $> 1$  in sediments for most of the examined locations, while Igeo values were ranged from  $\leq 0$  to  $> 5$ , indicating that contamination was present. The results of this study indicate that the concentrations of As in the tested fish samples exceed the permissible limit values, while the concentrations of other metals in tested fish were within or lower than the permissible values. Although increased THQ values indicate that As may be a limiting factor for the consumption of *M. barbatus* and *M. merluccius* from the Montenegrin coast, the content of As in fish usually includes organic compounds of As (eg arsenobetaine) which have low toxicity. Microplastics were identified in all tested sediments and most of the tested fish samples. In sediment and fish samples, an increased presence of microplastics was observed compared to the available data from the literature, with polyethylene and polypropylene being the most dominant types of polymers in the analyzed samples. The concentration of heavy metals and microplastics in the analyzed samples varied depending on the location, area, season, year of sampling, and fish species. These results indicate that the Montenegrin coast is exposed to various anthropogenic activities, especially in places where water circulation is weaker, such as in the Boka Kotorska Bay, which is why it is necessary to conduct regular monitoring. The analysis of all parameters led to the conclusion that the analyzed fish (*M. barbatus* and *M. merluccius*), as well as sediment, are good indicators of marine pollution. A special contribution of this doctoral dissertation is the application of a unique methodology for identifying and determining the content of microplastics in surface sediment and selected

fish species, which are conducted for the first time in the study area. Keywords: heavy metals, microplastics, *Mullus barbatus*, *Merluccius merluccius*, sediment, Montenegrin coast Scientific field: environmental protection Scientific subfield: environmental protection SADRŽAJ

UVOD.....	1	T E O R I J S K I D I
O .....	4	1. ZNAČAJ I ZAGAĐENJE MORSKIH
EKOSISTEMA.....	5	1.1 Sediment kao indikator zagađenja morskih
ekosistema.....	7	1.2 Morski organizmi kao bioindikatori
zagađenja.....	8	1.2.1 Ribe kao bioindikatori zagađenja morskih
ekosistema.....	10	1.2.1.1 Barbun, <i>Mullus barbatus</i> (Linnaeus, 1758)
.....	11	1.3.1.2 Oslić, <i>Merluccius merluccius</i> (Linnaeus, 1758)
.....	12	2. TEŠKI METALI
.....	14	2.1 Osnovne karakteristike teških
metala .....	14	2.1.1 Gvožđe (Fe)
.....	15	2.1.2 Bakar
(Cu).....	15	2.1.3 Cink
(Zn).....	16	2.1.4 Mangan (Mn)
.....	17	2.1.5 Nikal (Ni)
.....	18	2.1.6 Hrom
(Cr).....	19	2.1.7 Olovo
(Pb).....	19	2.1.8 Kadmijum (Cd)
.....	20	2.1.9 Arsen
(As).....	21	2.1.10 Živa
(Hg).....	22	2.2 Porijeklo i toksičnost teških
metala .....	23	2.3 Teški metali u morskim
ekosistemima.....	25	2.3.1 Teški metali u sedimentima
.....	26	2.3.2 Teški metali u
ribama.....	27	2.4 Teški metali, pregled dosadašnjih
istraživanja.....	28	3. PLASTIKA I
MIKROPLASTIKA.....	33	3.1 Osnovne karakteristike plastike
.....	33	3.2 Razgradnja plastike u životnoj sredini
.....	34	3.3 Definicija
mikroplastike.....	35	3.4 Mikroplastika u morskim
ekosistemima .....	38	3.4.1 Mikroplastika u
sedimentu.....	41	3.4.2 Mikroplastika u ribama
.....	42	3.5 Mikroplastika, pregled dosadašnjih istraživanja
.....	43	3.6 Korelacija mikroplastike i teških
metala.....	46	E K S P E R I M E N T A L N I D I
O.....	49	4. MATERIJALI I
METODE.....	50	4.1 Područje
ispitivanja.....	50	4.2 Uzorkovanje sedimenta i ribe

.....	54	4.3	Analiza teških metala u uzorcima sedimenta i
ribe.....	57	4.3.1	Priprema uzorka sedimenta za analizu teških
metala.....	57	4.3.2	Priprema uzorka riba za analizu teških
metala.....	62	4.3.3	Hemijske analize teških
metala.....	63	4.3.3.1	Plamena atomska apsorpciona
spektrometrija (F?AAS) .....	64	4.3.3.2	Hidridna tehnika atomske apsorpcione spektrometrije
(HG?AAS) .....	65	4.3.3.3	Induktivno spregnuta plazma sa optičkom emisionom spektrometrijom (ICP?
OES) .....	66	4.3.3.4	Grafitna tehnika atomske apsorpcione spektrofotometrije (GF?AAS).....
Direktni analizator žive (DMA) .....	68	4.3.4	Indeks opterećenja
zagađenjem.....	69	4.3.5	Geoakumulacioni
indeks.....	70	4.3.6	Koeficijent rizika i indeks opasnosti
.....	71	4.4	Analiza mikroplastike u uzorcima sedimenta i ribe
.....	72	4.4.1	Ekstrakcija mikroplastike iz uzoraka sedimenta i
ribe.....	74	4.4.2	Identifikacija mikroplastike
.....	79	4.4.2.1	Vizuelna identifikacija mikroplastike
.....	79	4.4.2.2	Hemijska identifikacija mikroplastike
.....	81	4.4.3	Osiguranje i kontrola
kvaliteta.....	82	4.5	Statistička
analiza.....	83	<b>REZULTATI I DISKUSIJA</b>	
.....	85	<b>5. TEŠKI METALI U MORSKOJ SREDINI CRNOGORSKOG</b>	
PRIMORJA.....	86	5.1	Sadržaj teških metala u sedimentu
.....	86	5.1.1	Poređenje koncentracija ispitivanih teških metala u
sedimentu sa podacima iz literature.....	91	5.1.2	Poređenje koncentracija teških metala u sedimentu sa dozvoljenim
vrijednostima .....	95	5.1.3	Koncentracioni faktor, indeks opterećenja zagađenjem i geoakumulacioni
indeks.....	97	5.1.4	Analiza glavnih koordinata i klusterska analiza teških metala u sedimentima .....
101	5.1.5	Permutaciona multivarijantna analiza teških metala u sedimentima.....	105
5.2	Sadržaj		
teških metala u ribama .....	106	5.2.1	Poređenje koncentracija
ispitivanih teških metala u ribama sa podacima iz literature .....	113	5.2.2	Poređenje koncentracije teških metala u
ribama sa dozvoljenim vrijednostima.....	118	5.2.3	Procjena rizika po zdravlje čovjeka
.....	119	5.2.4	Analiza glavnih koordinata i klusterska analiza teških
metala u ribama.....	121	5.2.5	Permutaciona multivarijantna analiza teških metala u
ribama.....	127	<b>6. MIKROPLASTIKA U MORSKOJ SREDINI CRNOGORSKOG PRIMORJA</b>	
.....	129	6.1.	Sadržaj mikroplastike u sedimentu .....
129	6.1.1	Vizuelna identifikacija mikroplastike u sedimentu.....	133
6.1.2	Hemijska		
identifikacija mikroplastike u sedimentu .....	141	6.1.3	Poređenje zastupljenosti i
karakteristika mikroplastike u sedimentu sa podacima iz literature.....	146	6.1.4	Analiza glavnih koordinata i klusterska
analiza mikroplastike u sedimentu.....	150	6.1.5	Permutaciona multivarijantna analiza mikroplastike u
sedimentu.....	154	6.2	Sadržaj mikroplastiku u ribama
.....	155	6.2.1	Vizuelna identifikacija mikroplastike u ribama
.....	157	6.2.2	Hemijska identifikacija mikroplastike u ribama

.....	162	6.2.3 Poređenje učestalosti ingestije MPs i karakteristika MPs u ribama sa podacima iz literature.
.....	165	6.2.4. Analiza glavnih koordinata i klastera analiza podataka mikroplastike u ribama
.....	169	6.2.5 Permutaciona multivarijantna analiza mikroplastike u ribama
ZAKLJUČAK .....	175	LITERATURA
.....	178	BIOGRAFIJA
AUTORA.....	217	Izjava o autorstvu
.....	218	Izjava o istovjetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada
.....	219	Izjava o korišćenju
.....	220	UVOD Teški metali i mikroplastika predstavljaju dva različita tipa zagađivača (neorganski – prirodnog porijekla i organski ? sintetički) u životnoj sredini koje karakteriše postojanost, loša biorazgradljivost, bioakumulacija / biomagnifikacija u prehrambenom lancu (Abdolapur i dr., 2013; Gu i dr., 2015; Grigorakis i dr., 2017; Vendel i dr., 2017). Za razliku od teških metala koji predstavljaju zagađivače u životnoj sredini poznate čovjeku, mikroplastika je relativno novi zagađivač životne sredine koji izaziva sve više interesovanja cjelokupnog društva (Brennecke i dr., 2016). Teški metali, zbog svoje toksičnosti i sposobnosti da se akumuliraju u živim organizmima predstavljaju, potencijalnu opasnost za živi svijet, kako za biljke i životinje, tako i za čovjeka (Perošević?Bajčeta, 2020). Neki od teških metala su esencijalni za čovjeka (sa određenom biološkom ulogom), dok oni koji su neesencijalni (bez poznate biološke uloge) mogu imati toksično i kancerogeno dejstvo (Järup, 2003). Koncentracija i oblik u kojem se nalaze teški metali je presudna za njihovu toksičnost, što znači da su generalno svi metali toksični ukoliko njihova koncentracija prelazi maksimalno dozvoljene koncentracije (Sharma, 2014). Takođe, treba naglasiti da se ovi elementi prirodno nalaze u Zemljinoj kori, a njihova eventualna povećana koncentracija u svim odjeljcima životne sredine je posledica različitih antropogenih aktivnosti (Ansari i dr., 2004). Plastika je moderan materijal u poređenju sa tradicionalnim materijalima kao što je drvo, metal, kamen i staklo. Za razliku od teških metala koji su prirodno prisutni u životnoj sredini, plastika predstavlja sintetičke i polusintetičke polimere dobijene polimerizacijom. Na globalnom nivou, plastični otpad predstavlja 83–87% ukupnog morskog otpada (Gomiero i dr., 2018), a smatra se da 80% plastike u more dospjeva iz kopnenih izvora (Plastics Europe, 2018). Plastične čestice veličine < 5 mm prvi put su u vodenim ekosistemima otkrivene 1972. godine u Sargaskom moru (Carpenter i Smith, 1972) i definišu se pod terminom mikroplastika (Thompson i dr., 2004; Ivar do Sul i Costa, 2013). Mikroplastika se može naći u površinskim vodama, sedimentu morskog dna, plažnom sedimentu i širokom spektru živih organizama (beskičmenjaka, riba, ptica, sisara) od Arktika do Antarktika. Iako je plastika okarakterisana kao hemijski inertna, ona sadrži veliku količinu hemijskih supstanci koje se ugrađuju u plastične polimere tokom proizvodnje (razni aditivi), kao i one prisutne u vodi koje se adsorbuju na površini mikroplastike, kao što su razni 1 organski i neorganski zagađivači (Godoy i dr., 2019). Sve navedeno predstavlja potencijalni faktor koji može doprinijeti gubitku biološke raznovrsnosti u okeanima i morima (Gall i Thompson, 2015), ali i do ozbiljnih posledica po zdravlje ljudi usled prekomjernog konzumiranja kontaminirane hrane iz mora. U simbiozi, teški metali i mikroplastika imaju pojačane negativne efekte na živi svijet, sa posebnim akcentom na morske ekosisteme zbog čega je neophodno njihovo proučavanje i ispitivanje u morskome sedimentu i živim organizmima kao najvažnijim abiotičkim i biotičkim indikatorima. Sedimenti, osim što predstavljaju stanište mnogim morskim organizmima oni su i taložišta ali i potencijalni izvori brojnih zagađujućih supstanci. Koncentracija zagađujućih supstanci u sedimentu može biti nekoliko puta veća nego u vodenom stubu. Na osnovu dobijenih podataka u sedimentu dobija se jasna slika o kvalitetu morskog ekosistema, što sediment čini pogodnim indikatorom zagađenja (Joksimović i dr., 2016). Međutim, da bi se dobili podaci o bioraspodivnosti

zagađivača, procjeni rizika, sve češće se živi organizmi koriste kao biološki indikatori zagađenja morske sredine (Perošević-Bajčeta, 2020). Riba, kao i ostali morski organizmi, može da sadrži razne zagađujuće supstance kao posledicu zagađenja morske vode. Riba se smatra dragocjenim izvorom proteina u ljudskoj ishrani, a kako njena potrošnja ne bi predstavljala rizik po zdravlje ljudi naglašava se potreba za kontinuiranim ispitivanjem eventualnog prisustva štetnih i opasnih materija u ribama (Burger i Gochfeld, 2009). RIBE se smatraju važnim bioindikatorima u vodenim ekosistemima za procjenu zagađenja (Hosseini i dr., 2015; Zaza i dr., 2015; Authman i dr., 2015; Bellas i dr., 2016; Capillo i dr., 2019), pri čemu mogu da akumuliraju organske i neorganske zagađivače i dobri su pokazatelji dugoročnih efekata (Milošković, 2016). U ovom istraživanju odabrane su dvije vrste riba kao bioindikatori zagađenja teškim metalima i mikroplastikom na crnogorskom primorju: (1) barbun (*Mullus barbatus*) koji predstavlja bentosnu pridnenu vrstu i (2) oslić (*Merluccius merluccius*) koji predstavlja bentopelagičnu pridnenu vrstu u crnogorskom podmorju. Obje vrste su već korišćene kao ekotoksikološki bioindikatori u Sredozemnom moru zbog svoje komercijalne vrijednosti, ekoloških implikacija i različitih navika hranjenja (Bayarri i dr., 2001; Marigomez i dr., 2006; Perugini i dr., 2013; Belhoucine i dr., 2014), što omogućava poređenje sa literaturnim podacima iz regiona i šire. Cilj ovog rada bio je da se procjeni ekološko stanje mora na osnovu sadržaja teških metala i mikroplastike u sedimentu i komercijalnim vrstama riba na crnogorskom primorju primjenom multidisciplinarnog pristupa koji uključuje savremene hemijske metode analize teških metala i jedinstvenu metodu određivanja mikroplastike u oba matriksa. Konkretno, u uzorcima dvije vrste riba (barbun i oslić) i površinskog sedimenta sa 10 ispitivanih lokacija duž crnogorskog primorja, određene su koncentracije teških metala Fe, Mn, Zn, Cu, Pb, Cr, Cd, Ni, As i Hg kao i kvantifikacija i identifikacija prisutne mikroplastike. Uzorkovanje je vršeno u proljećnom i jesenjem periodu tokom dvije istraživačke godine (2019? 2020.godine). Izabrane lokacije za analizu sedimenta na prisustvo teških metala i mikroplastike podijeljene su na lokacije koje se nalaze u Bokotorskom zalivu (Dobrota, Orahovac, Sveta Nedjelja, Tivat, Bijela i Herceg Novi) i lokacije koje se nalaze na otvorenom dijelu crnogorskog primorja (Žanjice, Budva, Bar i Ada Bojana). S obzirom da se statičnost mjesta uzorkovanja sedimenta ne diversifikuje kao i mjesta uzorkovanja riba, jer se radi o živim organizmima, ribe potiču iz dva akvatorijuma koja su zbog specifičnosti crnogorske obale podijeljena na Bokotorski zaliv i otvoreno more. Analizirane vrste riba su veoma važne sa ekonomske tačke gledišta za crnogorski region. Ovim istraživanjem prvi put je određen sadržaj i izvršena identifikacija mikroplastike u površinskom sedimentu i ekonomski značajnim vrstama riba na crnogorskom primorju.

### TEORIJSKI DIO 1. ZNAČAJ I ZAGAĐENJE MORSKIH EKOSISTEMA

Mora i okeani čine oko 72% Zemljine površine i više od 90% staništa naseljenim živim organizmima. Morska voda je složena mješavina 96.5% vode, 2.5% soli i manjih količina drugih supstanci, uključujući rastvorene neorganske i organske materije, čestice i atmosfere gasove. Značaj i uloga morske vode je veliki i mnogostruk, počev od toga da je morska voda medijum odakle je život potekao, bogat izvor hrane i različitih komercijalno važnih i neophodnih hemijskih elemenata. Pored toga, desalinizacijom morske vode mogu se dobiti neograničene zalihe vode za piće (Gouletquer i dr., 2014). Nedavne studije sugerišu da na okeane otpada 2/3 vrijednosti globalnih dobara ekosistema, što znači da okeani imaju glavnu ulogu u regulaciji klime, obezbjeđuju proteine za ljudsku ishranu i regulišu globalni ciklus vode, hranljivih materija i ugljenika (Yozell i dr., 2020). Sedimentna staništa, od šljunka do najfinih čestica mulja, pokrivaju veći dio dna okeana i mora i čine najveći pojedinačni ekosistem na zemlji u prostornom pokrivanju. Bentosni organizmi (koji žive na dnu mora) značajno doprinose regulaciji ugljenika, azota i kruženja sumpora, distribuciji i sudbini zagađivača (Yozell i dr., 2020). Struktura i mineraloško-petrografski sastav morskog sedimenta utiče na sastav i rasprostranjenje morske biocenoze, što se naročito odnosi na bentosne i bentopelagične organizme (Jardaš 1996; Joksimović, 2007). Sedimenti osim što predstavljaju stanište mnogim morskim organizmima su i mjesto gdje se taloži veliki broj supstanci koje se razgrađuju u

kolonama iznad sedimenata. Sedimenti imaju značajnu ulogu u definisanju glavnih hemijskih, fizičkih i / ili bioloških karakteristika vodene sredine. Stanje sedimenta predstavlja arhivu morske istorije i prošlih događaja, zbog čega je sediment pogodan indikator za praćenje stanja životne sredine (Tan i dr., 2016; Ubeid i dr., 2018). Posljednjih godina hrana iz mora, a naročito riba i njeni proizvodi, zauzimaju značajno mjesto u ishrani ljudi. Njihova potrošnja naročito se povećala od 1995. godine, prije svega zbog njihove hranjive i nutritivne vrijednosti (Baltić i dr., 2009). Riba je prepoznata kao sastavni dio uravnotežene ishrane, odlikuje se malim sadržajem masti i holesterola, visokim sadržajem nezasićenih masnih kiselina i povoljnim odnosom omega-3 i omega-6 masnih kiselina (Mehouel i dr., 2019). Pored toga ona sadrži i druge hranjive sastojke (vitamine, minerale) značajne za ishranu čovjeka. Poznato je da ishrana bogata ribom povoljno utiče na rad mozga, prevenciju i smanjenje učestalosti kardiovaskularnih oboljenja, zatim kod zapaljenskih procesa zglobova, a najnovija istraživanja pokazuju da pomaže i u prevenciji i liječenju raka (Jovanović, 2015). Iz svega navedenog se može zaključiti da morski ekosistemi imaju neprocjenljiv značaj i ulogu na planeti Zemlji i u cilju njihovog očuvanja i zaštite neophodno je vršiti kontinuirani monitoring morskih ekosistema sa akcentom na očuvanje morskog biodiverziteta i sprječavanje zagađenja. Pojam zagađenja morskih ekosistema podrazumijeva direktno ili indirektno unošenje različitih materija ili energije koje mijenjaju kvalitet morske vode, ekološke uslove u njoj ili neposredno utiču na žive organizme i njihove zajednice. Mnoge otpadne materije ispoljavaju visok stepen bioakumulativnosti i uzrokuju toksične, mutagene, teratogene i kancerogene efekte u morskim organizmima ili ljudima koji se tim organizmima hrane (Gray, 1982). Direktno unošenje polutanata u morsku sredinu posledica je ispuštanja otpadnih voda i drugih otpadnih materija, izlivanja zagađujućih materija usled havarija tankera i drugih objekata na moru, odlaganje različitog otpada u more itd. Indirektno zagađenje morske sredine potiče od zagađenih rijeka, podzemnih voda, spiranja polutanata sa kopna ili iz zagađene atmosfere (Jacobs i dr., 2015). Različite otpadne materije koje dospijevaju u more, izazivaju opšte pogoršanje životnih uslova, ishrane, disanja, izmjene materija, usporavaju rast i razvoj ili izazivaju bolesti i smrtnost organizama (Gray, 1982). Zagađujuće materije mogu da se akumuliraju u pojedinim organizmima i da se kroz lanac ishrane prenose u druge organizme i biotope. Djelovanjem zagađivača u moru mijenja se primarna produkcija, narušava se i mijenja struktura biocenoza i ekosistema. Na taj način se mijenja prenos materija i protok energije u trofičkim slojevima morske vode (Shahidul Islam i Tanaka, 2004). Najčešći zagađivači morske vode su: nafta i derivati nafte, fenoli, pesticidi, otpadne organske materije, fekalno zagađenje, kancerogene materije, metali, radioaktivni otpad, čvrsti otpad, plastični otpad, termičko zagađenje i dr. (Žikić, 1999). Evropska mora zaštićena su Okvirnom direktivom o morskoj strategiji (eng. The Marine Strategy Framework Directive – MSFD, 2008/56/EC). MSFD uspostavlja okvir za razvoj morskih strategija dizajniranih za postizanje dobrog ekološkog statusa (eng. Good Ecological Status – GES) u morskom okruženju primjenjujući 11 kvalitativnih deskriptora. Takođe, MSFD naglašava važnost procjene ključnih bioloških odgovora za procjenu zdravlja organizama i povezivanje uočenih odgovora na izloženost zagađivačima (EC, 2008). Zajednička grupa stručnjaka za naučne aspekte zaštite morske sredine (eng. Joint Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Environmental Protection – GESPM) definiše zagađenje mora kao posledicu različitih antropogenih uticaja, pa se akcenat stavlja na antropogenim aktivnostima, a ne na prirodnim izvorima kontaminenata u životnoj sredini. Okvirna direktiva EU o vodama (eng. Water Framework Directive WFD, Direktiva 2000/60/EC) preporučuje programe praćenja koji su neophodni za procjenu u cilju postizanja dobrog hemijskog i ekološkog statusa vodnih tijela i naglašava važnost biološkog praćenja kvaliteta vode (Joksimović i dr., 2016). Važno je naglasiti da od 2009. godine Institut za biologiju mora u Kotoru sprovodi biomonitoring u okviru Programa za procjenu i kontrolu zagađenja Sredozemnog mora (The Programme for the Assessment and Control of Marine Pollution in the Mediterranean – MED POL), pri čemu su glavne aktivnosti usmjerene na utvrđivanju stanja životne sredine morskog ekosistema na



crnogorskoj obali, analizom određenih parametara i biomarkera opisanih u programu MED POL (Joksimović i dr., 2016).

1.1 Sediment kao indikator zagađenja morskih ekosistema U vodenim ekosistemima, sedimenti su glavni izvori teških metala, pa se na osnovu podataka o zagađenju sedimenta može dobiti projekcija o kvalitetu morskog ekosistema (Joksimović i dr., 2016). Toksičnost sedimenata može se definisati kao ekološka i biološka promjena izazvana kontaminiranjem sedimenata (Balkis i Çağatay, 2001). Raspodjela zagađujućih supstanci u sedimentu pruža dokaze o antropogenom uticaju na morski ekosistem (Salem i dr., 2014). Utvrđeno je da bentosne vrste, one koje žive na dnu i na velikim dubinama i koje su usko povezane sa sedimentom, u većoj mjeri akumuliraju zagađujuće supstance (Reineri i dr., 2014). Sedimenti su heterogeni skupovi mnogobrojnih sorbentnih faza, kao što su: organska materija, oksidi, sulfidi, karbonati, minerali, glina i mulj, čija zastupljenost zavisi od pH vrijednosti, redoks uslova, hidrološkog režima i taloženja (Zhang i dr., 2014). Poznavanje sadržaja organske materije, mineralog i granulometrijskog sastava sedimenta je nužno u cilju boljeg razumijevanja raspodjele zagađujućih supstanci i ekološke uloge sedimenata određenog područja (Perošević-Bajčeta, 2020). Granulometrijski sastav daje podatke o zastupljenosti šljunka (> 2 mm), pijeska (63 μm–2000 μm), mulja (2 μm–63 μm) i gline (< 2 μm) u sedimentu (Mali i dr., 2017). Za kvalitativnu i kvantitativnu analizu zagađujućih supstanci u sedimentu najčešće se koriste hemijske analize. Međutim, hemijske analize ne daju informacije o biodostupnosti zagađujućih supstanci, interakciji između hemijskih jedinjenja ili potencijalnim štetnim efektima (Soliman i dr., 2018). Sediment je heterogene strukture, i kao takav sastoji se od sledećih komponenti: intersticijalne vode, koja okružuje čestice sedimenta i čini 50% njegove zapremine, neorganske faze, koju čine djelovi stijena i minerala, organske materije i materijala dospjelih antropogenim putem, uključujući i zagađujuće supstance (Perošević-Bajčeta, 2020). S obzirom na ulogu i značaj sedimenta i činjenicu da stanje morskog sedimenta predstavlja arhivu morske istorije i prošlih događaja, sediment je pogodan indikator za praćenje stanja morskog ekosistema (Tan i dr., 2016; Ubeid i dr., 2018), i neophodno je kontinuirano ispitivati i pratiti koncentracije različitih zagađujućih materija u sedimentu.

1.2 Morski organizmi kao bioindikator zagađenja Do nedavno se određivanje koncentracije zagađujućih komponenti, u cilju procjene stepena zagađenja morske sredine, vršilo samo u vodi i sedimentu. Međutim, ovakvim pristupom se ne dobijaju informacije o riziku koji nastaje usled biodostupnosti, biokoncentracije, bioakumulacije ili biomagnifikacije zagađujućih komponenti od strane vodenih organizama (Maceda-Veiga i dr., 2013). Biodostupnost predstavlja dio od sveukupne koncentracije određene supstance prisutne u životnoj sredini, koju organizam može da apsorbira iz okruženja i/ili preko hrane (Perošević-Bajčeta, 2020). Kada je organizam izložen nekoj zagađujućoj supstanci, biodostupnost je parametar koji određuje da li će ta supstanca štetno djelovati na njega (Peijnenburg i Jager, 2003). Bioakumulacija predstavlja sposobnost organizama (biljnog ili životinjskog) da akumulira toksična jedinjenja u tkivima njihovog sistema usled apsorpcije te supstance iz životne sredine. Ovaj proces se odvija unutar trofičkog nivoa. Koncentracija toksičnih jedinjenja u tkivima može dostići viši nivo nego u okolini. Bioakumulacija može da bude posledica biokoncentracije ili biomagnifikacije (Milanov, 2014). Nivo bioakumulacije toksičnih jedinjenja u tkivima živih organizama je pod uticajem biotičkih i abiotičkih faktora, poput biološkog staništa, hemijske forme jedinjenja u vodi, temperature vode, pH vrijednosti, koncentracije rastvorenog kiseonika, kao i pola, starosti, tjelesne mase i fiziološkog stanja organizma (Has-Schon i dr., 2006). Biokoncentracija predstavlja akumulaciju toksičnih jedinjenja u tkivu nekog organizma do nivoa koji je veći nego u njegovom okruženju, tj. proces koji se dešava kada je unošenje neke supstance u tkivo organizma veće i brže od izlučivanja iste. Nakupljanje opasnih materija u vodenim organizmima predstavlja rizik od unošenja ovih supstanci u organizam čovjeka putem hrane (Milanov, 2014). Biomagnifikacija predstavlja porast koncentracije kontaminanta u organizmu, od nižeg ka višem trofičkom nivou u okviru istog lanca ishrane, a usled bioakumulacije iz hrane (McGeer i dr., 2004). Dok su biokoncentracija i bioakumulacija procesi koji se dešavaju unutar

organizma, biomagnifikacija se dešava kroz lanac ishrane. Izražava se kao odnos koncentracije u organizmu na višem trofičkom nivou u odnosu na koncentraciju u organizmu na nižem trofičkom nivou. Proces biomagnifikacije najuočljiviji je u akvatičnoj sredini, pa se ribe kao jedna od krajnjih karika u lancu ishrane smatraju dobrim bioindikatorima kontaminacije akvatične sredine (Spodniewska i Barski, 2013). Analiziranje zagađivača u živim organizmima u odnosu na abiotičko okruženje pruža precizne informacije o bioraspodjivosti zagađivača i postizanja tačne procjene rizika u cilju bezbjednosti morskih organizama (Olusola i Festus, 2015). Iz navedenih razloga, danas se živi organizmi sve više koriste kao biološki indikatori zagađenja morske sredine (Bonanno i Orlando- Bonaca, 2018). Organizmi koji se mogu uspješno koristiti za kvantifikaciju relativnih nivoa zagađenja, mjerenjem koncentracije zagađivača u njihovim tkivima, smatraju se biološkim indikatorima (Rinderhagen i dr., 2000). Bioindikatori daju korisne informacije o mogućim efektima zagađujućih materija na populacije (Joksimović i dr., 2016). Vodeni organizmi akumuliraju zagađujuće supstance iz vode, hrane i sedimenta (Schintu i dr., 2008). Fossi i dr. (2018) predložili su panel opštih kriterijuma prilikom odabira indikatorskih vrsta za procjenu uticaja morskih kontaminanata. Takvi kriterijumi se zasnivaju na: ? osnovnim informacijama o organizmima (staništu, trofičnom nivou, načinu hranjenja, tolerantnost na promjene uslova sredine, životni vijek...); ? prostornoj distribuciji (stvarni "predstavnik" za dato područje); ? komercijalnom značaju; ? dokumentovanom unošenju kontaminanata; ? dostupnost za sakupljanje / uzorkovanje, identifikaciju i rukovanje (Fossi i dr., 2018).

### 1.2.1 Ribe kao bioindikator zagađenja morskih ekosistema

U programu biomonitoringa najbitniji je izbor vrsta koje će se koristiti. U novije vrijeme, među bioindikatorima nove generacije, riba zauzima sve veći značaj kao indikator procjene kvaliteta životne sredine u različitim vodenim ekosistemima, najprije zbog njihove sposobnosti bioakumulacije i biomagnifikacije duž trofičkog lanca (Salvaggio i dr., 2020). Riba, kao i ostala hrana iz mora, može da sadrži razne zagađujuće supstance u različitim koncentracijama, kao posledica zagađenja morske vode. Niske koncentracije zagađujućih supstanci neće imati značajan uticaj na samu ribu (npr. neke znake bolesti), ali može izazvati smanjenje plodnosti ribljih populacija, što može dovesti do dugotrajnog pada i eventualnog izumiranja ovog prirodnog resursa (Authman i dr., 2015). Riba se smatra dragocjenim izvorom proteina u ljudskoj ishrani, međutim prisustvo toksičnih supstanci u ribama može predstavljati rizik po zdravlje ljudi usled konzumiranja istih (El Moselhy i dr., 2014). Upravo iz ovih razloga, posebnu pažnju treba posvetiti kontinuiranom ispitivanju eventualnog prisustva štetnih i opasnih materija koje negativno mogu djelovati na morske organizme koji ih usvajaju (poremećaj metabolizma, smanjenje rasta, smanjenje životnog vijeka, poremećaj reprodukcije, stvaranje deformiteta, uginuće), na poremećaj u morskom lancu ishrane, ugrožavanje morskog biodiverziteta, kao i na zdravlje ljudi (Burger i Gochfeld, 2009). Ribe se smatraju značajnijim bioindikatorima u vodenim ekosistemima za procjenu zagađenja, kao i za procjenu kvaliteta mesa ribe i potencijalnog rizika po zdravlje ljudi (Alhas i dr., 2009; Authman i dr., 2015; Hosseini i dr., 2015; Zaza i dr., 2015; Bellas i dr., 2016). Za razliku od drugih morskih organizama, riba dobro akumulira organske i neorganske zagađujuće supstance iz vodene sredine, dobri su pokazatelji dugoročnih efekata (i do nekoliko godina) i širokih uslova staništa, lako se prikupljaju i identifikuju do nivoa vrste (Milošković, 2016). U literaturi se navodi da je poželjno da više od jedne vrste ribe bude uključeno i analizirano u komparativnim studijama životne sredine usled značajnih varijacija u procesima zagađenja (Burger i Gochfeld, 2009), kao i da izbor indikatorske vrste ne treba da bude ograničen samo na određeni nivo lanca ishrane (Agah i dr., 2009). Vodeći se svim navedenim kriterijumima, u ovom istraživanju odabrane su dvije vrste riba kao bioindikator zagađenja teškim metalima i mikroplastikom na crnogorskom primorju: (1) barbus (*Mullus barbatus*) koji predstavlja bentosnu pridnenu vrstu i (2) oslić (*Merluccius merluccius*) koji predstavlja bentopelagičnu pridnenu vrstu. Obje vrste već su korišćene kao ekotoksikološki bioindikatori u Sredozemnom moru zbog svoje komercijalne vrijednosti, ekoloških implikacija i različitih navika hranjenja (Bayarri i dr., 2001; Marigomez i dr., 2006;

Perugini i dr., 2013; Belhoucine i dr., 2014). *M. barbatus* i *M. merluccius* se koriste kao biomonitori za identifikaciju geografskih obrazaca i vremenskih trendova zagađenja mora u okviru španskog programa praćenja zagađenja mora (Spanish Marine Pollution Monitoring Programme ? SMP) (Bellas i dr., 2016). Barbun je od strane MedPol programa (Mediterranean Pollution Monitoring and Research Programme) prihvaćen kao značajna indikatorska vrsta za praćenje zagađenja (Burgeot i dr., 1996), dok Salvaggio i dr. (2020) sugerišu da se oslić može smatrati važnom i korisnom vrstom za praćenje stanja životne sredine kroz studije bioakumulacije i biomagnifikacije. S obzirom da barbun i oslić nisu migratorne vrste i da su glavna meta komercijalnog ribolova, dodatne su prednosti pri njihovom korišćenju kao ekotoksikoloških bioindikatora u Sredozemnom moru (Bayarri i dr., 2001; Marigomez i dr., 2006; Perugini i dr., 2013; Belhoucine i dr., 2014). Postoji značajan broj naučnih radova koji su za bioindikatore zagađenja iz oblasti kako teških metala, tako i mikroplastike primjenjivali upravo oslić i barbun, što govori o izuzetnoj primjenljivosti navedenih vrsta kao bioindikatora zagađenja i omogućava poređenje sa literaturnim podacima iz regiona i svijeta. Iako mišićno tkivo ribe ne predstavlja aktivno tkivo u akumulaciji zagađivača (teških metala) (Višnjić?Jeftić i dr., 2010), obično je analizirano u literaturi s obzirom da je osnovni dio ribe koji čovjek koristi u ishrani, a samim tim i značajni dio zdravstvenog rizika (Yilmaz i Doğan, 2008). Iz svega navedenog, zaključak je da mišićno tkivo najbolje odražava posledice zagađenja akvatičnih ekosistema obuhvatajući i zdravstveni rizik za čovjeka. Prema Lusher i dr. (2017) veći broj istraživača je za analizu prisustva mikroplastike koristio gastrointestinalni trakt (GIT) riba (želudac i crijeva) u odnosu na cijeli organizam, jer je ingestija jedan od glavnih puteva ulaska mikroplastike u organizam riba. U ovoj doktorskoj disertaciji korišćeno je mišićno tkivo ispitivanih vrsta riba na prisutvo teških metala i GIT riba za analizu prisustva mikroplastike.

### 1.2.1.1 Barbun, *Mullus barbatus* (Linnaeus, 1758)

*Mullus barbatus*, barbun, trlja, je bentosna pridnena riba, veoma je brojna i rasprostranjena duž cijele obale Jadranskog mora (Slika 1.1). Živi u jatima, naseljava pjeskovito i muljevito dno kontinentalnog šelfa dubine od 10 do 500 m. Mrijesti se krajem zime do početka ljeta i u tom periodu zalazi u pliče kanale uz obalu. Hrani se najčešće polihetama, školjkama, rakovima, puževima, nematodama i drugim organizmima koji se nalaze na dnu mora (Jardas, 1996; Konstantinos i Vasiliki, 2002). Može dostići dužinu do 32 cm i težinu do 700 g. Polnu zrelost dostiže u drugoj godini kada dostigne dužinu od 12 do 14 cm (Cherif, 2007). Slika 1.1 Barbun, *Mullus barbatus* (Linnaeus, 1758) (<https://bit.ly/3M2Wkde>) Barbun ima afnitet prema vodama sa niskim salinitetom (Matić? Skoko i dr., 2018). Najčešće se lovi kočom, ova vrsta je veoma zastupljena u ulovu kočara na crnogorskom primorju, tj. nalazi se na drugom mjestu, odmah iza oslića. Meso barbuna sadrži veliki procenat joda, što ga čini veoma ukusnom i cijenjenom ribom (Joksimović, 2007).

### 1.3.1.2 Oslić, *Merluccius merluccius* (Linnaeus, 1758)

Oslić, luc ili mol (lokalni nazivi) je komercijalno značajna bentopelagična pridnena vrsta (Slika 1.2). Oslić uglavnom preferira muljevito i pjeskovito dno i distribuira se u rasponu dubine od 70 do 500 m (Girgin i Bašusta, 2020). Ova vrsta je uglavnom mesožder, najčešće se hrani ribama, rakovima, mekušcima (Philips, 2012). Oslić se nalazi u dubljim slojevima vode tokom dana, a noću se premiješta u pliče slojeve (Froese i Pauly 2018). Lovi se najčešće kočama, zatim parangalima i mrežama (Uzer i dr., 2019). Može narasti do 130 cm dužine i dostići težinu do 5 kg, veličina im se obično kreće od 12 do 60 cm. Mrijeste se skoro čitave godine, intenzivnije tokom jeseni i zime. Ženke sazrijevaju pri dužini od 23 do 33 cm, a mužjaci pri dužini od 20 do 28 cm (Jardas, 1996). Oslić je jedna od najrasprostranjenijih riba u Jadranskom moru. U kočarskim ulovima na crnogorskoj obali zauzima prvo mjesto po procentualnom i težinskom učešću. Meso oslića je veoma cijenjeno zbog svoje mekoće, nije masno, lako je svarljivo (Joksimović, 2007). Slika 1.2 Oslić, *Merluccius merluccius* (Linnaeus, 1758) (<https://bit.ly/3smcHK4>)

## 2. TEŠKI METALI

### 2.1 Osnovne karakteristike teških metala

Termin teški metali je različito definisani od strane pojedinih naučnika. Određene definicije se zasnivaju na gustini, na atomskoj težini, na hemijskim svojstvima ili toksičnosti. Takođe, teški metali se definišu i kao elementi u tragovima, jer se javljaju

u niskim koncentracijama u biološkim sistemima. Termin „teški metali“ se često koristi kao naziv za grupu metala i polumetala (metaloida) koji su povezani sa kontaminacijom i potencijalnom toksičnošću ili ekotoksičnošću (Ali i dr., 2019). Najčešće, termin teški metali se odnosi na grupu metala i metaloida sa atomskom težinom većom od 5 g/cm<sup>3</sup> (Durube i dr., 2007). Metali se na osnovu biološke uloge mogu podijeliti na esencijalne (sa poznatom biološkom funkcijom) kao što su: Cu, Cr, Fe, Mn, Zn i neesencijalne (sa nepoznom biološkom funkcijom) kao što su: Pb, Cd, Hg, As (Fallah i dr., 2011). Esencijalni metali regulišu niz fizioloških mehanizama ključnih za funkcionisanje i razvoj organa kod čovjeka, pa njihov nedostatak može dovesti do različitih oboljenja kod čovjeka s obzirom da ulaze u sastav ključnih enzima i igraju važnu ulogu u brojnim oksidoredukcionim procesima u organizmu (Blanuša i dr., 2005). Koncentracije u kojima se joni metala mogu smatrati opasnim variraju, pa tako neki od esencijalnih metala u većim koncentracijama od propisanih vrijednosti su toksični, negativno utiču na psihofizički razvoj organizma što dovodi do razvoja različitih bolesti (Golovanova, 2008). S druge strane, neesencijalni metali koji nemaju poznatu biološku funkciju su izuzetno toksični i pri veoma malim koncentracijama, naročito sa aspekta ljudskog zdravlja (Stanković i dr., 2014). Neesencijalni metali mogu ometati nutritivno esencijalne metale, zamjenjivati esencijalne metale u aktivnim enzimima ili membranskim proteinima (Perošević?Bajčeta, 2020). Neorganska jedinjenja metala ispoljavaju veću toksičnost od organskih jer se lako rastvaraju i mogu proći kroz ćelijsku membranu i dospjeti u organizam (Stanković i dr., 2014; Salem i dr., 2014). Najopasnijim, naročito sa aspekta ljudskog zdravlja, se smatraju elementi iz grupe neesencijalnih metala, Hg, Pb, Cd, As i Cr (Ali i dr., 2019; Balali?Mood i dr., 2021). Uticaj navedenih metala na ljudsko zdravlje redovno je ispitivan od strane Svjetske zdravstvene organizacije (engl. World Health Organization, WHO) (Järup, 2003). Generalno svi metali su toksični ukoliko su prisutni iznad maksimalno dozvoljene koncentracije (MDK) (Sharma, 2014). Ispitivani metali u ovoj studiji su: gvožđe (Fe), bakar (Cu), cink (Zn), mangan (Mn), nikal (Ni), hrom (Cr), olovo (Pb), kadmijum (Cd), arsen (As) i živa (Hg).

### 2.1.1 Gvožđe (Fe)

Gvožđe je esencijalni mikroelement potreban svim živim bićima. Biološki, najzastupljeniji su ferio (Fe<sup>2+</sup>) i ferio (Fe<sup>3+</sup>) oblik jona. Prisutan je u hranljivim materijama biljnog i životinjskog porijekla, u pijaćoj vodi i zemljištu. U hrani se nalazi u obliku organskih i neorganskih soli, organskih kompleksa i različitih oblika oksida (Šefer i Sinovec, 2008). Gvožđe je neophodan element za mnoge esencijalne funkcije u organizmu, od kojih je najvažnija, prenos kiseonika, koju obavlja u formi hemoglobina. Takođe, sastavni je dio mioglobina, citohroma i enzima mišićnih ćelija, učestvuje u reakcijama oksidacije potrebnim za proizvodnju energije (Williams 2005; Guyton, 2006). Smanjena količina gvožđa ogleda se u izraženom zamoru, slabom apetitu, smanjenoj otpornosti organizma, anemiji i smanjenju kapaciteta prenosa kiseonika (Vučković i dr., 2010). Međutim, i pored vitalnog značaja koji ima za većinu živih organizama, Fe je potencijalno štetno pri visokim koncentracijama (Dalmacija i Agbaba, 2008). Predoziranje gvožđem je relativno rijetko, visoka koncentracija gvožđa u tkivu povezana je sa nastajanjem i razvojem više patoloških stanja, uključujući i određene kancere, oboljenja jetre i srca, dijabetes, hormonalne abnormalnosti i nefunkcionisanje imunog sistema (Fraga i Oteiza, 2002). Kod riba se taloži na škrgama u obliku feriohidroksida, što može dovesti do uginuća ribe (Šefer i Sinovec, 2008).

IARC (Međunarodna agencija za istraživanje karcinoma, engl. International Agency for Research on Cancer) svrstava gvožđe u 2B grupu (potencijalno kancerogeni) (IARC, 2018). Kako je gvožđe definisano kao jedna od zagađujućih supstanci u hrani, propisane su dozvoljene vrijednosti Fe prilikom oralnog unosa (JECFA, 2019).

### 2.1.2 Bakar (Cu)

Bakar spada u esencijalne mikroelemente, neophodne za pravilno odvijanje procesa metabolizma u organizmima ljudi, životinja, kao i biljaka. Široko je rasprostranjen u prirodi i nalazi se najčešće u obliku svojih minerala: halkopirita (CuFeS<sub>2</sub>), kuprita (Cu<sub>2</sub>O) i azurita (2CuCO<sub>3</sub> x Cu(OH)<sub>2</sub>), mada je zastupljen i u elementarnom stanju (Jović, 2013). Bakar dopijeva u životnu sredinu najčešće iz industrijskih postrojenja za preradu njegovih ruda, fabričkih ispusta, deponija otpada, otpadnih voda iz domaćinstva, sagorijevanjem fosilnih goriva itd. Bakar se emituje i iz prirodnih izvora poput

vulkanskih erupcija, šumskih požara, spiranja tla, raspršivanja prašine i morske vode (ATSDR, 2004). U malim koncentracijama bakar je esencijalan za većinu organizama, neophodan za aktivnost različitih enzima, proteina i za iskorišćenje gvožđa. Deficit bakra u ishrani prouzrokuje anemiju, depresiju, demineralizaciju kostiju, poremećaj u varenju, narušava sintezu fosfatida, dovodi do smanjenja aktivnosti citohromoksidaze (Teodorović, Dimitrijević, 2011). Sa porastom koncentracije, Cu može biti toksičan za biljke i životinje (Ali i dr., 2019). Veće koncentracije Cu izazivaju vrtoglavice, dijareju, hemolitičku anemiju, neurološku i bubrežnu disfunkciju, cirozu jetre, hipertenziju, dermatitis i niz neuroloških poremećaja (Storelli i dr., 2007). U vodenoj sredini Cu se nalazi u tri osnovna oblika: suspendovanom, koloidnom i rastvorenom. Vodeni organizmi mogu akumulirati rastvoreni Cu direktnom apsorpcijom preko površine tijela, dok se oblici čestica ovog metala unose u organizam ingestijom (Magnusson i dr., 2007). Navodi se da Cu nema kancerogeno, mutageno dejstvo, niti negativno utiču na reprodukciju (JECFA, 2017). Prema IARC, Cu nije na listi kancerogenih supstanci (IARC, 2018). Međutim, JECFA (Stručni odbor FAO/WHO za aditive u hrani, eng. The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) definiše Cu kao jednu od zagađujućih supstanci u hrani (JECFA, 2019).

### 2.1.3 Cink (Zn)

Cink spada u važne esencijalne mikroelemente koji učestvuje u brojnim fiziološkim funkcijama i jedan je od najzastupljenijih elemenata u Zemljinoj kori. Najčešće se javlja u obliku svojih minerala: sfalerita (ZnS), smitsonita (ZnCO<sub>3</sub>) i cinkita (ZnO) (Guo i dr., 2010). Cink u životnu sredinu dospijeva kako iz prirodnih izvora (erozija tla i šumski požari) tako i iz antropogenih izvora (iskopavanje i prerada ruda, proizvodnja čelika, sagorijevanje uglja i otpada, odlaganje otpada i upotreba đubriva i pesticida koji sadrže Zn) (ATSDR, 2005). Biološka uloga Zn vezana je za razvoj i održavanje imunog sistema čovjeka, normalni rast, polno sazrijevanje, replikaciju ćelije, transkripciju i translaciju genetskog materijala, održavanje reproduktivne funkcije jedinke, jačanje imuniteta i brže zarastanje rana (Ćupić i dr., 2010). Više od polovine ukupnog cinka u organizmu nalazi se u mišićima, zbog čega mu se pripisuje značajna uloga u proizvodnji energije i zaštiti od oksidativnog stresa (Williams, 2005; Šefer i Sinovec, 2008). Deficit Zn uzrokuje niz poremećaja, među kojima su slab rast i razvoj, gubitak apetita, dermatitis, alopecija, slabljenje čula ukusa, sporije zarastanje rana, poremećaj reprodukcije i slabljenje imuniteta (Valko i dr., 2005). Toksične doze cinka teško je precizirati pošto one ne zavise samo od unijetog cinka, već i od koncentracije i interakcije sa drugim elementima i jedinjenjima (USEPA, 2005; Šefer i Sinovec, 2008). Povećanje koncentracije cinka kod čovjeka može izazvati anemiju, grčeve, oštećenja pankreasa, vrtoglavicu i povraćanje. Unos veće količine cinka može da dovede do deficita bakra (Williams, 2005). Vodeni organizmi mogu da akumuliraju cink kako iz vode tako i iz hrane. Cink se takođe u određenoj mjeri bioakumulira i u ribama, pri čemu stepen bioakumulacije u mnogome zavisi od puta ekspozicije, kao i uslova koji vladaju u posmatranoj vodenoj sredini. Međutim, toksični efekti cinka na rast ili opstanak riba nisu detaljno utvrđeni (Hoffman i dr., 2003). JECFA definiše cink kao zagađujuću supstancu u hrani (JECFA, 2019), a IARC definiše cink kao nekancerogen agens (IARC, 2018).

### 2.1.4 Mangan (Mn)

Mangan je srebrnasto sivi, tvrd i krt metal. Mangan je jedan od najrasprostranjenijih elemenata u zemlji i obično se javlja zajedno sa gvožđem. Od ruda mangana najvažnija je piroluzit (MnO<sub>2</sub>). Najznačajnija oksidaciona stanja sa aspekta životne sredine i biologije su: Mn<sup>2+</sup>, Mn<sup>4+</sup> i Mn<sup>7+</sup> (WHO, 2011). Mangan je neophodan (esencijalni) element za sve oblike života, koji učestvuje u nizu metaboličkih funkcija, uključujući razvoj skeletnog sistema, metabolizam energije, aktivaciju određenih enzima, funkcioniranje nervnog sistema, rast vezivnog tkiva, zgrušavanje krvi, funkcioniranje imunološkog sistema, pravilnu funkciju reproduktivnih hormona (ATSDR, 2012). Njegov nedostatak ima značajan uticaj na proizvodnju hijaluronske kiseline, hondroitinsulfata, heparina, kao i druge oblike mukopolisaharida koji su važni za rast i održavanje vezivnog tkiva, hrskavice i kostiju (Santamaria, 2008; ATSDR, 2013; EFSA, 2013). Toksičnost mangana prvi put je zabilježena pri profesionalnoj izloženosti hronično visokim količinama mangana ili pri slučajnom udisaju velikih količina. Hronično udisanje visokih koncentracija mangana

posebno utiče na mozak, izaziva neurodegenerativni poremećaj i neurobihevioralni poremećaj (Santamaria, 2008). Kada je u pitanju oralni unos, Mn se smatra jednim od najmanje toksičnih elemenata (EFSA, 2013). U tijelu riba Mn se akumulira primarno preko hrane. Međutim, do sada nisu dokazani štetni efekti kod riba povezani sa ekspozicijom mangana preko ishrane (Dalmacija i Agbaba, 2008). JECFA mangan definiše kao ne zagađujuću supstancu u hrani (JECFA, 2019), a IARC definiše mangan kao nekancerogenu supstancu (IARC, 2018).

### 2.1.5 Nikal (Ni)

Nikal je prirodni sastojak Zemljine kore i relativno široko rasprostranjen u životnoj sredini. Nalazi se u mnogim rudama kao sulfid, arsenid, antimonid, silikat i oksid (ATSDR, 2005). Glavni antropogeni izvori nikla u životnoj sredini su: proizvodnja nikla, sagorijevanje i spaljivanje fosilnih goriva, razni metalurški procesi, hemijska industrija i dr. (Bhalerao i dr., 2015). Za više životinje i čovjeka Ni je neesencijalan, ali je esencijalan za biljke i pojedine životinje (ATSDR, 2005; Sachan i Lal, 2017) zbog čega je često zastupljen u prehrambenim proizvodima. Ljudska populacija najčešće unosi Ni putem hrane (Perošević-Bajčeta, 2020). Ljudska populacija je najčešće izložena povišenim koncentracijama Ni u industrijama gdje se upotrebljavaju i/ili izrađuju proizvodi na bazi ovog elementa (Perošević-Bajčeta, 2020). Udisanje prašine koja sadrži Ni može dovesti do hroničnog bronhitisa, smanjene funkcije pluća, do karcinoma pluća i nazalnih sinusa (ATSDR, 2005). Nikal je jedan od najmobilnijih metala u akvatičnoj sredini. Nikal je umjereno toksičan za većinu vrsta akvatičnih biljaka, mada je najmanje toksičan za beskičmenjake i ribe (Weiner, 2008). Jedinjenja Ni su prema IARC svrstana u prvu grupu kancerogenih agenasa, a metalni oblici Ni (legure, implanti) u grupu potencijalno kancerogenih agenasa (2B) (IARC, 2018). JECFA definiše Ni kao ne zagađujuću supstancu u hrani (JECFA, 2019).

### 2.1.6 Hrom (Cr)

Hrom je srebrnobijeli metal, otporan na koroziju. U elementarnom stanju je mek, lako se oblikuje i kuje. Hrom se u prirodi nalazi u oksidacionim stanjima od -2 do +6. Gotovo sav hrom u prirodi nalazi se u trovalentnom obliku (Cr+3), dok je šestovalentni hrom (Cr+6) uglavnom industrijskog porijekla (Zayed i Terry, 2003). Sam hrom nije otrovan, ali njegova jedinjenja jesu, pa se najotrovnijima smatraju jedinjenja sa oksidacionim brojem +6, usled veće biodostupnosti (ATSDR, 2008). Cr3+ je esencijalan za čovjeka. Smatra se da Cr3+ može djelovati preventivno kod ateroskleroze i dijabetesa, kao i da ima važnu ulogu za metabolizam glukoze i lipida i iskorišćavanje amino kiselina. Međutim, usled prekoračenja određene koncentracije, Cr3+ može imati negativne efekte za zdravlje čovjeka (Guertin, 2004). S druge strane, jedinjenja Cr6+ su toksične supstance, industrijskog porijekla, i među prvim su supstancama klasifikovanim u grupu kancerogena (Tchounwou i dr., 2012). Negativni zdravstveni efekti vezani za ekspoziciju Cr6+ uključuju: dijareju, krvarenje crijeva, slabljenje imunog sistema, grčeve i oštećenje jetre i bubrega, kao i rak bubrega. Pored navedenog, Cr6+ je mutagen, može ispoljiti toksično dejstvo na plod, s obzirom na činjenicu da prolazi kroz placentu (Frag i dr., 2006). Hrom u vodenoj sredini, dovodi do ispoljavanja širokog opsega štetnih efekata kod vodenih organizama. Kod riba je uočen smanjen rast, hromozomske aberacije, smanjena otpornost na bolesti, kao i morfološke promjene (Chen i dr., 2015). IARC svrstava Cr6+ u prvu grupu kancerogena, a metalni Cr i Cr3+ nisu klasifikovani kao agensi sa kancerogenim dejstvom na ljude (IARC, 2018). Agencije za toksične supstance i registar bolesti (engl. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, ATSDR) klasifikuje Cr6+ unutar Liste prioriternih supstanci na 17. mjestu (ATSDR, 2017). Sa druge strane, JECFA ne definiše Cr kao zagađujuću supstancu u hrani (JECFA, 2019).

### 2.1.7 Olovo (Pb)

Olovo je teški metal plavkastosive boje, u prirodi se obično javlja u neorganskom obliku (ATSDR, 2005). Olovo gradi jedinjenja u kojima ima oksidacione brojeve +2 i +4. Rijetko se nalazi u prirodi u čistom obliku, njegovi najpoznatiji minerali su galenit (PbS) i anglezit (PbSO4) (Tchounwou i dr., 2012). Najznačajniji izvori kontaminacije životne sredine olovom su: industrija 19 čelika i gvožđa, proizvodnja olova, tekstilna industrija, industrija proizvodnje akumulatora, olovni aditivi benzina (tetraetilolovo), olovne boje, insekticidi pravljani na bazi olovoarsenata i dr. (EFSA, 2013). Olovo i jedinjenja olova su vrlo toksična i predstavljaju veliku prijetnju po zdravlje životinja i čovjeka a lako prodiru u organizam udisanjem aerosola,

te unošenjem kontaminirane hrane i vode. Olovo je kumulativan toksikant i unijeto u organizam ima štetne efekte na nervni sistem, reproduktivni sistem i sistem urinarnog trakta (UNEP, 2010). Organoolovna jedinjenja toksičnija su od neorganskih jedinjenja olova. Olovo oštećuje razna tkiva i smatra se sistemskim otrovom. Olovo najčešće potiskuje druge metale iz raznih metaloenzima, dovodeći do njihove inhibicije. Olovo može da zamjeni kalcijum, čime se blokira transport kalcijuma (ATSDR, 2007; Milanov, 2014). Takođe, Pb može da izazove niz negativnih efekata, poput: hipertenzije, oštećenja bubrega, anemije, negativne efekte na plodnost kao i oštećenje DNK lanca (Copat i dr., 2015). Pri niskom pH vrijednostima, povećanoj tvrdoći vode, kao i povećanom sadržaju organske materije, Pb u akvatičnim sredinama postaje dostupnije. U akvatičnim sredinama, olovo se primarno vezuje za sediment. Negativnom dejstvu olova u akvatičnim ekosistemima najviše su izložene: alge, beskičmenjaci bentosa, embrioni, mlađ riba, kao i vodozemci. Mišićna i neurološka degeneracija i destrukcija, inhibicija rasta, smrtnost, reproduktivni problemi i paraliza su samo neki od negativnih efekata visokih koncentracija olova na ribe (Dalmacija i Agbaba, 2008). Prema ATSDR, olovo se nalazi na drugom mjestu Liste prioritetnih supstanci (ATSDR, 2017). Prema IARC, organska jedinjenja olova nisu klasifikovana kao kancerogena za ljude (3A), dok neorganska jedinjenja olova pripadaju grupi vjerovatno kancerogenih agenasa za ljude (2A) (IARC, 2006).

2.1.8 Kadmijum (Cd) Kadmijum je mekan, srebrno-bijel, elastičan i rastegljiv metal, prilično stabilan na sobnoj temperaturi. U prirodi se javlja u rudama cinka, bakra i olova, rijetko se može naći u elementarnom stanju (Valko i dr., 2005). Nema esencijalne biološke funkcije ni za jedan organizam. Najveći broj jedinjenja Cd pripada stepenu oksidacije +2 (Chen i dr., 2015). Najčešće prirodne emisije kadmijuma u životnoj sredini su: vulkanske erupcije, šumski požari i formiranje aerosola morske soli. Sa druge strane, glavni antropogeni izvori kadmijuma su: prerada obojenih metala, proizvodnja i primjena fosfatnih đubriva, sagorijevanje fosilnih goriva, odlaganje otpada, proizvodnja alkalnih baterija, akumulatora, plastike, stakla, pigmenata, raznih legura i dr. (UNEP, 2010). Bilo da su u obliku dima, prašine ili rastvora, sva jedinjenja kadmijuma su toksična (ATSDR, 2008). Kadmijum je toksičan sa višestrukim štetnim zdravstvenim efektima nakon dugotrajnog oralnog izlaganja, uključujući disfunkciju bubrega, jetre, oštećenje kostiju, mozga, srca i centralnog nervnog sistema (ATSDR, 2008; Copat i dr., 2015). Kadmijum je karcinogen i najčešće je povezan sa kancerom bubrega, pluća, prostate i pankreasa. Unos kadmijuma kod ljudi i životinja uslovljen je mehanizmom transporta kalcijuma i gvožđa, gdje on zamjenjuje ove elemente i biva pogrešno identifikovan kao esencijalni element (Yu i dr., 2017). Prva karika uključivanja kadmijuma u vodeni lanac ishrane su obično plavozelene alge, zatim vodeni organizmi putem kojih dospjevaju i u organizam čovjeka (Jovanović, 2015). S obzirom da morski organizmi mogu da akumuliraju kadmijum, osobe koje često konzumiraju hranu iz mora predstavljaju rizičnu grupu. Kadmijum se na Listi prioritetnih supstanci ATSDR nalazi na sedmom mjestu, a od strane IARC svrstan je u prvu grupu kancerogena (ATSDR, 2017; IARC, 2018).

2.1.9 Arsen (As) Arsen pripada metaloidima, svijetlo sive je boje sa metalnim sjajem. U elementarnom stanju je slabo toksičan, međutim njegova jedinjenja kao što su arsen(III) oksid, arseniti i arsenati su vrlo toksični. Postoji u tri alotropske modifikacije: sivi, žuti i crni arsen. Arsen se javlja u više oksidacionih stanja, ali +3 i +5 su najčešći oblici u prirodi. U biosferi je prisutan u organskoj i neorganskoj formi, a nalazi se u atmosferi, zemljištu, stjenama, prirodnim vodama i organizmima (Tchounwou i dr., 2012). Antropogeni izvori arsena u životnoj sredini su: termoelektrane na čvrsto gorivo (mrki ugalj), topionice bakra, sagorijevanje drveta, ulja, gradski otpad, proizvodnja pamuka i dr. (Goyer i Clarksom, 2001). Upotreba jedinjenja arsena kao herbicida, pesticida i fungicida su dodatni izvori zagađenja životne sredine ovim metaloidom (Teodorović i Dimitrijević, 2011). Opšta izloženost stanovništva arsenu uglavnom je putem hrane i vode za piće. Akutno trovanje je uglavnom akcidentalnog tipa, a može da bude letalno i traje od nekoliko sekundi pa do par sati (ATSDR, 2003). Oralna izloženost As uključuje široku grupu zdravstvenih poremećaja: mučnine, povraćanja, abdominalnih bolova, dijareje, groznice, poremećaja

centralnog nervnog sistema, što se može završiti letalnim ishodom (Copat i dr., 2015). Hronično dejstvo arsena nastaje nakon izloženosti koje traje duži vremenski period, od nekoliko dana, pa do više godina, ili pak u više navrata. Podaci ukazuju da se u ribama, školjkama i drugim morskim plodovima akumuliraju visoke koncentracije arsena, a najveći sadržaj ovog elementa nalazi se u mišićnom tkivu (Falco i dr., 2006; Uneyama i dr., 2007; Višnjic?Jeftić i dr., 2010). Arsen se nalazi na prvom mjestu Liste prioritetnih supstanci ATSDR (ATSDR, 2017). Po klasifikaciji IARC As pripada prvoj grupi kancerogena, dok se organska jedinjenja arsena ne mogu klasifikovati u pogledu kancerogenog dejstva na ljude (grupa 3) (IARC, 2018). JECFA definiše As kao zagađujuću supstancu u hrani (JECFA, 2019).

### 2.1.10 Živa (Hg)

Živa je srebrnastobijeli metal, koji se na sobnoj temperaturi nalazi u tečnom stanju. U prirodi se rijetko nalazi u elementarnom stanju, mnogo češće je vezana u obliku minerala. Zagađenje životne sredine ovim metalom nastaje njegovom emisijom kako prirodnim procesima tako i iz antropogenih izvora. Najvažniji antropogeni izvori žive u životnoj sredini su: urbana i industrijska pražnjenja, poljoprivredni materijali, rudarstvo, kao i sagorijevanje fosilnih goriva (Zhang i Wong, 2007). Živa se javlja u tri različita oblika (Barbosa i dr., 2001) koji podrazumjevaju elementarnu živu, živu koja ulazi u sastav neorganskih jedinjenja kao i organski vezanu živu. U parnoj fazi u atmosferi najzastupljeniji oblik žive je njen elementarni oblik ( $Hg_0$ ) sa 98%, dok je metil?živa ( $CH_3Hg$ ) u pogledu toksičnosti najvažniji oblik ovog elementa (Goyer i Clarksom, 2001; ATSDR, 2003). Metil?živa nastaje u vodenoj sredini i akumulira se kroz lanac ishrane (JECFA, 2017). U organizam čovjeka živa dopjeva najčešće na dva načina: konzumiranjem ribe ili oslobađanjem elementarne žive iz dentalnog amalgama (ATSDR, 2003). Živa je jedan od najtoksičnijih metala u životnoj sredini, a odnosi se na: litosferu, hidrosferu, atmosferu i biosferu. Efekti trovanja živom zavise od više faktora: prirode jedinjenja, mjesta i načina ulaska u organizam, količine i dužine izloženosti (Velev i dr., 2009). Organizam brzo apsorbuje živu i skladišti je u jetri, bubrezima, slezini, kostima, zidovima tankog crijeva, mišićima, srcu i plućima, a prodire i u centralni nervni sistem gdje se deponuje u svojoj moždanoj masi (Mumtaz, 2002). Gutanje ili udisanje visokih koncentracija žive može dovesti i do smrti (UNEP, 2011, Rice i dr., 2014). Pored bioakumulacije, evidentna je i biomagnifikacija žive. U vodenim ekosistemima živa je u većoj mjeri prisutna u ribama, i to najčešće kao metil?živa (Merritt i Amirbahman, 2009; Ersoy i Celik, 2010). Prisustvo bilo kog oblika ovog metala u ribama predstavlja potencijalnu opasnost po zdravlje ljudi. Bioakumulacija metil?žive u ribama zavisi od trofičnog nivoa, i u pozitivnoj je korelaciji sa starošću ribe (Zhang i Wong, 2007). Trovanje živom, usled konzumiranja morskih plodova zagađenih metil?živom, zabilježeno je u Japanu 1950. godine, pri čemu su identifikovana nepovratna neurološka oštećenja i teratogeni efekti na ljude (Leonard i dr., 1983; De Flora i dr., 1994). Živa se nalazi na trećem mjestu Liste prioritetnih supstanci ATSDR (ATSDR, 2017), dok prema klasifikaciji Međunarodne agencije za istraživanje karcinoma, metil?živa pripada grupi mogućih kancerogenih agenasa (2B) (IARC, 2018).

### 2.2 Porijeklo i toksičnost teških metala

Metali su prirodni sastojci Zemljine kore, a u životnu sredinu uglavnom dopijevaju kao posledica procesa raspadanja stijena i minerala, spiranjem zemljišta, vulkanskih procesa, požara, nanosima vjetra i morskih struja, klimatskih faktora, temperaturnih promjena, atmosferske vode itd., (Fernandez i Olalla, 2000). Elementi poput Al, Fe, Mn i dr. su prisutni u većim koncentracijama u zemljištu, stijenama i vodi, nasuprot elementima Cd, Cu, Zn, Ni i Pb čija je koncentracija u zemljištu, stijenama i vodi niža (Perošević?Bajčeta, 2020). Intenzivna aktivnost urbane populacije dovela je do značajnog zagađenja životne sredine metalima što izaziva zabrinutost kako sa ekotoksikološke tačke gledišta, tako i sa aspekta ljudskog zdravlja (Tchounwou i dr., 2012; Salem i dr., 2014). Metali unijeti u životnu sredinu kao posledica različitih antropogenih aktivnosti, direktno ili indirektno, kroz vazduh, vodu, zemljište dopijevaju i u ljudski organizam (Perošević?Bajčeta, 2020). Najčešći antropogeni emiteri teških metala u životnu sredinu su: rudnici, topionice, livnice, procesi obrade metala, sagorijevanje fosilnih goriva, nuklearne elektrane, fabrike za proizvodnju plastike, celuloze, papira, tekstila, saobraćaj, otpadne komunalne i industrijske vode, pesticide itd. (Tchounwou i dr.,



2012). Teški metali nisu biorazgradivi, a ne mogu se ukloniti ni procesom sagorijevanja. Toksičnost i postojanost teških metala u prirodi izaziva veliku zabrinutost. Takođe, mogu se akumulirati kako u živom tako i u neživom svijetu. Štetno dejstvo teških metala i metaloida ispoljava se na cijeli ekosistem. Toksikokinetika metala nije dovoljno istražena, jer u organizam mogu dospjeti u elementarnom stanju, u obliku soli ili kao organometalna jedinjenja, pri čemu procesi apsorpcije, raspodjele, deponovanja i eliminacije zavise upravo od oblika u kom se metal nalazi (Plavšić i Žuntar, 2006). Nakon apsorpcije, metali se vezuju za vitalne komponente ćelije, kao što su strukturni proteini, enzimi i nukleinske kiseline, pri čemu utiču na njeno funkcionisanje (Sharma, 2014). Dejstvo teških metala na ljudski organizam može biti embriogeno, mutageno, teratogeno i kancerogeno, a moguće su i naknadne reakcije između pojedinih, inače, samih po sebi bezopasnih metala (sinergizam). Teški metali dopijevaju u organizam čovjeka, ingestijom, inhalacijom i preko kože. Svoju toksičnost teški metali ispoljavaju kroz sledeće mehanizme: ? blokiranje osnovnih bioloških funkcionalnih grupa biomolekula (npr. proteina i enzima); ? izmještanje esencijalnih metalnih jona kod biomolekula i ? modifikovanje aktivnih formi biomolekula (Tchounwou i dr., 2012; Stanković i dr., 2014). Teški metali se sve više izučavaju u okviru viših naučnih disciplina, a posebno u toksikologiji i epidemiologiji, budući da se nalaze u životnoj sredini i imaju značajan uticaj. Neželjeni efekti teških metala mogu biti trenutni, mada mnogo češće su kumulativni, a posledice njihovog dejstva mogu biti trajne i značajne (Tchounwou i dr., 2012). Na toksičnost teških metala u vodi, pored geohemijskog ponašanja i fiziologije posmatrane vrste živog organizma, utiču i brojni drugi faktori, poput: ? parametara

**vode (temperatura, pH, salinitet, rastvoreni kiseonik , organska materija) koji uslovljavaju fiziološku aktivnost i metabolizam vodenog ekosistema; ? oblika metala u morskoj vodi**

7

(organski/neorganski oblik, valentno stanje,

**slobodni joni/čestice ); ? prisustva drugih elemenata (fenomen sinergizma/antagonizma ); ? osjetljivosti organizama (starost individue , pol, dostupnosti hrane , ciklus reprodukcije itd .); ? postojanja detoksifikacionih mehanizama ? adaptacija organizma na prisustvo toksina**

7

(Gheorghe i dr., 2017). 2.4 Negativni uticaj povišenih koncentracija metala u životnoj sredini je dodatno pojačan nemogućnošću razgradnje metala, što za posledicu ima bioakumulaciju, biokoncentraciju i biomagnifikaciju pojedinih metala (Ciesielski i dr., 2010). 2.3 Teški metali u morskim ekosistemima U morskoj sredini metali su prirodno zastupljeni u nižim koncentracijama. Prirodni izvori teških metala u morskoj vodi potiču od: spiranja zemljišta, raspadanja stijena, aerosola vulkanskog porijekla, prašine nošene vjetrom iz sušnih krajeva, kondezovanih prirodnih gasova, kao i od specifičnog sastava čestica morskih soli (Gedik i Ozturk, 2018).

**Eksploatacija rude, nafte i gasa u blizini obale, njihova prerada i sagorijevanje, balastne vode sa brodova, industrijske otpadne vode**

1

**komunalni i poljoprivredni otpad, kao i deponovanje ili ispuštanje materijala na bazi metala u životnu sredinu**

1

, turističke i rekreativne aktivnosti u ljetnjim mjesecima, samo su neki od antropogenih izvora teških metala u morskom ekosistemu (Perošević?Bajčeta, 2020). Teški metali se smatraju glavnim zagađujućim supstancama antropogenog porijekla u morskoj sredini (Krishnakumar i dr., 2018). Zagađenje morske sredine teškim metalima je višedecenijski problem, pa je njihovo određivanje predmet istraživanja mnogih naučnika (Zhuang i Gao, 2014; Makedonski

**i dr., 2015** , Tan **i dr., 2016** ; Ubeid **i dr.** , 2018; **Chen i dr**

18

., 2018; Savitha, 2018). Prisustvo teških metala u morskim ekosistemima iznad MDK direktno ugrožava život biljaka, životinja pa i ljudi. Određivanje sadržaja teških metala u vodi, sedimentu i živim organizmima je veoma važno i obavezni su parametri koji se određuju monitoringom (Lacatusu i dr., 2009; Ozturk i dr., 2009; Ahmad i Sarah, 2015).

**Problem zagađenja morske sredine metalima prepoznat je i od strane**

1

Evropske komisije. Okvirna direktiva o morskoj strategiji (MSFD)

**navodi da zagađujuće supstance, uključujući i teške metale, moraju biti na nivou koji ne izaziva efekte zagađenja u moru**

1

(MSFD, 2008/56/EC).

**Koncentracije ovih supstanci ne smiju prelaziti** pravilnikom **utvrđene granične vrijednosti u** ribama **i ostalim plodovima mora koji se** koriste **u ljudskoj ishrani**

1

, zbog čega je redovna kontrola njihove koncentracije od izuzetnog značaja (EC, 2008). 2.3.1 Teški metali u sedimentima  
Teški metali u morskoj vodi imaju tendenciju da budu ugrađeni (istaloženi) u sedimente. Sedimenti predstavljaju primarnu sredinu akumulacije teških metala nakon nekoliko procesa kao što su: adsorpcija, padavine, procesi difuzije, hemijske reakcije, biološka aktivnost i kombinacija navedenih pojava (Tan i dr., 2016), ali i potencijalni sekundarni izvor teških metala (Chen i dr., 2018). U morskoj vodi, sediment može djelovati kao izvor metala kad god se promijene prirodni i geohemijski uslovi u kontaktnom sloju sediment?morska voda, tako da teški metali iz sedimenta mogu biti direktno dostupni morskim organizmima (Batayneh i dr., 2015). Istraživanja pokazuju da su

**koncentracije metala u sedimentu znatno više nego u vodenom stubu**

1

(Perošević?Bajčeta, 2020). Raspodjela teških metala u sedimentu daje uvid o antropogenom uticaju na morski ekosistem (Ghani, 2015). Zagađenje sedimenta teškim metalima može uticati na kvalitet vode i bioakumulaciju metala u vodenim organizmima, što rezultira potencijalnim dugoročnim implikacijama na ljudsko zdravlje i ekosistem (Olusola i Festus, 2015). Prisustvo ispitivanih elemenata u sedimentima zavisi od lokacije, fizičkih, hemijskih, i bioloških karakteristika, kao i od uticaja antropogenih aktivnosti (Salem i dr., 2014). Priobalna područja, naročito luke i brodogradilišta, koji kontinuirano emituju teške metale,

**imaju visoko kontaminirane sedimente, što predstavlja opasnost za živi svijet u toj oblasti**

1

(Perošević?Bajčeta, 2020). Na koncentraciju i distribuciju teških metala u morskom sedimentu utiče više faktora: granulometrijski i mineraloški sastav, hidrodinamički transporti, industrijska ispuštanja, otpadne vode i brodske aktivnosti (Joksimović i dr., 2019). Veoma važan faktor prilikom praćenja zagađenja morskog sedimenta metalima je njegov granulometrijski sastav jer su teški metali najčešće vezani za manju frakciju sedimenta poput čestica gline i mulja, prečnika < 63 µm (Mali i dr., 2017). Prostorni raspored teških metala u morskom sedimentu je od velike važnosti za određivanje istorije zagađenja vodenog okruženja, a takođe pruža osnovne informacije za identifikovanje mogućih izvora zagađenja i prikaz područja gdje koncentracije metala prelazi propisane granične vrijednosti (Savitha i dr, 2018). Budući da sedimenti odražavaju dugoročni kvalitet morskih sistema,

**procjena kvaliteta i praćenje zagađenja sedimenta sprovode se u cilju određivanja u kojoj mjeri je sediment rezervoar i sekundarni izvor zagađujućih supstanci**

1

na osnovu deponovane količine istraživanih metala u uzorcima sedimenta (Joksimović, 2012; Perošević?Bajčeta, 2020).  
2.3.2 Teški metali u ribama Bioindikator i imaju važnu ulogu u procjeni bioraspodjelivosti teških metala u morskom ekosistemu. Bioakumulacija teških metala u

**tkivima morskih organizama je indirektan pokazatelj zastupljenosti i dostupnosti elemenata u morskoj sredini**

1

. Teški metali u morskim ekosistemima mogu biti akumulirani od strane vodenih organizama kao što su ribe i mogu predstavljati potencijalni rizik za zdravlje ekosistema. Ribe akumuliraju teške metale preko hrane, vode i sedimenta (Tas i dr., 2011). Sadržaj teških metala u ribama negativno utiče na njihov metabolizam, osnovne biološke procese, reprodukciju i povećava procenat uginuća i stvaranja deformiteta. Prirodno stanište riba utiče na koncentraciju metala u njihovim tkivima. Toksično dejstvo metala je posebno izraženo u ranim fazama razvoja ribe i negativno utiče na različite

metaboličke procese u razvoju ribe (naročito embriona), što rezultira razvojem retardacija, morfološke i funkcionalne deformacije ili smrt najosetljivijih jedinki (Ibrahim i dr., 2013). Osim staništa, ishrana je jednako važan i odlučujući faktor za akumulaciju metala i samim tim za prisustvo metala u tkivima riba. Koncentracija teških metala raste sa porastom nivoa u lancu ishrane, biomagnifikacija, što je dokazano za Hg (Renieri i dr., 2014). Predatori koji su visoko pozicionirani u lancu ishrane

**poput ajkule, sabljarke i tune imaju** veće **koncentracije ovog toksičnog elementa** . Teški metali 1  
akumulirani **u**

ribama mogu narušiti korisne nutritivne vrijednosti ribe, a preko prehrambenog lanca dopijevaju i do čovjeka što može dovesti do zdravstvenih rizika. Zbog svega navedenog, određivanje koncentracije teških metala u morskim organizmima i procjena potencijalnog uticaja na zdravlje čovjeka je veoma važan aspekt (Copat i dr., 2012; Bat i dr., 2015; Mehoul i dr., 2019). U cilju zaštite zdravlja potrošača, koncentracija teških metala u ribi i drugim morskim proizvodima je ograničena pravilnicima u većini zemalja u svijetu. Kako bi se utvrdilo da li je meso ispitivanih vrsta bezbijedno za upotrebu u ljudskoj ishrani, koncentracije teških metala u uzorcima mišićnog tkiva riba se porede sa MDK u ribljem mesu za primjenu u ljudskoj ishrani, ustanovljenim od strane Evropske unije (EU) i nacionalnog zakonodavstva.

**Svjetska zdravstvena organizacija (WHO** , 2008) **i Svjetska organizacija za hranu i poljoprivredu** 37  
**(FAO**

, 2014)

**definišu obavezan monitoring za osam elemenata** u ribama, **i to za: Hg, Cd, Pb, As, Cu, Zn, Fe i** 2  
**Sn, a monitoring** program **se preporučuje** i **za Mn i Cr**

. Generalno, nivo akumulacije teških metala u ribama zavisi od načina unosa (putem škrge?respiracija, adsorpcijom površinom tijela i preko digestivnog sistema), perioda izlaganja, metabolizacije i mehanizama eliminacije. Ovi procesi su obično povezani sa faktorima sredine (npr. sa vodom, temperaturom, pH vrijednošću, gustinom, salinitetom), ali i sa starošću, veličinom, metabolizmom organizama, navikama hranjenja, trofičkom položaju, geografskom porijeklu i godišnjem dobu (Dvorak i dr., 2014; Onen i dr., 2015). Toksičnost teških metala u

**velikoj mjeri zavisi** i **od prisustva drugih elemenata koji mogu djelovati antagonistički ili** 1  
**sinergetski, kao i od adaptacije organizma na apsorpciju elemenata u tragovima**

, što ne znači da su ti morski organizmi bezbjedni za ljudsku ishranu (Stanković i dr., 2012; Perošević?Bajčeta, 2020). Teški metali u morskim ekosistemima mogu prouzrokovati smanjenje raznolikosti i brojnosti morskih vrsta. Rizik koji se prenosi na ljude, u smislu toksičnosti teških metala, je utvrđen analizom koncentracija metala u najčešće korištenim vrstama visoke ekonomske vrijednosti (Erkan i dr., 2009). Kako su ribe najbolji predatori u vodenom lancu ishrane često se prepoznaju kao dobri indikatori za dugotrajni monitoring akumulacije metala u morskoj sredini (Olusola i Festus, 2015).

#### 2.4 Teški metali, pregled dosadašnjih istraživanja

Teški metali su identifikovani u svim segmentima morske sredine širom svijeta: u vodi, u sedimentima, u živim organizmima kao što su školjke, ribe, morske trave, alge i dr. U ovom dijelu dat je pregled dosadašnjih istraživanja o prisustvu i koncentraciji teških metala u uzorcima površinskog sedimenta i ribe (sa akcentom na barbun i oslić) na području Jadranskog i Sredozemnog mora. Intenzivnija ispitivanja koncentracije teških metala u sedimentu crnogorskog primorja, a naročito Bokokotorskog zaliva započela su krajem dvadesetog vijeka (Mihailović i Joksimović, 2002). Rezultati tih ispitivanja pokazala su da su značajne količine teških metala prisutne u sedimentu Bokokotorskog zaliva najčešće kao posljedica antropogenih aktivnosti. Na osnovu rezultata dobijenih iz novijih studija, koncentracije teških metala u sedimentu crnogorskog primorja znatno variraju od mjesta uzorkovanja (Joksimović i Stanković, 2012; Stanković i dr., 2015; Joksimović i dr., 2016). Joksimović i dr. (2019) su u radu predstavili koncentracije teških metala (

**Cu, Ni, Fe, Mn, Cr, As, Pb, Zn, Cd i Hg ) u 55**

17

uzoraka sedimenta, prikupljenih sa 11 lokacija duž crnogorskog primorja u periodu od deset istraživačkih godina (2005–2016). Joksimović i dr. (2019) navode da su prosječne koncentracije Fe, As, Cu, Cd, Hg, Pb i Zn u površinskim sedimentima crnogorskog primorja bile veće u poređenju sa površinskim sedimentima južnog Jadrana, dok su koncentracije Mn, Cr i Ni bile slične ili čak niže od prosječnih koncentracija u površinskim sedimentima Južnog i Srednjeg Jadrana (Dolenc i dr., 1998). Osim maksimalnih koncentracija pojedinih elemenata, specifičnih za jedan ili dva uzoraka, ostali rezultati su bili u istom opsegu kao i rezultati dobijeni za različite djelove Jadrana (Dolenc i dr., 1998; Joksimović i dr., 2019). U prosjeku su koncentracije većine ispitivanih teških metala u sedimentu Bokokotorskog zaliva bile su veće u poređenju sa nekim lokacijama na otvorenom djelu crnogorskog primorja, mada su postojale i ekstremne vrijednosti zabilježene na lokacijama izvan zaliva (Joksimović i dr., 2019). Generalno, podaci vezani za istraživanje sadržaja teških metala u sedimentu na crnogorskom primorju, ukazuju da su veće koncentracije metala prisutne u blizini urbanih područja, luka i marina tj. snažnih antropogenih uticaja (Joksimović i dr., 2016). Takođe, geografski položaj, meteorološke karakteristike imaju značajan uticaj na raspodjelu i zadržavanje zagađivača u sedimentu. U Sloveniji su vršena ispitivanja koncentracije teških metala u površinskom sedimentu kao i potencijalni rizici po životnu sredinu u priobalnom području Luke Kopar i Marine Portorož (Ščančar i dr., 2007; Šmuc i dr., 2018). Ščančar i dr. (2007) naglašavaju da na stepen zagađenja slovenačkog priobalja značajno utiču industrijske i turističke aktivnosti, kao i da su koncentracije teških metala u sedimentu sa područja Marine Portorož uporedivi sa literaturnim podacima iz regiona. Šmuc i dr. (2018) zaključuju da su ispitivani sedimenti na području Luke Kopar manje obogaćeni As, Cd, Cu, Mo, Pn, Sb i Zn i umjereno do visoko obogaćeni sa Ni, kao i da ukupne koncentracije teških metala u sedimentu nisu pokazale rizak po životnu sredinu, ali se sugerše kontinuiran monitoring. Cukrov i dr. (2011, 2014) su ispitivali koncentracije metala u sedimentima Riječke Luke i Bakarskog zaliva u probalnom dijelu Hrvatske. U obje studije, Cukrov i dr. (2011, 2014) navode da je Hg bila element sa najvišom prosječnom koncentracijom u ispitivanom sedimentu, dok su prosječne

koncentracije ostalih ispitivanih metala bile slične sa literaturnim podacima iz regiona. Cukrov i dr. (2011) ukazuju da su antropogeni faktori povezani sa lučkim aktivnostima i dijelom sa rafinerijom nafte odgovorni za navedeno stanje, pa se preporučuju dalja praćenje stanja sedimenta u Riječkoj Luci. Međutim, studija koja se sprovodila na području Bakarskog zaliva pokazuje da je Bakarski zaliv znatno manje zagađen toksičnim metalima nego što se očekivalo (Cukrov i dr., 2014). U priobalnom dijelu Hrvatske, Zmajevo uho, zaliv Soline izmjerene su koncentracije teških metala u sedimentu, pri čemu je istražen lokalitet definisan kao nezagađeno područje na osnovu svih koncentracija ispitivanih metala u sedimentu, osim olova (Kljaković-Gašpić i dr., 2009). Koncentracije teških metala ispitivane su i u priobalnom sedimentu Italije, u Tršćanskom zalivu i u Luci Torre a Mare (Acquavita i dr., 2010; Mali i dr., 2018). U Luci Torre a Mare koncentracije As, Ni, Pb i Cu su prelazile vrijednosti MDK (Mali i dr., 2018). Mali i dr. (2018) navode da je luka Torre a Mare zbog svog položaja, geografskih i morfoloških karakteristika, a najviše antropogenih aktivnosti sklona akumulaciji velikog nivoa zagađivača. Procjena zagađenja sedimenta teškim metalima vršena je na području Albanske obale, zalivu Vlora i Drač (Albanija) (Lazo i dr., 2003; Rivaró i dr., 2004, 2011). Rivaró i dr. (2004) ukazuju na značajan uticaj riječnih unosa na raspodjelu i koncentraciju proučavanih metala u primorskim sedimentima Albanije. Takođe, raspodijela metala u sedimentu je pokazala veliku zavisnost od frakcije sedimenta. Visoke vrijednosti koncentracije Cr i Ni pronađene u sedimentima su posledica geološkog sastava hidrografskih slivova Albanije, ali ne treba zanemariti i doprinos ispuštanja iz rudarske industrije (Rivaró i dr., 2004). Dok u zalivu Vlora, na osnovu dobijenih rezultata se zaključuje da ispitivani sediment spada u definisane kategorije kao nezagađen do umjereno zagađen za gotovo sve metale, sa izuzetkom As i Hg (Rivaró i dr., 2011). Lazo i dr. (2003) navode da industrijske djelatnosti, poput rudarstva, skladišta i aktivnosti hemijskih postrojenja utiču na povišene koncentraciju šestovalentnog Cr u sedimentima. Tako u sedimentima Dračkog zaliva, u blizini bivše hemijske fabrike, zabilježene su najveće koncentracije Cr, čak i do 550 mg/kg. Autori navode da se sedimenti albanske obale odlikuju veoma visokim koncentracijama Cr i Ni i vrlo niskim koncentracijama Zn u poređenju sa sedimentima iz drugih područja Jadranskog mora (Lazo i dr., 2003). Istraživanja o prisustvu teških metala u ribama na području crnogorskog primorja započeta su poslednjih godina. Na lokalitetima u okolini Bara analizirano je sedam vrsta riba (od kojih i oslić) na prisustvo olova. Olovo je identifikovano u svim uzorcima ispitivanih vrsta, a koncentracije su bile blizu ili iznad MDK definisanih u Službenom listu Crne Gore 81/2009 i 55/2015 (Kragulj i dr., 2018). Antović i dr. (2019) su ispitivali koncentraciju Pb, Cd, Cu, Fe, Mn, Ni, Cr i Zn u mišićnom tkivu oslića duž crnogorskog primorja, pri čemu su koncentracije ispitivanih teških metala bile manje ili slične u poređenju sa rezultatima iz centralnog i južnog Jadrana i ispod MDK definisanih Nacionalnim propisima Crne Gore (Antović i dr., 2019). Bilandžić i dr. (2011) ispitivali su koncentracije teških metala u mišićnom tkivu barbuna, sa hrvatskog primorja, pri čemu su koncentracije ispitivanih elemenata, osim As, bile ispod utvrđenih vrednosti propisima Evropske zajednice. Autori zaključuju da učestala konzumacija ribe, usled povećane koncentracija As u ribi, može predstavljati rizik po zdravlja ljudi (Bilandžić i dr., 2011). Kljaković i dr. (2002) i Brkić i dr. (2017) navode da su koncentracije teških metala u ispitivanim vrstama riba bile niže od većine vrijednosti prethodno prijavljenih na području Sredozemnog mora, pa samim tim ukazuju da hrvatsko primorje nije opterećeno teškim metalima i da je meso ribe bezbijedno za ljudsku ishranu. Vršena su brojna ispitivanja teških metala u mišićnom tkivu riba na području Italije (Storelli i dr., 2005, 2009; Storelli i Barone, 2013; Perugini i dr., 2013; Copat i dr., 2018). Storelli i dr. (2005) navode da su veće koncentracije Hg zabilježene u uzorcima riba iz Jadranskog mora u odnosu na uzorke riba iz Sredozemnog mora. Takođe, zabilježeno je da bentosne ribe akumuliraju veće koncentracije metala u odnosu na pelagične ribe (Storelli i dr., 2005). Takođe, Storelli i dr. (2009) su ispitivali koncentracije različitih metala u mišićnom tkivu barbuna i oslića ulovljenim na području Jadranskog mora u cilju procjene sigurnosti riba kao prehrambenih proizvoda. Kako koncentracije ispitivanih metala u

barbunu i osliću nisu prelazile MDK, smatraju se bezbjednom hranom za ljude (Storelli i dr., 2009). Storelli i Barone (2013) i Parugini i dr. (2013) navode da su sa stanovišta javnog zdravlja koncentracije Hg i Cd u većini uzoraka prelazile MDK naznačene evropskom uredbom što može prouzrokovati zdravstvene rizike ljudske populacije. Najveće koncentracije As zabilježene su u uzorcima barbuna sa područja Sredozemnog mora, Italija, pri čemu je srednja vrijednost As u mišićnom tkivu barbuna iznosila 59.91 mg/kg (Parugini i dr., 2013). Nešto veće koncentracije As i Cr, u odnosu na mediteranski region, su zabilježene u mišićnom tkivu barbuna sa područja Italije, Sredozemno more (Copat i dr., 2018), dok su u mišićnom tkivu oslića zabilježene niske koncentracije svih ispitivanih elemenata (Salvaggio i dr., 2020). Koncentracije teških metala u komercijalno važnim vrstama riba na mediteranskom području ispitivane su u: Španiji (Martínez-Gómez i dr., 2012), Libiji (Al-Kazaghly i dr., 2021), Turskoj (Uluozlu

i dr., 2007 ; Turan i dr., 2008 ; Tas i dr., 2011 ; Kulcu i dr., 2014 ; Bat i dr., 2015; Olgunoğlu i dr., 2015 ), Algeriji (Alik i

19

dr., 2021) i dr. Koliki je značaj ispitivanja koncentracija teških metala u biotičkim i abiotičkim medijumima u morskim ekosistemima, pokazuje i veliki broj međunarodnih projekata koji se bave ovom problematikom. Glavni cilj svih projekata nije samo dobiti rezultate i međusobno ih porediti, već je glavni cilj imati jedinstveni protokol za praćenje određenih parametara. Među važnijim projektima koji su se bavili ovom problematikom je projekat HarmoNIA (Interreg V?B Adriatic?Ionian (ADRION), 2018–2020 koji je imao za cilj uspostavljanje zajedničkog protokola za praćenje zagađivača morske vode, sedimenta i biote od strane šest zemalja duž Jadranskog i Jonskog mora (Italija, Slovenija, Hrvatska, Crna Gora, Albanija i Grčka). Među raznim zagađivačima koji su prisutni u morskoj sredini, u ovom istraživanju su odabrani teški metali i mikroplastika, s obzirom da predstavljaju grupu zagađivača od posebnog značaja u životnoj sredini. Cilj ovog projekta je bio da predloži usaglašenu metodologiju za postupke uzorkovanja, karakterizacije matrice, postupke čuvanja uzoraka, analitičke metode i ograničenje izvedenih vrijednosti kvantifikacije za odabrane metale na osnovu podataka koje pružaju laboratorije, osiguravajući usklađenost sa zakonodavstvom EU i odlukama koje su usvojile države Barsebonske konvencije (Berto i dr., 2020). Dobijeni rezultati o sadržaju teških metala u sedimentu i komercijalno važnim vrstama riba na crnogorskom primorju će dati značajan doprinos o izvorima ispitivanih metala, njihovoj distribuciji, akumulaciji i potencijalnim zdravstvenim uticajima. Dobijeni rezultati će se porediti sa dostupnim literaturnim podacima iz zemlje i regiona, sa propisanim zakonskim regulativama u cilju procjene ekološkog stanja mora.

### 3. PLASTIKA I MIKROPLASTIKA

#### 3.1 Osnovne karakteristike plastike

Termin „plastika“ izveden je iz latinskog jezika „plasticus“ i starogrčkog jezika „πλαστικός“ (plastikos), što znači sposoban za oblikovanje. U novije doba, plastični materijali su često definisani na osnovu njihovih fizičkih svojstava (Thompson i dr., 2009). Svjetska proizvodnja plastike doživjela je ekspanzionalni rast početkom 1950-ih godina (Plastics Europe, 2018). Plastični materijali su često definisani na osnovu njihovih svojstava: lagana, otporna na mehaničke, hemijske i biološke napore, izdržljivi, sa dobrim svojstvima toplotne i električne izolacije, jednostavni za obradu, jeftini što ih čini nezamjenljivim i najkorišćenijim materijalima (Thompson i dr., 2009). Plastika je termin koji se koristi za opisivanje niza sintetičkih organskih polimernih materijala koji se oblikuju pod određenom temperaturom i pritiskom i imaju različita svojstva u zavisnosti od zahtjeva krajnjeg proizvoda. Plastika je široka porodica sintetičkih i polusintetičkih polimera dobijenih polimerizacijom monomera iz fosilnih resursa (uglja, prirodnog gasa, sirove nafte) i/ili organskih proizvoda, uključujući celulozu i obnovljiva jedinjenja (žitarice, kukuruz, krompir, palma, šećerna repa i trska, skrob, morske alge i biljna ulja) (Saunders, 2013; Lusher i dr.,

2017). Plastika se obično klasifikuje prema: ? veličini: makroplastika (25?1000 mm), mezoplastika (5?25 mm), mikroplastika (5 mm?1 µm) i nanoplastika (< 1 µm), pri čemu za svaku kategoriju postoje različite definicije (GESAMP, 2019, Sparks i Immelman, 2020; Naqash i dr., 2020) i ? tipu polimera (Claessens i dr., 2011; GESAMP, 2019). Iako je na raspolaganju stotine različitih vrsta sintetičkih polimera, najveću upotrebu imaju sintetički polimeri, koji pokrivaju 75% ukupne potražnje (polietilen (PE), polietilen tereftalat (PET), polipropilen (PP), polistiren (PS), polivinil hlorid (PVC) i poliuretan (PU)) (European Commission DG Environment, 2011). Plastika je moderan materijal u poređenju sa tradicionalnim materijalima od drveta, metala, kamena i stakla. Ona je omogućila tehnološki napredak, dizajnerska rješenja, unapređenja ekoloških performansi ali i uštedu novca. Plastika se koristi u gotovo svim aspektima društva, uključujući: pakovanje, izgradnju, prevoz, medicinu i zdravlje, sport i rekreaciju, elektroniku, poljoprivredu, dizajn i proizvodnju (Plastics Europe, 2016). Najveći proizvođači plastičnih materijala su Kina, Sjeverna Amerika i Evropa (Plastics Europe, 2016). Evropa je jedna od najvažnijih tržišta plastike sa proizvodnjom sintetičkih polimera oko 57 Mt godišnje i sa potražnjom plastike od oko 46 Mt godišnje. Unutar Evrope, dominira šest zemalja za potražnjom plastike:

**Njemačka (24.6%), Italija (14.3%), Francuska (9.6%), Španija (7.7%), Ujedinjeno Kraljevstvo (7.5%) i Poljska (6**

32

.3%). Procjenjuje se da će se potražnja za plastikom do 2025. udvostručiti, a do 2050. godine utrostručiti u odnosu na sadašnje nivoe potražnje (WEF, 2016). Globalna proizvodnja plastike iz godine u godinu dostiže maksimume, pa je na primer tokom 2018. godine, globalna proizvodnja plastike iznosila 359 miliona tona, od čega je skoro 20% reciklirano ili spaljeno, dok je preostalih 80% završilo na deponijama, zemljištu i u okeanima (Plastics Europe, 2019; Yu i dr., 2021). Očekuje se da će do 2050. godine, ukoliko se nastavi ovakav trend, globalna proizvodnja plastike dostići čak 33 milijarde tona.

### 3.2 Razgradnja plastike u životnoj sredini

Plastika je tokom svog životnog vijeka izložena višestrukim faktorima životne sredine (fizičkim, hemijskim i biloškim) koji dovode do smanjenja polimerne strukture, što rezultira raspadanjem plastike na manje fragmente u procesu koji se naziva degradacija (Andradi, 2017, Auta i dr., 2017). Degradacija (razgradnja) polimera dovodi do „starenja polimera“ tj., mijenjaju se svojstva polimera pri čemu se veći plastični predmeti (makroplastika) mogu vidjeti kao izvor velike količine sitnijih plastičnih predmeta (mikroplastika) (Galgani i dr., 2010; Andradi, 2011). Razgradnja plastike u životnoj sredini može se odvijati nekim od sledećih mehanizama ili njihovom kombinacijom (Eubeler i dr, 2009): ? Biodegradacija od strane organizama, ? Fotodegradacija (obično UV svjetlošću), ? Hemijska degradacija (oksidacija ili hidroliza), ? Termička degradacija i ? Mehanička degradacija. Biorazgradnja polimera uglavnom zavisi od njihove hemijske strukture, mnogi od sintetičkih polimera nisu biorazgradivi ili je taj proces veoma spor. Prvi korak razgradnje plastike započinje UV zračenjem (foto?oksidacija). Sunčeva svjetlost oksiduje hemijsku strukturu, uzrokujući labave veze i smanjenje težine polimera i rezultirajući krhkom i dezintegrativnom plastikom (Browne i dr., 2010). Hemijskom oksidacijom polimera njihova molekularna težina se smanjuje dok oksidovane grupe mogu postati dostupne za mikrobnu degradaciju (Andradi, 2011). Degradacija plastike koja pliva u vodi je značajno usporena u odnosu na degradaciju plastike na kopnu, zbog toga plastika u vodenom okruženju može da se zadrži decenijama. U vodenim ekosistemima temperature nisu dovoljno visoke da bi se započele hemijske promjene sintetičkih polimera, pa toplotna razgradnja nema važnu ulogu u razgradnji plastike (Cooper i Corcoran, 2010). Mehanička degradacija je važan faktor u pogledu degradacije plastike u morskim ekosistemima, poput abrazije, dejstva talasa, sudara i vuče (Andradi, 2011; Galgani, 2015). Na Slici 3.1 prikazana je degradacija plastike u životnoj sredini.



Slika 3.1 Degradacija plastike u životnoj sredini (<http://www.echoinstruments.eu/>) 3.3 Definicija mikroplastike Naziv mikroplastika (engl. microplastics ? MPs) naučna zajednica je prvi put (2009. godine) definisala kao čestice veličine manje od 5 mm (Arthur i dr., 2009; GESAMP, 2015). Danas je ograničenje veličine do 5 mm za MPs široko prihvaćeno (Claessens i dr., 2011; Van Cauwenberghe i dr., 2013). Nedavna istraživanja pokazuju da bi veličina čestica do 5 mm mogla postati službeno ograničenje veličine MPs (EPC, 2008; Wright i dr., 2013). Da bi se izbjegla prekomjerna heterogenost između studija i poboljšala mogućnost upoređivanja rezultata širom svijeta, neophodno je poštovati ovu definiciju. S obzirom da je ona najšire prihvaćena i korišćena od strane naučne zajednice, usvojena je i u ovom radu. Čestice plastike veličine < 5 mm prvi put su otkrivene 1972. godine u Sargaskom moru (Carpenter i Smith, 1972). Međutim tek od 2004. godine se prvi put primjenjuje termin „mikroplastika“ za opisivanje milimetarskih čestica. Odmah nakon toga dolazi do porasta istraživanja o zagađenju mikroplastikom morskih ekosistema što se ogleda u sve većem broju publikacija, naročito poslednjih godina (Thompson i dr., 2004; Ivar do Sul i Costa, 2013). Mikroplastika se može klasifikovati prema porijeklu, obliku, veličini, boji i tipu polimera (Campanale i dr., 2020), Slika 3.2. Slika 3.2 Klasifikacija mikroplastike Primarna MPs predstavlja namjerno proizvedene mikročestice sintetičkih polimera u rasponu veličine od nekoliko mikrometra (10 µm) do maksimalnog raspona veličine mikroplastike (obično 2?5 mm) (Hintersteiner i dr., 2015). Primarna MPs ima širok spektar primjene uključujući: (1) mikro?perlice ugrađene u kozmetičke proizvode (proizvodi za ličnu njegu i čišćenje) (Hintersteiner i dr., 2015); (2) pelete od smole (sirovina za izradu drugih plastičnih proizvoda) (Thompson

i dr., 2004 ; Arthur i dr ., 2009; Ryan i dr ., 2009; Roex i dr ., 2013; Storck i dr ., 2015; Wang i dr ., 2019) i

19

(3) kuglice koje se koriste za abrazivno miniranje površina. Takođe, primarna MPs se dodaje proizvodima u cilju poboljšanja njihovih sposobnosti. Put ulaska primarne MPs u životnu sredinu zavisi od njene primjene: čestice kozmetičkih proizvoda obično ulaze u otpadne vode; MPs od abrazivnog pijeska emituje se u atmosferu i otpadne vode, dok primarna MPs koja se koristi kao sirovina može ući u okolinu slučajnim gubicima tokom transporta i pretovara ili oticanjem iz postrojenja za preradu. Primarna MPs može se direktno ispustiti u okeane ili kroz slatkovodne vodotoke u morsko okruženje (Doyle i dr., 2011; Browne i dr., 2011). Sekundarna MPs nastaje razgradnjom većih komada plastike usled različitih spoljašnjih uticaja tj. makroplastika će se razgraditi u mikroplastiku (Thompson i

dr., 2004 ; Arthur i dr., 2009 ; Cole i dr., 2011 ; Yu i dr

45

., 2020). Andradi (2011) je proces razgradnje sintetičkih polimera definisao kao „hemijsku promjenu koja drastično smanjuje prosječnu molekulsku masu polimera“. Proces razgradnje utiče na velike plastične predmete kao i mikroskopske, što rezultira sve manjim fragmentima, što može dovesti do stvaranja čestica nano veličine. Krajnji ishod procesa razgradnje plastike bila bi potpuna mineralizacija polimera na produkte ugljenika i ugljen dioksida (Eubeler i dr., 2009; Andradi, 2011). Zavisno od karakteristike plastike i uslova okoline, proces razgradnje može potrajati i više desetina godina prije nego što se plastični predmeti u potpunosti razgrade. Dok se primarna i sekundarna MPs uglavnom lako razlikuje, tekstilna vlakna predstavljaju poseban slučaj. Tekstilna vlakna se mogu smatrati sekundarnom

MPs jer potiču od razbijanja većih predmeta (odjeće). Za razliku od prethodnih slučajeva, ovaj proces se ne događa u životnoj sredini, već u mašinama tokom pranja veša (Browne i dr., 2011). Vlakna koja se nalaze u otpadnim vodama nastalim od pranja veša, poput primarne MPs, ulaze u okolinu mikroskopskih veličina. MPs je podjeljena u četiri kategorije veličine: <

**0.1 mm, 0,1–0.5 mm, 0.5–1.0 mm i 1.0– 5.0 mm**

15

i četiri tipa oblika: fragmenti, filamenti, filmovi, granule i perlice, Slika 3.3 (Galgani i dr., 2013). Fragmenti su čestice nepravilnog oblika, poput kristala, praha i pahuljica, krute, debele, sa oštrim zakrivljenim ivicama. Filamenti su niti u vidu končića, duguljasti, mogu izgledati kao trake ili imati valjkasti oblik. Filmovi su nepravilnih oblika, tanki, fleksibilni i obično transparentni u poređenju sa fragmentima. Granule su čestice sferičnog oblika, poput peleta uobičajenih smola, sfernih mikrovezda i mikrosfera (Claessens i dr., 2011). Slika 3.3 Oblici mikroplastike (<https://bit.ly/3JXsMvK>)

Generalno, MPs se može definisati kao sintetičke čvrste čestice ili polimerne matrice, različitog oblika, boje i veličine (1 µm ? 5 mm), primarnog ili sekundarnog proizvodnog porijekla, koje su nerastvorne u vodi (Campanale i dr., 2020).

### 3.4 Mikroplastika u morskim ekosistemima

Danas, na žalost živimo u tzv. „plastično doba“. Od svog stvaranja početkom 1870. godine, materijali od plastike su u velikoj mjeri doprinijeli razvoju društva čineći svakodnevni život lakšim. Međutim, plastika ima i negativne implikacije jer sa porastom stope njene potrošnje širom svijeta, odražava se akumulacijom u priobalju mora, u sedimentima, pelagičnoj i bentosnoj bioti (Gomiero i dr., 2019). Prema Cole i dr. (2011) u morskoj sredini, plastika se smatra glavnim “sastojkom” morskog otpada. Na globalnom nivou, plastika predstavlja 83–87% ukupnog morskog otpada (Gomiero i dr., 2018). Zagađenje mora mikroplastikom predstavlja veliku zabrinutost savremenog društva zbog stalnog porasta proizvodnje proizvoda od plastike, njeno odlaganje i akumulacija u morskom ekosistemu (Kovač Viršek i dr., 2016). Čak i ako plastični otpad više ne bi ulazio u mora, zagađenje mikroplastikom će i dalje rasti usled fragmentacije već postojećeg plastičnog legla u moru (Thompson, 2015). Povećana koncentracija MPs u moru, kao novonastalog zagađivača morskog ekosistema, skreće veliku pažnju naučne zajednice jer je riječ o veoma sitnim česticama plastike koje na svojoj površini mogu da apsorbuju izuzetno toksične supstance (UNEP, 2016). Na početku ispitivanja, naučni interes je uglavnom bio usmjeren na ekološke uticaje MPs, dok u posljednje vrijeme ekotoksikološki efekti MPs privlače sve veću pažnju istraživača (Browne i dr., 2011). Izvori plastike u mora mogu biti sa mora i/ili kopnenih izvora. Procjenjuje se da 20% plastičnog otpada u mora dolazi sa brodova: naftnim i gasnim platformama, komercijalnim ribolovom i turizmom, gdje se ovaj otpad odlaže ili “slučajno” gubi u morima (Donohue, 2005). Međutim, procijenjeno je da oko 80%, plastičnog otpada u mora potiče iz kopnenih izvora: komunalni otpad, industrijske aktivnosti, nepravilno odlaganje otpada, odlagališta otpada, turizam, kombinovani kanalizacioni sistemi i sl. (Michelle Allsopp i dr., 2006). MPs se može naći u svim segmentima morskih ekosistema širom svijeta: površinskim vodama, sedimentima morskog dna, plažnom sedimentu i kao širokom spektru živih organizama (beskičmenjaka, riba, ptica, sisara) (Jambeck i dr., 2015). Akumulacija plastike u morskom okruženju dovodi do negativnih posljedica koje uključuju: gubitak estetske i ekološke vrijednosti, ekonomske posljedice, narušavanje i gubitak morskog biodiverziteta, i do rizika po zdravlje ljudi (Avio i dr., 2017). Neželjeni efekti MPs na organizme mogu biti fizički i hemijski. Neželjeni fizički efekti MPs su obično povezani sa veličinom i oblikom MPs, dok se hemijski efekti ogledaju u činjenici da je plastika heterogenog hemijskog sastava (Browne i dr., 2008; Thompson i dr., 2009). Među hemijskim supstancama prisutnim u mikroplastici su one koje se ugrađuju u plastične polimere tokom njihove proizvodnje (razni aditivi) ali i one

prisutne u vodi koje se adsorbuju na površini mikroplastike, kao što su razni organski i neorganski zagađivači (Godoy i dr., 2019). Aditivi su hemikalije koje se namjerno dodaju tokom proizvodnje plastike u cilju poboljšanja kvaliteta plastike (boje, inertna ili ojačavajuća punila, plastifikatori, antioksidanti, UV stabilizatori, maziva, usporivači gorenja itd.) (Hahladakis i dr., 2018). Policiklični aromatični ugljovodonici (PAHs), polihlorovani bifenili (PCBs), metali, pesticidi (DDT) su neke od hemijskih komponenti koje se mogu naći u visokim koncentracijama na površini mora u mikro sloju, ali i MPs male gustine, što može dovesti do njihove adsorpcije na hidrofobnu površinu MPs (Frias i dr., 2010; Holmes i dr., 2012; Brennecke i dr. 2016). Fizička adsorpcija navedenih hemikalija na MPs zavisi od specifične površine i Van der Vaalsovih sila, dok je hemijska adsorpcija uglavnom češća zbog visokog afiniteta organskih zagađivača prema hidrofobnoj površini čestica MPs (Teuten i dr., 2007; Wang i dr., 2016). Kao posledica otpada koji se akumulira u morskim ekosistemima, MPs je identifikovana kao potencijalni faktor koji može doprineti gubitku biološke raznovrsnosti u okeanima i morima (Gall i Thompson, 2015), kao i do ozbiljnih posljedica po zdravlje ljudi koristeći hranu iz mora. Jedan od glavnih puteva ulaska MPs u ljudski organizam je hrana (Waring i dr., 2018). Prema istraživanju količina MPs kojom ljudi mogu biti izloženi preko hrane je sledeći: ukupan unos MPs iz morske soli je do 37 čestica MPs po pojedincu godišnje (Bowmer i dr., 2010), dok ljudi koji se intenzivno hrane školjkama i drugim morskim plodovima unesu približno 1100 čestica MPs godišnje (Bowmer i dr., 2010; Goldstein i dr., 2012; Van Cauwenberghe i dr., 2013). U studiji kojom se bavio Cox i dr. (2019), mikroplastika je identifikovana i u šećeru, alkoholu i flaširanoj vodi i

iznosila je 0 .44 MPs/ g; 0 .03 MPs/ g i 0 .09 MPs/ g, respektivno . Unošenjem MPs 41 u

ljudski organizam može dovesti do niza negativnih efekata: citotoksičnost, preosjetljivosti, neželjene imune odgovore i akutne odgovore što predstavlja potencijalni rizik za ljudsko zdravlje (Hwang i dr., 2019). Putevi unošenja MPs u ljudski organizam su: ingestija (kontaminiranom hranom ili trofičnim prenosom), inhalacija ili putem kontakta sa kožom. Smatra se da MPs veličine manje od 20 µm može prodrijeti u organe, dok MPs veličine oko 10 µm ima pristup svim organima, može prolaziti kroz membrane ćelija, preći krvno-moždanu barijeru i ući u placentu (Campanale i dr., 2020). Povećana svijest o rastućoj proizvodnji, akumulaciji zagađenja plastikom u svijetu, kao i višestrukim rizicima koje MPs predstavlja za morski ekosistem, podstakli su uključivanje raznih međunarodnih zakonodavstava i projekata u oblasti zaštite mora. Okvirna direktiva o morskoj strategiji (MSFD) navodi da su države članice u obavezi da prihvate akcije za postizanje i održavanje dobrog stanja životne sredine i naglašava potrebu za dobijanjem što preciznijih podataka o identifikaciji, kvantifikaciji, distribuciji i praćenju MPs u životnoj sredini, što je definisano u prioritarnom deskriptoru 10.1.3 (MSFD 2008/56/EC). Stručna komisija Ujedinjenih nacija za životnu sredinu (eng.

The United Nations Expert Panel of the United Nations Environmental Programme ? UNEP 35

) uključuje više od 40 miliona ljudi iz 120 zemalja i zasniva se na hitnom rješavanju plastičnog zagađenja u okeanima koordinisanim strategijama, efektivnim politikama i propisima na nacionalnom, regionalnom i globalnom nivou (UNEP, 2014; Caruso, 2015). Slično tome, Program Ujedinjenih nacija za životnu sredinu/Mediteranski akcioni plan (United Nations Environment Program/Mediterranean Action Plan ? UNEP?MAP) i Baltička komisija za zaštitu morskog

okruženja?Helsinška komisija (Baltic Marine Environment Protection Commission?Helsinki Commission ? HELCOM) razvili su smjernice za procjenu morskog otpada uključujući MPs što je od velike važnosti za procjenu stanja kvaliteta morskog ekosistema. GESAMP se zalaže da sve nacije ulože napore ka smanjenju količine plastike koja ulazi u okean vodeći se principom 3?R (smanjiti ? ponovo iskoristiti – reciklirati, engl. reduce?reuse?recycle) što će predstavljati način smanjenja količine mikroplastike koje ulazi i akumulira se u okeane (GESAMP, 2015; Auta i dr., 2017). Prevencija i mjere upravljanja ovom vrstom zagađivača predstavlja veliki izazov jer se radi o vrlo malim česticama pa se njihovo uklanjanje čini vrlo teškim, ako ne i nemogućim. Protokoli za nadgledanje MPs obuhvataju četiri vrste morskog okruženja: 1) međuprostorni sedimenti (plaže), 2) morsku površinu (voda), 3) morski sediment i 4) biotu (Galgani dr., 2010, 2013).

3.4.1 Mikroplastika u sedimentu Rasprostranjenost MPs u morskome okruženju zavisi od uslova okoline uključujući okeanske struje, horizontalno i vertikalno miješanje vode, strujanje vjetra kao i od svojstva pojedinih polimera kao što su gustina, sastav i oblik (Löder i Gerds, 2015). Pošto većina sintetičkih polimera ima nižu gustinu od morske vode, MPs uglavnom lebdi (pluta) po morskoj površini, ali javljaju se i u nižem obimu suspendovane u vodenom stubu ili istaložene na sedimentu. Sve je više dokaza da pričvršćivanje organizama ili drugih čestica na MPs može uzrokovati da MPs niske gustine potone (Browne i dr., 2010). MPs gustine veće od gustine morske vode tone i akumulira se u sedimentu (Woodall i dr., 2014; Alomar i dr., 2016). Neke studije pokazuju da su morski sedimenti značajno opterećeni česticama mikroplastike (Claessens i dr., 2011; Hidalgo?Ruz i dr. 2012; Vianello i dr., 2013). Studija iz Japana ukazuje da čak 80? 85% morskog otpada u sedimentu čini plastični otpad, dok je na plažama taj procenat bio veći i iznosi 98% (Antunes i dr., 2013). Broj identifikovane MPs u sedimentu može biti veoma visok, do 2.420 čestica/m<sup>2</sup>, što odgovara 326 g/m<sup>2</sup> koji su utvrđeni u uzorcima sa portugalske obale (Antunes i dr., 2013). Akumulirajući se u sedimentu, MPs biva dostupna bentosnim organizmima (Murray i Covie, 2011). Organizmi koji nastanjuju sedimentne podloge su osetljive indikatorske vrste i kao takve nalaze veliku primjenu kao bioindikator ekosistema (Van Cauwenberghe i dr., 2015). Pošto je plastika prisutna u morskoj sredini kako u vodi tako i u sedimentu u različitom spektru veličina, veliki broj organizama je u stanju i da je proguta (Wright i dr., 2013). Istraživanja o zagađenju prouzrokovano plastikom u morskim sedimentima su sve značajnija i brojnija. Količina MPs je značajno veća u sedimentu nego u vodenom stubu (Hidalgo?Ruz i dr., 2012). Pojava MPs u sedimentima prvi put je dokazana u kasnim 70?im godinama (Gregori, 1977, 1978, 1983). Bentosni sediment je okarakterisan kao potencijalni sakupljač MPs, gdje je njen opstanak i zadržavanje mnogo duže nego na kopnu (Barnes i dr., 2009). Da bi stekli što preciznije razumijevanje o dostupnosti MPs u morskim ekosistemima, važno je pratiti i identifikovati MPs u sedimentima.

3.4.2 Mikroplastika u ribama Sve veći broj studija bavi se proučavanjem ingestije (gutanje) MPs od strane različitih morskih organizama, naročito vrstama koje su često na meti ribolova, što je razlog za zabrinutost jer može da predstavlja opasnost po bezbjednost hrane (Lusher i dr., 2013; Romeo i dr., 2015; Wright i Kelly, 2017). Ingestija MPs od strane morskih organizama je uglavnom slučajna jer organizmi MPs često zamjenjuju sa hranom (Lonnstedt i Eklov, 2016). Za razliku od ingestije MPs kod ptica, kornjača i morskih sisara, podaci vezani za ribe ne oslanjaju se samo na terenske već uključuju i laboratorijske studije. Izveštaji o ingestiji MPs od strane riba se značajno povećavaju (Borja i Elliott, 2019), pokazujući veliku varijabilnost u učestalosti pojavljivanja kako među geografskim lokacijama tako i među različitim vrstama riba (Herrera i dr., 2019; Giani i dr., 2019). Mnoge vrste jestivih bentosnih, pelagičnih i grebenih riba, uzorkovane širom svijeta sadržale su različite i značajne količine MPs (Lusher i

Hoogenboom, 2018). Postoje dva glavna načina ingestije MPs od strane vodenih organizama: direktna ingestija iz prirodnog okruženja ili indirektna ingestija, uključujući trofički prenos. Indirektna ingestija ili „trofički prenos“ se dešava kada organizmi love plijen koji je već konzumirao MPs. Poslije ingestije organizam može da zadrži MPs u gastroinesternalnom traktu (GIT) ili da je izbaci kroz feces (Wang i Wang, 2018). Zadržavanje MPs u GIT u vodenih organizama može prouzrokovati niz negativnih uticaja na zdravlje tih jedinki, poput mehaničkih povreda, lažne zasićenosti, niske stope rasta, povećanog imunog odgovora, iscrpljenosti, blokiranja proizvodnje enzima, smanjenja plodnosti, oksidativnog stresa, pa čak i mortaliteta (Wright i dr., 2013; Sussarellu i dr., 2016; Wang i Wang, 2018; Walkinshaw i dr., 2020). Silvestri i dr. (2018) navode da je vrlo važan zadatak istražiti količinu MPs koju unose ribe, a koja je u korelaciji sa različitim staništem i različitim trofičnim nivoima. Međutim, kako se MPs u ribama zadržava u GIT u, smanjen je rizik da će veće ribe putem ishrane prenositi MPs na ljude s obzirom da se unutrašnji organi ribe odstranjuju prije upotrebe u ljudskoj ishrani. U slučaju manjih riba kao što su inćuni, sardine, školjke, lignje, jestive morske alge i dr., gdje se cijeli organizam koristi za ishranu, predstavlja veći rizik za ljude. Putevi zagađenja i efekata MPs na zdravlje komercijalno važnih morskih organizama i mogući rizici po ljudsko zdravlje od njihove upotrebe, zahtijevaju detaljnije istraživanje kako bi se procjenio potencijalni efekat zagađenja MPs na bezbjednost hrane (Lusher i dr., 2017; Walkinshaw i dr., 2020). Posljednjih godina istraživači intenzivnije ispituju komercijalne vrste riba na prisustvo MPs zbog potencijalnih implikacija MPs na komercijalnom tržištu. Terenske studije su pokazale prisustvo MPs u mnogim komercijalnim (bentoskim i pelagičnim) vrstama riba, na primjer, iz Engleskog kanala (Lusher i dr., 2013), Sjevernog mora (Foekema i dr., 2013), Baltičkog mora (Rummel i dr., 2016b), Indo-Tihog okeana (Rochman i

dr., 2015 ; Jabeen i dr., 2016 ), Sredozemnog mora (Bellas i dr., 2016 ; Guven i dr., 2017 18

), Jadranskog mora (Avio i dr., 2015) i Sjeveroistočnog Atlantika (Neves i dr., 2015). Neophodno je identifikovati dobre indikatorske vrste i definisati standardizovani protokol praćenja u cilju dobijanja jasnog prikaza zagađenosti morske sredine mikroplastikom (Silvestri i dr., 2018). 3.5 Mikroplastika, pregled dosadašnjih istraživanja Sve veći je broj studija koje ukazuju na prisutnost plastike kao zagađujuće materije u Jadransko more. Studije predviđaju da će jadranski region biti jedno od glavnih područja akumulacije plastike u Sredozemnom moru, kako zbog njegovih okeanografskih uslova, tako i zbog visokog stepena različitog antropogenog pritiska koje je prisutno na uskom području (Liubartseva

i dr., 2016 ; Ruiz-Oregon i dr., 2016 ; Carlson i dr., 2017; Zambianchi i dr. 22

., 2017). U Jadranskom moru, MPs je pronađena u abiotskim i biotskim predjelima, uključujući plaže (Munari i dr., 2017), površinske vode (Suaria i Aliani, 2014; Cozar i

dr., 2015 ; Gajšt i dr., 2016 ; Suaria i dr., 2016 ; Vianello i dr., 2018), sediment (Vianello i dr., 2013; Mistri i

., 2018; Giani i dr., 2019) i školjke (Vandermeersch i dr., 2015; Gomiero i dr., 2019; De Simone i dr., 2021). U ovom dijelu dat je pregled dosadašnjih istraživanja o prisustvu, zastupljenosti i distribuciji mikroplastike u uzorcima površinskog sedimenta i ribama na području Jadranskog i Sredozemnog mora. Na crnogorskom primorju je kroz nekoliko različitih projekata određivano prisustvo makroplastike u morskoj vodi GIT-u određenih vrsta riba (Zeri i dr., 2018; Anastasopoulou i dr., 2018), kao i prisustvo mikroplastike u dagnjama (De Simone i dr., 2021). Količina i obim MPs u Jadranskom moru je bila nepoznata prije početka projekta „Napuštena ribolovna oprema, sistem upravljanja u jadranskoj regiji“ (eng. “Derelict Fishing Gear Management System in the Adriatic Region” – DeFishGear). DeFishGear je prvi projekat jadranskog regiona i daje prve podatke o sadržaju i identifikaciji MPs u površinskom sedimentu i ekonomskim značajnim vrstama riba. Na području crnogorskog primorja nisu dostupni podaci o prisustvu MPs u površinskom sedimentu i ekonomski važnim vrstama riba zbog čega je glavni cilj istraživanja dobiti podatke o kvantifikaciji, identifikaciji i distribuciji MPs u ribama i sedimentu na crnogorskom primorju. Na području hrvatskog primorja vršena su brojna istraživanja prisustva i obima MPs u morskom sedimentu (Blašković i dr., 2016; Renzi i dr., 2019; Palatinus i dr., 2019; Renzi i Blašković, 2020). Blašković i dr. (2016) su se bavili analizom prisustva makro, mezo i mikro plastike u sedimentima sa različitih područja zaliva Telaščica, ukazujući da je MPs dominantna frakcija sa 88.71%, a filamenti dominantan tip identifikovanog oblika MPs sa 90.1%. Autori, u ovoj studiji, zaključuju da su ispitivani sedimenti srednje do visoko kontaminirani mikroplastikom (Blašković i dr., 2016). Slične zaključake su donijeli Renzi i dr. (2019) u svom radu, gdje su ispitivali prisustvo MPs u sedimentima na području Silbe i Grebena. Palatinus i dr. (2019) u svojim studijama ističu da je prosječna koncentracije MPs u ispitivanom sedimentu iznosila 360 MPs/100 g suvog sedimenta, a za razliku od prošlih studija, dominantan tip oblika MPs u ovoj studiji bili su fragmenti (57.8%), praćeni filamentima (41.3%), filmovima (0.7%) i granulama (0.1%). Renzi i Blašković (2020) navode da su dominantni polimeri u analiziranim sedimentima sa hrvatskog primorja bili: najlon, PVC, PET, PE i PP. Značajan broj radova svjedoči o prisustvu MPs u priobalnim sedimentima Italije (Vianello i dr., 2013; Mistri i dr., 2017, 2018; Piazzolla i dr., 2020). Jedno od prvih istraživanja prisustva MPs u sedimentu sprovedeno na području mediterana je duž sjeveroistočne italijanske obale, lagune Venecija, gdje je zabilježena izuzetno visoka vrijednost MPs tj. najveća zabilježena vrijednost u regionu (Vianello i dr., 2013). Najzastupljeniji identifikovani polimeri bili su PE i PP, a najzastupljeniji oblik MPs bili su filamenti (Vianello i dr., 2013). U studijama Mistri i dr. (2017, 2018) primarni tipovi oblika MPs bili su: filamenti, zatim fragmenti i filmovi. Takođe u obje studije, primjenom FTIR spektroskopije, identifikovano je prisustvo 6 vrsta polimera, od kojih su PE, PP bili najzastupljeniji (Mistri i dr., 2017, 2018). Autori navode da je povećano prisustvo MPs u analiziranim sedimentima posledica aktivnosti luke, oslanjajući se na zapažanja drugih autora koji navode da područja koja predstavljaju plovnu putanju imaju veliko prisustvo MPs (Mistri i dr., 2017, 2018). Obalni sedimenti u sjevernom području Lacija su umjereno opterećeni sa MPs u poređenju sa literaturnim podacima iz regiona (Jadransko i Sredozemno more) (Piazzolla i dr., 2020). Laglbauer i dr. (2014), predstavili su prvu procjenu o MPs zagađenju duž slovenačke obale i naglašavaju da MPs u ovoj studiji pripada sekundarnoj MPs koja nastaje usitnjavanjem makroplastike u moru ili na kopnu. Visoki nivoi MPs su zabilježeni u površinskom sedimentu na obali Tunisa (Abidli i dr., 2017), kao i u površinskom sedimentu na obali Španije, Sredozemno more (Alomar i dr., 2016). Ingestija MPs u mediteranskim organizmima je prvi put prijavljena 1988.

godine. Posljednjih godina, identifikacija MPs u GIT-u riba je primarni cilj većine studija u mediteranu. U pogledu staništa, ingestija MPs je prijavljena od strane riba različitih staništa, a većina studija sprovedena je na pridnenim (32.9%), pelagičnim (27.7%) vrstama, zatim bentosnim (14.7%), bentopelagičnim (16.5%), neritnim (5.3%) i mezopelagičnim (2.9%) vrstama (Fossi i dr., 2018). Na području Jadranskog i Sredozemnog mora vršena su ispitivanja prisustva MPs u komercijalno važnim vrstama riba, i to u Italiji, Grčkoj, Turskoj i Španiji (Bellasi

dr., 2016 ; Güven i dr., 2017; Digka i dr., 2018 ; Avio i dr., 2019 ; Giani i dr.

18

., 2019; Mancuso i dr., 2019). Avio i dr. (2019) su ispitivali prisustvo MPs u GIT-u barbuna i oslića na području Jadranskog mora, pri čemu je srednja količina MPs pronađena u GIT-u ispitivanih riba iznosila 1-2 čestice. Veća učestalost ingestije MPs uočena je u bentopelagičnoj vrsti, osliću (30-40%) u odnosu na bentosnu vrstu, barbun (20-37%), što se objašnjava činjenicom da organizmi koji obitavaju unutar dva staništa imaju veću mogućnost interakcije sa MPs (Avio i dr., 2019). Slične rezultate su dobili Giani i dr. (2019) u svojoj studiji koji su ispitivali prisustvo MPs u barbunu i osliću sa područja Jadranskog, Sjeverno Tirenskog i Jonskog mora. Oni navode da su filamentni bili dominantan oblik pronađen u GIT obje ispitivane vrste, za oslić njihova procentualna vrijednost iznosila je 81%, a za barbun 44%, praćeni fragmentima sa 19% i 32% respektivno. Autori naglašavaju da podaci ove studije sugeriraju da su morski organizmi pogodniji indikatori od sedimenata u praćenju zagađenja mikroplastikom (Giani i dr., 2019). Mancuso i dr. (2019) ukazuju da je procenat ingestije MPs od strane barbuna (14.28%) bila niža od vrijednosti koje su zabilježene u regionu (Capillo i dr., 2019), dok nasuprot tome, procenat ingestije MPs od strane oslića (46.3%) bio veći od vrijednosti koje su zabilježene u regionu. Güven i dr. (2017) su ispitivali GIT barbuna na prisustvo MPs u Turskoj, Sredozemno more, pri čemu je 66% analiziranih uzoraka sadržalo MPs u GIT-u. Srednja vrijednost čestica MPs po uzorku iznosila je 2, a filamentni su bili dominantan tip oblika MPs sa 70% od ukupnog broja (Güven i dr., 2017). Bellasi i dr. (2016) u svojoj studiji su prikazali ingestiju MPs u GIT-u barbuna i oslića u Španiji, Sredozemno more. Procenat ribe koji je u GIT-u sadržao MPs iznosio je 18.8% za barbun i 16.7% za oslić, u prosjeku 2 čestice MPs po ribi. Najčešći tip oblika MPs su bili filamentni (71%), zatim granule (24%), filmovi (3.2%) i fragmenti (1.6%) (Bellasi i dr., 2016). U studiji Digka i dr. (2018) vršena je procjena ingestije MPs u GIT-u barbuna u Grčkoj, Sredozemno more. Od 25 analiziranih uzoraka barbuna, njih 8 je sadržalo MPs, od kojih 2 čestice MPs po pojedincu. Učestalost ingestije MPs u barbunu iznosila je 32%. Identifikovano je 5 vrsta polimera od kojih je PE bio najzastupljeniji (Digka i dr., 2018). Iako je identifikacija mikroplastike u morskim ekosistemima relativno nova oblast istraživanja, dosadašnji podaci ukazuju da je mikroplastika sve više prisutna u svim odjeljcima morskih ekosistema, što predstavlja veliku zabrinutost naučne zajednice, a samim tim i potrebu za daljnjim istraživanjima i monitoringom.

### 3.6 Korelacija mikroplastike i teških metala

Zbog male veličine čestica i jake hidrofobnosti, MPs uprkos tome što je relativno inertna može apsorbirati neorganske i organske zagađivače iz akvatičnih ekosistema tokom njihove migracije u vodi (Barletta i dr., 2019; Naqash i dr., 2020). Mnoge studije izvještavaju o prisustvu teških metala na površini čestica MPs (Brennecke i dr., 2016; Yu i dr., 2020). Dok teški metali predstavljaju tipične zagađivače u životnoj sredini, MPs je relativno novi zagađivač životne sredine koji u korelaciji sa teškim metalima dovodi do ozbiljnih ekoloških rizika (Brennecke i dr., 2016). Teški metali i MPs su dvije različite grupe zagađivača u vodenoj životnoj sredini koje karakteriše postojanost, loša biorazgradljivost, bioakumulacija/biomagnifikacija u prehrambenom lancu (Abdolapur i dr., 2013; Gu i dr., 2015; Grigorakis i dr., 2017; Vendel i dr., 2017). Zbog velikog afiniteta vezivanja teških metala za čestice mikroplastike, MPs predstavlja potencijalni

vektor za transport metala u morskoj sredini, s obzirom da se MPs može transportovati na velike udaljenosti i utiče na povećanje biorasploživosti zagađivača (Yan i dr., 2020). Područja sa snažnim antropogenim aktivnostima, marine, luke, industrijska i urbana područja na primorskim teritorijama predstavljaju značajne izvore zagađenja mora metalima i plastikom. Pojedini teški metali ugrađeni su u plastiku tokom proizvodnje kako bi djelovali kao stabilizatori, antioksidanti i boje (Murphi, 2001). Stabilizatori koji imaju funkciju sprječavanja termičkog raspadanja tokom obrade, kao i sprječavanje pucanja polimernih lanaca uglavnom se sastoje od organskih ili neorganskih soli kadmijuma, barijuma ili olova (Hansen i dr., 2013). Antimonov oksid, aluminijum?oksid i cink?borat se primjenjuju kao usporivači plamena (Hahladakis i dr., 2018), dok se metali poput Zn, Pb, Cr, Co, Cd i Ti koriste kao neorganska baza pigmenta bojila (Hansen i dr., 2013). Hrom se uglavnom koristi prilikom proizvodnje polimera kao što su PVC i PP, dok kobalt acetat nalazi primjenu u proizvodnji PET boca. Jedinjenja na bazi olova i kadmijuma, antimon trioksida i jedinjenja na bazi kalaja se najviše koriste pri izradi PVC vrata i prozora (Campanale i dr., 2020). U Tabeli 3.1 dat je prikaz teških metala koji se koriste kao aditivi u plastičnim polimerima i njihovi uticaji na ljudsko zdravlje. Akumulacija teških metala iz morske sredine na čestice mikroplastike može imati značajne negativne efekte na morske organizme i time prouzrokovati bioakumulaciju u lancu ishrane (Foshtomi i dr., 2019; Walkinshaw i dr., 2020). Vrijeme boravka MPs u organizmu određuje njenu toksičnost i potencijal kao prenosioca zagađivača (Brennecke i dr., 2016), dok zdravstveni rizici povezani sa metalima adsorbovanim na mikroplastici zavise od biorasploživosti polimera i metala (Li i dr., 2020). Metali adsorbovani na MPs mogu imati dva puta izlaganja za žive organizme: (1) MPs može adsorbirati metale i desorbovati ih ulaskom u organizam tokom varenja, (2) adsorbovani metali se mogu desorbovati u morskoj vodi doprinoseći direktnom izlaganju morskih organizama metalima (Brennecke i dr., 2016). Tabela 3.1 Metali kao aditivi u plastičnim polimerima i njihovi uticaji na ljudsko zdravlje (Campanale i dr., 2020)

Teški metali	Aditivi	Tip polimera	Uticaj na ljudsko zdravlje
Bakar (Cu)	Biocidi / Formiranje reaktivnih vrsta kiseonika (ROS), izazivaju prekide i oksidaciju DNK	lanca	Cink (Zn) Mangan (Mn)
Stabilizatori toplote, usporivači plamena, sredstva protiv klizanja i neorganski pigmenti.	Neorganski pigmenti	PVC, PE, PP	Neurodegenerativni poremećaj
Hrom (Cr)	Neorganski pigmenti	PVC, PE, PP	Alergijske reakcije, kardiovaskularni, respiratorni, hematološki, gastrointestinalni, bubrežni, jetreni i neurološki efekti.
Karcinogen	Stabilizatori toplote, Olovo (Pb)	UV stabilizatori i neorganski pigmenti	PVC i sve vrste plastike, gdje se koriste crveni pigmenti
Anemija, hipertenzija, pobačaji, poremećaj rada nervnog sistema i mozga, neplodnost, oksidativni stres i oštećenje ćelija.	Karcinogen	Kadmijum (Cd)	Stabilizatori toplote, UV stabilizatori i neorganski pigmenti
Promjene u metabolizmu	Ca, P u PVC kostima, peroksidacija lipida, metilacija DNK.	Karcinogen	Arsen (As)
Biocidi	PVC, LDPE	Urođene smetnje, karcinogen, oštećenje pluća, kože, jetre, bešika, bubrega i gastrointestinalnog trakta.	Mutagen, kancerogen.
Poremećaj	Živa (Hg)	Biocidi	PU molekularne strukture DNK i oštećenje mozga.

MSFD (Marine Strategy Framework Directive) je oba zagađivača prepoznala i istakla unutar relevantnih deskriptora koje treba nadgledati, stoga je razumijevanje mehanizama u osnovi interakcija između ovih zagađivača veoma važna (Brennecke i dr., 2016). Istraživanja predstavljena u ovom radu ističu potrebu za daljim studijama koje razjašnjavaju ulogu MPs kao potencijalnog vektora za prenos teških metala ili izvora metala, istražujući načine oslobađanja teških metala iz MPs u različitim sredinama i ispitivanjem da li su nivoi metala pronađeni u mikroplastici toksični za biotu (Brennecke i dr., 2016).

#### EKSPERIMENTALNI DIO 4. MATERIJALI I METODE 4.1 Područje ispitivanja

Jadransko more ima dužinu od 783 km, prosječnu širinu 248 km, površinu 138.595 km<sup>2</sup>, zapreminu 35.000 km<sup>3</sup>, prosječnu dubinu 239 m i maksimalnu dubinu 1228 m (Joksimović i dr., 2021). Jadransko more čini oko 4.6% od ukupne površine Sredozemnog mora (Jardaš, 1996). Jadransko more je najveći zaliv i najsjeverniji dio Sredozemnog



**mora. Jadransko more je povezano sa Jonskim morem , a preko njega sa Sredozemnim morem**

39

, smješteno je između Balkanskog i Apeninskog poluostrva.

**Granica Jadranskog i Jonskog mora su Otrantska vrata široka 75 km između Italije i Albanije**

30

(Kraus i dr., 2018). Jadransko more je podjeljeno na tri područja: sjeverni, srednji i južni Jadran. Zemlje koje imaju

**izlaz na Jadransko more su Italija, Slovenija, Hrvatska, Bosna i Hercegovina, Crna Gora i Albanija**

31

(Slika 4.1). Slika 4.1 Položaj Jadranskog mora Morsko dno Jadranskog mora karakterišu kameniti, šljunkoviti, pjeskoviti i muljeviti sedimenti u zavisnosti od različitih struktura i mineraloško-petrografskog sastava. Muljeviti i pjeskoviti sedimenti prekrivaju najveću površinu Jadranskog mora. U priobalnom području i u plićim dijelovima Jadranskog mora formiraju se pjeskoviti sedimenti čije su čestice maksimalnog promjera 2 mm, dok se muljeviti sedimenti, čije su čestice promjera 0.01 mm, formiraju na mjestima gdje nema značajnog pomjeranja morske vode. Pjeskoviti sediment je karakterističan za sjeverni Jadran, muljeviti sediment za južni Jadran, dok srednji Jadran predstavlja prelazno područje (Jardaš 1996; Joksimović i dr., 2021). Dužina obalne linije crnogorskog primorja iznosi 294.1 km, pri čemu 105.7 km pripada Bokokotorskom zalivu, a 11 km pripada ostrvima (Joksimović, 2007). Posebnu cjelinu u južnom djelu Jadranskog mora, na crnogorskom primorju, čini Bokokotorski zaliv. Bokokotorski zaliv se proteže od rta Oštro do rta Mirište. Bokokotorski zaliv sa geografskog i okeanografskog poimanja predstavlja zatvoreni bazen, koji se na osnovu klimatoloških, geomorfoloških i fizičko-hemijskih karakteristika akvatorija značajno razlikuje od otvorenog dijela primorja (Perošević-Bajčeta, 2020). Karakterišu ga sledeća obilježja: dužina

**obale 105.7 km , površina 87.3 km<sup>2</sup>, zapremina 2.4·10<sup>6</sup> km<sup>3</sup> , maksimalna dubina 65 m**

40

(Perošević-Bajčeta, 2020; Joksimović i dr., 2021). Bokokotorski zaliv se sastoji od četira manja zaliva: hercegrovski, tivatski, risanski i kotorski zaliv,

**u kopno se urezuje u dužini od 20 km i ima oblik strijele (Joksimović i**

7

dr., 2016). Jadransko more kao relativno mala i zatvorena akvatorija posebno je podložna raznim pritiscima. Procijenjeno je da 40% morskog otpada u jadranski sliv ulazi rijekama, dodatnih 40% kroz obalno urbano stanovništvo, a preostalih 20% potiče od pomorskog saobraćaja i ribolovnih aktivnosti (Liubartseva i dr., 2016). Jadransko more, a naročito

**Bokokotorski zaliv je pod velikim uticajem antropogenih faktora i aktivnosti koje se odvijaju kako na obali**

7

, tako i na moru.

**Poslednjih decenija evidentna je sve veća urbanizacija i industrijalizacija, koja je dovela do obimnog naseljavanja crnogorskog primorja što je uslovalo značajno opterećenje životne**

7

sredine mora. Imajući u vidu navedene opšte karakteristike crnogorskog primorja, za ovo istraživanje odabrano je 10 lokacija (Slika 4.2) i to: šest lokacija u Bokokotorskom zalivu (Dobrota, Orahovac, Sveta Nedjelja, Tivat, Bijela i Herceg Novi) i četiri lokacije na obalnom području otvorenog mora (Žanjice, Budva, Bar i Ada Bojana). Lokacije obuhvaćene istraživanjima izabrane su na osnovu različitog geografskog položaja, kao i različitih antropogenih aktivnosti na njima (slatkovodne pritoke, gusta naselja uz obalu, spiranje kopna, hoteli i restorani na samoj obali, prisustvo luka). Slika 4.2 Mapa lokacija za uzorkovanje sedimenata ? Dobrota je najbrojnije gradsko naselje u opštini Kotor, pod velikim uticajem različitih antropogenih aktivnosti (otpadne vode, komunalni otpad, uticaj pomorskog i krizing turizma i dr.). ? Orahovac je malo, mirno ribarsko mjesto, nalazi se u blizini Kotora. U ovom mjestu se nalaze uzgajališta za uzgoj jestivih školjki i ribe, što predstavlja osjetljivu zonu. Osim neriješenog problema sa kanalizacionim ispustima, Orahovac je tokom ljetnjih mjeseci izložen velikom broju turista na malom području. U Orahovcu se nalazi i postrojenje za fabričku preradu ribe i drugih morskih organizama, što može doprinijeti zagađenju. ? Sveta Nedelja je lokacija koja se nalazi u blizini Veriga, najužeg ulaska u Bokokotorskom zalivu. Ova lokacija predstavlja tranzitnu zonu velikog broja kruzera i manjih plovnih jedinica koji predstavljaju potencijalnu opasnost od zagađenja. ? Tivat je jedno od najpopularnijih turističkih mjesta u Crnoj Gori u kome je smješten luksuzni kompleks i marina "Porto Montenegro", koji svojim aktivnostima mogu doprinijeti zagađenju. Takođe, bitno je pomenuti i nekadašnje remontno brodogradilište "Arsenal" i "Avioservis" koji su se nalazili u Tivtu, a posledice njihove aktivnosti i dalje su vidljive.

**Izgradnja novih objekata kao i uređenje kontakt zone mora i kopna dovodi do remećenja ravnoteže i narušavanja prirodnih staništa biljnih i životinjskih vrsta**

27

. ? Bijela u kojoj se nalazilo sada zatvoreno Jadransko brodogradilište „Bijela“ (smješteno u urbanizovanom naselju Bijela, opština Herceg Novi), smatra se jednim od pet crnih ekoloških tačaka u Crnoj Gori i jednim od većih zagađivača mora. ? Herceg Novi je grad na samom izlazu na otvoreno more. Kao i većina gradova na primorju izložen je neadekvatno riješenom ispustu otpadnih voda, industrijsko-tehničkih ali i fekalnih voda, što u velikoj mjeri predstavlja

opasnost na morski ekosistem. Herceg Novi tokom turističke sezone bilježi veliki broj posjetilaca koji je i do nekoliko puta veći u odnosu na broj stanovnika. Žanjice je malo ribarsko mjesto koje se nalazi nedaleko od Herceg Novog, na otvorenom dijelu crnogorskog primorja. Broj stanovnika se značajno povećava tokom ljetnjeg perioda zbog velikog broja vikendica, restorana, što značajno može da dovede do zagađenja morske sredine, i to uglavnom preko otpadnih voda. Budva zauzima mjesto „turističke metropole Crne Gore“. Danas se u Budvi nalaze reprezentativniji hoteli i turistički objekti na crnogorskoj obali, što može da dovede do zagađenja ne samo sa kopna (otpadne vode, komunalni otpad, infrastruktura i dr.) već i sa pomorskih puteva, kao i marine koja se nalazi neposredno uz Stari grad. Ostrvo Sveti Nikola takođe ima značajnu ulogu u kretanju morskih struja, smanjući koeficijent morskih struja koje vrše miješanje vode na otvorenom moru, što utiče da se elementi zagađenja zadržavaju duže na bentosnom sloju Budvanske rivijere u odnosu na ostale gradove crnogorskog primorja koji izlaze na otvoreno more. Bar je grad koji se nalazi na otvorenom moru, a glavnu karakteristiku grada predstavlja luka koja je komercijalni transportni centar Crne Gore. U luku uplovljavaju teretni kontejnerski brodovi, brodovi rasutog tereta, tankeri ali i putnički brodovi. Otpadne vode, komunalni otpad, uticaj lučkih aktivnosti i kamenolom predstavljaju dodatnu opasnost od mogućeg zagađenja morskog biodiverziteta na ovoj lokaciji. Ada Bojana je riječno ostrvo koje je formirala istoimena rijeka na ušću u Jadransko more. Ada Bojana jedno je od najpopularnijih turističkih mjesta na crnogorskoj obali sa mnogo atraktivnih sadržaja za mlade. Zajedno sa ulcinjskom Velikom plažom čini najveći kupališni kompleks u Crnoj Gori, što daje veliki preduslov antropogenog zagađenja uslijed turističke sezone. 53 Na pomenutim lokacijama vršeno je uzorkovanje sedimenta za analizu teških metala i mikroplastike, dok je uzorkovanje riba vršeno na dvije lokacije: Bokotorski zaliv i otvoreno more, Slika 4.3. Slika 4.3 Mapa područja uzorkovanja ribe 4.2 Uzorkovanje sedimenta i ribe Uzorkovanje površinskog sedimenta vršeno je u dva periodična ciklusa, proljećnom i jesenjem, u trajanju od dvije istraživačke godine, tačnije uzorkovanje je počelo u proljeće 2019. godine, a završeno u jesen 2020. godine. U Tabeli 4.1 se nalazi periodičnost uzorkovanja sedimenta i koordinate u odnosu na lokacije istih. Uzorkovanje površinskog sedimenta (gornjih 5 cm) vršeno je brodom Instituta za biologiju mora "Nemirna II" primjenom Ponarovog graba (Petite ponar grab, Wildco, Slika 4.4), dimenzije 40 x 40 cm, zapremine lopatica oko 2.4 l. Tokom svakog uzorkovanja su uzeta dva uzorka sedimenta sa jedne lokacije koja su zatim homogenizovana (kompozitni uzorak od dva uzorka sa jedne lokacije). Uzorci sedimenta za potrebe analize teških metala i mikroplastike (oko 500 g 54 dobijenih postupkom četvrtanja) su smješteni u polietilenske i staklene posude do prenošenja u laboratoriju, zatim su zamrznuti na -18 °C. Tabela 4.1 Periodičnost uzorkovanja sedimenta i koordinate u odnosu na lokacije Lokacije Geografska širina Koordinate Geografska dužina Proljeće 2019.godine Jesen 2019.godine Period uzorkovanja Proljeće 2020.godine Jesen 2020.godine Dobrota 42.436738 18.762041 12.04.2019. 02.10.2019. 23.04.2020. 19.10.2020. Orahovac 42.486974 18.753844 12.04.2019. 02.10.2019. 23.04.2020. 19.10.2020. Sveta Nedjelja 42.457092 18.674193 12.04.2019. 02.10.2019. 23.04.2020. 19.10.2020. Tivat 42.437744 18.677641 12.04.2019. 02.10.2019. 23.04.2020. 19.10.2020. Bijela 42.446168 18.658379 12.04.2019. 02.10.2019. 23.04.2020. 19.10.2020. Herceg Novi 42.446485 18.532894 12.04.2019. 02.10.2019. 23.04.2020. 19.10.2020. Žanjice 42.397888 18.566368 12.04.2019. 02.09.2019. 23.04.2020. 19.10.2020. Budva 42.262911 18.833523 16.04.2019. 10.09.2019. 24.04.2020. 20.10.2020. Bar 42.104562 19.057053 16.04.2019. 10.09.2019. 24.04.2020. 20.10.2020. Ada Bojana 41.863054 19.323559 16.04.2019. 10.09.2019. 24.04.2020. 20.10.2020. Slika 4.4 Ponarov grab i postupak uzorkovanja sedimenta Uzorkovanje ribe u Bokotorskom zalivu vršeno je trostrukim mrežama stajaćicama, veličine oka 56 mm, dužine oko 160 m. Na otvorenom moru uzorkovanje je obavljano kočarenjem tj. pridnenim demerzalnim mrežama, veličine oka 40 mm (kvadratni oblik), dužine oko 50 m, Slika 4.5. Slika 4.5 Mreža stajaćica (a); pridnene demerzalne mreže (b,c) Odmah nakon uzorkovanja, odvojeni su uzorci barbuna (*M.barbatus*) i oslića (*M.merluccius*), a zatim su

uzeti osnovni parametri ribe (dužina, težina, pol), Slika 4.6. Slika 4.6 Barbun ? M.barbatus (a); oslić ? M.merluccius (b) Uzorci riba su sakupljeni tokom proljeća i jeseni 2019. i 2020. godine. U Tabeli 4.2 su prikazani podaci o broju ispitivane ribe, prosječnoj težini, prosječnoj dužini i polu u odnosu na period uzorkovanja i ispitivanu vrstu. U Bokokotorskom zalivu zbog ograničenih ribolovnih aktivnosti, s obzirom da je nabavka materijala bila dostupna zahvaljujući lokalnim ribarima, tokom istraživanja nijesu sakupljeni uzorci barbuna iz Bokokotorskog zaliva u jesenjem periodu 2020. godine, kao ni uzorci oslića tokom proljećnjeg i jesenjeg perioda 2019. godine i jesenjeg perioda 2020. godine. Tabela 4.2 Osnovni podaci ispitivanih uzoraka ribe (? SD) Vrsta Područje Sezona Broj ispitivanih Prosječna težina Prosječna dužina Pol ribe uzorkovanja uzorkovanja uzoraka (g) (cm) M / Ž Bokokotorski zaliv M.barbatus Otvoreno more Bokokotorski zaliv Otvoreno more Bokokotorski zaliv Otvoreno more Otvoreno more 2019 Proljeće 10 139.58 ? 8.0 10 171.62 ? 12.8 Jesen 10 166.1 ? 10.4 10 147.88 ? 5.7 61.78 ? 15.4 52.33 ? 11.2 44.72 ? 10 71.2 ? 6.2 5/5 7/3 6/4 7/3 2020 Proljeće 10 198.11 ? 20.3 10 144.9 ? 5.8 Jesen 10 163.6 ? 10.4 97.7 ? 6.1 32.29 ? 6.2 56.83 ? 2.6 6/4 5/5 4/6 M.merluccius Otvoreno more Otvoreno more Bokokotorski zaliv Otvoreno more Otvoreno more 2019 Proljeće 10 282.28 ? 14.9 192.88 ? 11.7 6/4 Jesen 10 243.03 ? 8.9 219.92 ? 11.9 5/5 2020 Proljeće 10 315.6 ? 50.1 10 254.78 ? 5.7 Jesen 10 274.5 ? 5.3 395.9 ? 20.6 7/3 123.59 ? 8.6 6/4 143.2 ? 8.1 8/2 4.3 Analiza teških metala u uzorcima sedimenta i ribe Šematski prikaz cjelokupne analize teških metala u uzoracima sedimenata i ribe prikazan je na Slici 4.7. 4.3.1 Priprema uzorka sedimenta za analizu teških metala Postupci pripreme uzoraka sedimenta za analizu teških metala

**obavljeni su u Laboratoriji za hemiju mora i okeanografiju Instituta za biologiju mora u Kotoru**

1

, prema laboratorijskom priručniku IAEA agencije (Međunarodna agencija za atomsku energiju), Laboratorija za morski ekosistem iz Monaka (IAEA, 2015). Priprema uzoraka sedimenta za analizu teških metala sastojala se iz sledećih postupaka: sušenje, prosijavanje i razaranje uzoraka sedimenta. Neda Bošković Slika 4.7 Šematski prikaz cjelokupne analize teških metala u uzoracima sedimenata (a) i ribe (b) 58 Sušenje Nakon uzorkovanja, uzorci sedimenta za potrebe analize teških metala su zapakovani i zamrznuti na -18 °C. Zamrznuti uzorci sedimenta podvrgnuti su postupku hladnog sušenja u liofilizatoru (CHRIST, Alpha 2?4 LD plus) na -40 °C tokom 48 h, Slika 4.8. Slika 4.8 Liofilizator (CHRIST, Alpha 2?4 LD plus, Njemačka) Prosijavanje

**Prije prosijavanja iz uzoraka su plastičnim pincetama uklonjeni ostaci školjki, lišća i grančica**

1

. Nakon toga uzorci su prosijavani pomoću

**vibracione tresilice (Retsch, AS 200 digit) sa setom standardizovanih sita od nerđajućeg čelika (ISO 3310?1), Slika**

1

4.9. Suvi uzorci sedimenta su prosijani kroz sita različitih promjera, poređanih na sledeći način:

1 mm – 500 µm – 250 µm – 125 µm – 63 µm

49

**Frakcija manja od 63 µm je korišćena za analizu. Uzorci su čuvani u polietilenskim bočicama obloženim teflonskom trakom. Cjelokupan postupak uzorkovanja i pripreme uzoraka sedimenta izvršeni su po preporukama navedenim u**

1

UNEP/MAP priručniku za uzorkovanje i analizu sedimenta (UNEP/MAP, 2011). Slika 4.9 Set sita za prosijavanje uzoraka  
? Vibraciona tresilica (Retsch, AS 200 digit) Razaranje uzoraka

**sedimenta za analizu metala Razaranje** prosijanih **uzoraka sedimenta vršeno je mikrotalasnom**

1

digestijom (Anton Paar, Multiwave PRO), Slika 4.10. U teflonske kivete

**za razaranje odmjereno je** približno **0.2 g suvog uzorka** sedimenta. Zatim je **uzorcima** u kivetama **dodato 5 ml koncentrovane** nitratne kiseline ( **HNO<sub>3</sub>**) visoke čistoće

1

(>

**68%, PrimarPlus – Trace analysis grade, Fisher Chemical** ), nakon toga **2 ml koncentrovane** fluorovodonične kiseline ( **HF**) (**47–51%, Superpure for trace analysis, Carlo Erba** ). Uzorci su **ostavljeni na sobnoj temperaturi preko noći**

1

, a sledećeg dana u kivete sa

**uzorcima je dodato 2 ml** vodonik peroksida ( **H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**) (> **30%, Analytical reagent grade, Fisher Chemical** ). Teflonske kivete **su**

1

propisno zatvorene i podvrgnute prvoj fazi mikrotalasnog razaranja uz postepeno zagrijavanje do temperature od 190 °C, u trajanju od 10 min, pri snazi od 1300 W.

**Razaranje uzoraka je nastavljeno na temperaturi od 190 °C narednih 12 minuta**

1

. Nakon završetka prve faze mikrotalasnog razaranja i hlađenja uzoraka, uzorcima je dodato

**10 ml 4% (w/v) rastvora borne kiseline (H3BO3) (99.97%, Trace metals basis, Sigma?Aldrich )**,  
zatim su uzorci **podvrgnuti** drugoj fazi **mikrotalasnog razaranja. U**

1

drugoj fazi mikrotalasnog razaranja uzorci se zagrijavaju do temperature od 170 °

**C, u trajanju od 10 min, pri snazi od 1300 W. Nakon**

48

završetka druge faze 60 mikrotalasnog razaranja uzorcima je dodato još 10 ml 4% H3BO3, zatim su uzorci kvantitativno prenijeti u polipropilenske bočice i dopunjeni dejonizovanom vodom do 30 ml. U cilju provjere tačnosti uz svaku seriju uzoraka pripremljene su dvije slijepe probe i standardni referentni materijal (SRM),

**razlika je što se kod slijepe probe ne dodaje uzorak u**

1

teflonske kivete, dok je SRM

**pripremljen na isti način kao i uzorci. Korišćeni SRM za**

1

morski sediment je IAEA 158, IAEA 456 i IAEA 458 –

**Međunarodna agencija za atomsku energiju, Monako (engl. International Atomic Energy Agency).**  
**Slika**

1

4.10 Postupak pripreme uzoraka za mikrotalasnu razgradnju i mikrotalasna pećnica Anton Paar, Multiwave PRO 4.3.2  
Priprema uzorka riba za analizu teških metala Priprema uzoraka, kao i analiza teških metala u mišićnom tkivu riba (barbuna i oslića) obavljani su u laboratoriji Centra za ekotoksikološka ispitivanja (CETI) u Podgorici prema standardnim metodama MEST EN 14084:2009 i prema laboratorijskom priručniku IAEA agencije (Međunarodna agencija za atomsku energiju), Laboratorija za morski ekosistem iz Monaka (IAEA, 2015). U cilju smanjenja mogućnosti kontaminacije,

**upotrijebljeno laboratorijsko posuđe je prethodno isprano 10% (v/v) HNO<sub>3</sub>** . Priprema uzoraka riba

1

**za**

analizu teških metala sastojala se iz sledećih postupaka: disekcija i homogenizacija, kao i razaranje uzoraka riba. Disekcija Nakon uzorkovanja, riba je oprana vodom, a zatim ostavljena da se osuši na listu papira. Koža, kosti i stomačni sadržaj su odstranjeni i odbačeni. U ovoj studiji je analizirano mišićno tkivo ispitivanih vrsta riba na prisutvo teških metala. Prilikom disekcije posebno se vodilo računa da se ne povrijedi trbušni zid, kako bi se spriječila kontaminacija mišićnog tkiva sa crijevnim sadržajem. Mišićni dio, bez kože i kostiju je homogenizovan. Razaranje uzoraka riba za analizu metala Homogenizovana mišićna tkiva ribe su tretirana koncentrovanom nitratnom kiselinom (HNO<sub>3</sub>) (> 68%, PrimarPlus – Trace analysis grade, Fisher Chemical) u kombinaciji sa vodonik peroksidom (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (> 30%, Analytical reagent grade, Fisher Chemical) u zatvorenim teflonskim kivetama. U teflonske kivete za digestiju odvagano je po 1 g homogenizovanog uzorka, dodato 5 ml HNO<sub>3</sub>, a nakon sat vremena 2 ml H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Uređaj za mikrotalasnu digestiju (Speedwave Xpert, Berghof) koji je primjenjen za razaranje uzoraka riba prikazan je na Slici 4.11. U svakoj digestiji (razgradnji) uz uzorke uređene su dvije slijepe probe pripremljene na isti način kao i uzorci, sa jedinom razlikom da se u teflonske kivete ne dodaje uzorak. Uporedo je pripremljen i standardni referentni material, odvagano je 200 mg standardnog referentnog materijala (SRM) IAEA 407 i IAEA 436 ? Međunarodna agencija za atomsku energiju, Monako u tri replike, i pripremljeno na isti način kao i uzorci. Kivete su zatvorene i ostavljene na sobnoj temperaturi preko noći. Sledećeg dana uzorci

**su podvrgnuti postupku** mikrotalasne digestije **uz postepeno zagrijavanje (u trajanju od** 5 **min) do temperature od** 170 ° C , i pritisku **od** 35 bara. Poslije **postizanja zadate temperature, razaranje uzoraka je nastavljeno na temperaturi od 190 °C narednih** 15 **minuta**

1

, a zatim je vršeno hlađenje na temperaturi do 50 °C narednih 10 minuta. Nakon digestije posude su ohlađene do sobne temperature i sadržaj je kvantitativno prebačen u polipropilenske bočice. Slika 4.11 Mikrotalasna pećnica, Speedwave Xpert, Berghof (<https://www.berghof-instruments.com>) 4.3.3 Hemijske analize teških metala Metodom plamene atomske apsorpcione spektrometrije (eng. Flame Atomic Absorption Spectroscopy ? F?AAS) vršena su mjerenja koncentracija Fe, Mn, Zn, Cu, Pb, Cr, Ni u uzorcima sedimenta, dok je hidridna tehnika atomske apsorpcione spektrometrije (eng. Hydride Generation Atomic Absorption Spectrophotometry – HG?AAS) primijenjena za određivanje koncentracija Hg u uzorcima sedimenta. Koncentracije As u uzorcima sedimenta i koncentracije Fe, Mn, Zn, Cu, Cr, Ni, As u mišićnom tkivu barbuna i oslića određene su upotrebom induktivno spregnute

**plazme sa optičkom emisionom spektrometrijom (engl. Inductively coupled plasma – optical emission spectrometry ICP?OES**

1

). Koncentracije Cd u uzorcima sedimenta, kao i koncentracije Cd i Pb u mišićnom tkivu riba izmjerene su

**primjenom grafitne tehnike atomske apsorpcione spektrofotometrije (engl. graphite furnace atomic absorption spectrometry, GF-AAS)**

1

). Živa je u uzorcima ribe

**izmjerena primjenom direktnog živinog analizatora (engl. direct mercury analyzer, DMA)**

1

). 63 Uporedo sa svakom serijom uzoraka sedimenta i ribe određivana je koncentracija u sertifikovanim referentnim materijalima. U Tabeli 4.3 je dat prikaz poređenja sertifikovanih (S) i izmjerenih (I) koncentracija teških metala u uzorcima sedimenta i ribe u standardnim referentnim materijalima. Tabela 4.3 Poređenje sertifikovanih i izmjerenih koncentracija teških metala u sedimentu (IAEA 158, 456, 458) i mišićnom tkivu riba (IAEA 407, 436) u standardnim referentnim materijalima, tokom cijelog perioda istraživanja, izraženo u mg/kg Teški S I S I S I S I metali IAEA 158 IAEA 456 IAEA 458 IAEA 407 IAEA 436 Hg 0.132 0.151 / / / / 0.222 0.223 / / Pb 38.0 43.7 / / / / 0.12 0.121 / / Cr 71.0 68.73 / / / / 0.73 0.737 0.194 0.195 Cu 47.9 43.11 / / / / 3.28 3.24 1.73 1.73 Fe 25800 26574 / / / / 147 134 89.3 87.4 Mn 350 353.5 / / / / 3.52 3.33 0.238 0.23 Ni 29.4 21.34 / / / / 0.6 0.55 0.069 0.05 Zn 138 120.75 / / / / 67.1 64.5 19 18.2 As / / 6.14 6.6 10.0 10.4 12.6 12.5 1.98 1.97 Cd / / 0.198 0.189 0.49 0.475 0.189 0.187 0.052 0.052 S – sertifikovano; I – izmjereno 4.3.3.1 Plamena atomska apsorpciona spektrometrija (F?AAS) F?AAS je vrlo precizna kvantitativna i kvalitativna tehnika koja se veoma često primjenjuje za određivanje sadržaja metala u tragovima. Zasniva se na mjerenju koncentracije hemijskih elemenata prisutnih u uzorcima okoline na osnovu apsorbovanog zračenja elementa od interesa. Najčešće korišćeni olamen u F?AAS je vazduh/acetilen sa temperaturom od oko 2300 °C. Rastvor uzorka se usisava pneumatskim analitičkim raspršivačem, a joni metala prisutni u rastvoru se u plameniku prevode u atomsko stanje. Zračenje prolazi kroz plamen, a brzina protoka plamenih gasova može se prilagoditi tako da se proizvodi najveća koncentracija slobodnih atoma. Visina plamenika takođe se može prilagoditi tako da zračenje prolazi kroz zonu najveće gustine atoma u plamenu, što rezultira najvećom osjetljivošću. Svjetlost koja je usmjerena u plamen proizvodi šuplja katodna lampa, unutar koje se nalaze katoda u obliku čašice koja je obično napravljena od volframa i prevučena slojem metala čiji atomski emisijski spektar treba da emituje i anoda u obliku šipke od volframa. Kroz atomsku paru propušta se zrak svjetlosti identične

**talasne dužine kao što je ona koja odgovara najintenzivnijoj ( rezonantnoj) liniji elementa**

3

**Atomi nekog elementa će apsorbovati samo onu energiju koja omogućava prelaz elektrona sa nižeg na više energetska stanje**

3



. Koncentracija se obično određuje iz kalibracione krive, dobijene primjenom standarda poznate koncentracije. U ovoj doktorskoj disertaciji primjenjivana je plamena tehnika (F?AAS), Shimadzu AA 7000 Slika 4.12. Slika 4.12 Atomski apsorpcioni spektrofotometar, Shimadzu AA 7000 (F?AAS) 4.3.3.2 Hidridna tehnika atomske apsorpcione spektrometrije (HG?AAS) HG?AAS se koristi pri kvalitativnom i kvantitativnom određivanju lako isparljivih elemenata koji grade isparljive hidride. Metali u rastvoru reaguju u kiseloj sredini (hlorovodonična kiselina – HCl) sa natrijum borohidridom (NaBH<sub>4</sub>, redukujući reagens) pri čemu dolazi do formiranja isparljivih jedinjenja (metal?hidrida). Isparljivi hidrid se zatim inertnim gasom (argonom) prenosi u kvarcnu cijev, postavljenu na optički put AAS gdje se metal?hidridi atomizuju i mjeri njihov analitički signal. Navedena tehnika primjenjena je za određivanje koncentracije žive u uzorcima sedimenta.

**Tehnika se zasniva na osobini žive da ima visok napon pare (lako isparava) na sobnoj temperaturi i da**

7

je njena para stabilna. Potrebno je Hg(II) ili Hg(I) redukovati do Hg<sup>0</sup> i nakon toga

**paru strujom inertnog gasa unijeti u atomizer. Prvo se ispitivani rastvor tretira jakim oksidacionim sredstvom da bi se cjelokupna živa prevela u stanje Hg(II).** Živa se zatim u

7

zatvorenom sistemu redukuje uz pomoć NaBH<sub>4</sub>

**do elementarne žive. Živine pare se kvantitativno oslabađaju iz rastvora pomoću inertnog gasa i prenose u**

7

kvarcnu cijev postavljenu na optički put AAS pri čemu se mjeri analitički signal (Perošević?Bajčeta, 2020). Na Slici 4.13 predstavljen je dodatak za generator pare (Shimadzu HVG?1) Shimadzu AA7000. Slika 4.13 Generator pare HVG?1, Shimadzu AA7000 4.3.3.3 Induktivno

**spregnuta plazma sa optičkom emisionom spektrometrijom (ICP?OES) ICP?OES je analitička tehnika koja**

33

se zasniva

**na činjenici da atomi elemenata postaju pobuđeni primajući energiju od induktivno spregnute plazme, a pri ponovnom povratku u**

7

**osnovno stanje emituju elektromagnetno zračenje čije su talasne dužine karakteristične za svaki element pojedinačno** (Perošević?Bajčeta, 2020). **Spektrometar razlaže emitovano zračenje prema talasnim dužinama, a intenzitet zračenja** na talasnoj dužini **je proporcionalan koncentraciji**

1

elemenata u uzorku (Stalović i Đorđević, 2013). Plazma se generiše na kraju kvartovskog gorionika ohlađenim indukcionim kalemom kroz koji prolazi visokofrekventna naizmjenična struja. Zbog sudara između atoma argona (Ar) i elektrona dolazi do jonizacije, što daje stabilnu plazmu.

**Plazma je elektro?neutralan, visoko jonizovan gas Ar koji se sastoji od jona, elektrona i atoma. Tečni uzorci se pomoću raspršivača prevode u aerosol i kao takvi uvode u plazmu**

1

. Plazma ima visoku elektronsku gustinu i izuzetno visoku temperaturu. U gorioniku se vrši desolvatacija, atomizacija i jonizacija uzorka (Cazes, 2005; Perošević?Bajčeta, 2020). Ove instrumente karakteriše visoka preciznost i osjetljivost, mogućnost simultane multielementarne analize, niski detekcioni limiti (1?100 ppb) i širok dinamički opseg linearnosti za mnoge elemente, analize relativno kratko traju, a mjerenja su visoke tačnosti i preciznosti. Velika prednost je i mali broj interferenci (Milošković, 2016). Instrument upotrijebljen za mjerenja u ovom istraživanju je ICP?OES, Thermo iCAP 7400 Duo 7400, Slika 4.14. Slika 4.14 ICP?OES, Thermo iCAP7400 Duo 7400 (<https://static.thermoscientific.com>) 4.

**3.3.4 Grafitna tehnika atomske apsorpcione spektrofotometrije (GF?AAS) Koncentracija Cd i Pb u**

1

mišićnom tkivu barbuna i oslića, kao i koncentracije Cd u sedimentima određena su grafitnom tehnikom atomske apsorpcione spektrofotometrije (GF?AAS). Elektrotermalni atomizer se u GF?AAS koristi za atomizaciju uzoraka. Ova vrsta atomizera predstavlja malu peć

**napravljen od grafita prevučenog pirolitičkim grafitom, koji se zagrijava pomoću električne struje**

1

. U atomizer se injektira uzorak, koji

**se prvo suši na temperaturi od 100 °C**, a **zatim se** zagrijava **na višim temperaturama u cilju spaljivanja uzoraka** gdje **se organske supstance** razaraju, **a neorganske pirolizuju**

1

. Da bi se spriječilo rasipanje svjetlosti,

**dim koji pri tome nastaje odvodi se strujom inertnog gasa (Ar ). Na kraju se uzorak termički atomizuje na**

1

visokoj temperaturi (do 3000 °C) (Arora i Banoth, 2014). Kao modifikator matrice je korišćen 67 (Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> i Pd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>) u cilju smanjenja efekta interferenci,

**prilikom upotrebe grafitne tehnike za određivanje sadržaja Cd i Pb u uzorcima**

1

. Vršeno je postepeno

**zagrijavanje grafitne kivete u cilju sušenja, spaljivanja i atomizacije uzoraka sedimenta**

1

. Granice detekcije za grafitnu tehniku su ppb za većinu elemenata. Upotrebom grafitne tehnike može se odrediti većina elemenata mjerljivih aspiracijskom atomskom apsorpcijom u širokom spektru matrica. Priprema i analize uzoraka na GF?AAS vršene su prema standardnoj metodi MEST EN 14084:2009. Na Slici 4.15. je prikazan atomski apsorpcioni spektrofotometar sa grafitnom tehnikom upotrijebljen za mjerenja uzoraka (Shimadzu AA 6800). Slika 4.15 Atomski apsorpcioni spektrometar, Shimadzu AA 6800 sa grafitnom tehnikom .3.3.5 Direktni analizator žive (DMA) Sadržaj žive u uzorcima ribe i referentnom materijalu, određen je primjenom direktnog Hg analizatora (Advanced Mercury Analyzer AMA 254, Altec, Leco), Slika 4.16. Živin analizator specijalno je dizajniran za određivanje Hg pri niskim koncentracijama i u tečnim i u čvrstim uzorcima bez prethodne pripreme.

**Ova metoda se zasniva na termičkoj razgradnji, amalgamaciji i atomskoj apsorpcionoj spektrometriji**

1

. Rad instrumenta može se podijeliti u tri faze analize: razlaganje, sakupljanje i identifikacija. U prethodno očišćene i izžarene niklovane lađice, odvagnu je po 100 mg uzorka, i po dvije probe od svakog uzorka. Živa se

**iz uzoraka oslobađa termičkim razlaganjem u peći ispunjenoj kiseonikom, u kojoj su prethodno ti uzorci osušeni. Jedan dio proizvoda sagorijevanja biva elimisan u kataličkom dijelu peći , dok se ostatak prenosi do amalgamatora gdje se Hg odvaja zahaljujući procesu amalgamacije sa Au . Zatim se sistem ispira kiseonikom da bi se uklonili zaostali gasovi i proizvodi razlaganja, nakon čega se amalgamator brzo zagrijava, oslobađajući pare Hg. Oslobođena Hg se strujom O<sub>2</sub> prenosi do atomskog apsorpcionog spektrofotometra, gdje se vrši kvantitavna analiza**

1

(Perošević?Bajčeta, 2020). Slika 4.16 Direktni Hg analizator (Advanced Mercury Analyzer AMA 254, Altec, Leco) 4.3.4 Indeks opterećenja zagađenjem U cilju određivanja nivoa zagađenja teškim metalima u sedimentu, korišćena su dva indeksa zagađenja: indeks opterećenja zagađenjem i indeks geoakumulacije. Indeks opterećenja zagađenjem (eng. Pollution Load Index ? PLI) predstavlja pokazatelj kvaliteta posmatrane životne sredine, u ovom slučaju sedimenta, u odnosu na koncentraciju teških metala u uzorku (Joksimović i dr., 2020). Ovaj indeks se može protumačiti kao ocjena sveobuhvatnog zagađenja metalima u datom uzorku na datoj lokaciji. PLI se računa prema formuli Tomlinson i dr. (1980):  $PLI = \sqrt[n]{CF_1 \times CF_2 \times \dots \times CF_n}$  Pri čemu je CF ? faktor kontaminacije (eng. Contamination factor) koji se izračunava iz sledećeg odnosa:  $CF = C_{metala} / C_{background}$   $C_{metala}$  – koncentracija metala u sedimentu  $C_{background}$  – pozadinska vrijednost metala n – broj ispitivanih metala Stepen kontaminacije za vrijednosti PLI i CF predstavljeni su u Tabeli 4.4, dok su pozadinske vrijednosti teških metala prikazane u Tabeli 4.5. Tabela 4.4 Stepen kontaminacije za vrijednosti PLI, CF (Tomlinson i dr., 1980; Hakanson, 1980) PLI Stepen kontaminacije CF Stepen kontaminacije < 1 > 1

<b>CF &lt; 1 1 ≤ CF ≤ 3 3 ≤ CF ≤ 6 CF ≥ 6</b>	<b>50</b>
---	-----------

Neznatna kontaminacija Umjerena kontaminacija Jaka kontaminacija Ekstremna kontaminacija Tabela 4.5 Srednje pozadinske vrijednosti ispitivanih metala u sedimentu južnog Jadrana (mg/kg suvog sedimenta) (Dolnec i dr., 1998) Pozadinske vrijednosti As Hg Pb Cr Mn Fe Cu Zn Ni Cd\* Južni Jadran 9.1 0.133 11 110 1079 29600 34.7 76 128 0.3 \* Turekian i Wedepohl, 1961 4.3.5 Geoakumulacioni indeks Geoakumulacioni indeks (eng. Index of geoaccumulation ? Igeo) obuhvata različite stepene obogaćenja iznad pozadinske vrijednosti metala, u rasponu od nezagađenih do ekstremno zagađenih sedimenata, razvio ga je Muller (1969). Igeo predstavlja zagađenje kao posledicu prirodnih i / ili ljudskih aktivnosti, računa se prema formuli:

<b>Igeo = log2 [ Cn ] 1.5 Bn Cn – koncentracija metala Bn – geohemijska</b>	<b>5</b>
---	----------

pozadinska vrijednost metala 1.5 – konstanta, koristi se kao korekcionni koeficijent za prirodna kolebanja pozadinskih vrijednosti kao i za vrlo male antropogene uticaje Klase i stepen kontaminacije za vrijednosti Igeo predstavljene su u Tabeli 4.6. Tabela 4.6 Klase i stepen kontaminacije za vrijednosti Igeo (Muller, 1969) Klasa Igeo Stepen kontaminacije 0 Igeo ≤ 0 Nezagađen 1 0 < Igeo ≤ 1 Neznatno zagađen 2 1 < Igeo ≤ 2 Umjereno zagađen 3 2 < Igeo ≤ 3 Umjereno do jako zagađen 4 3 < Igeo ≤ 4 Jako zagađen 5 4 < Igeo ≤ 5 Jako do ekstremno zagađen 6 Igeo > 5 Ekstremno zagađen 4.3.6 Koeficijent rizika i indeks opasnosti Rizik po zdravlje čovjeka izazvan unošenjem teških metala konzumiranjem riba barbuna i oslića na crnogorskom primorju, procijenjen je upotrebom koeficijenta rizika (engl. Target hazard quotient ? THQ). Koeficijent rizika (THQ) predstavlja odnos između referentne doze (RfD) i izmjerene koncentracije, u zavisnosti od dužine i vremena učestalosti ekspozicije, količine unosa kao i tjelesne težine (USEPA, 1989). THQ opisuje nekancerogeni zdravstveni rizik koji predstavlja izloženost odgovarajućem toksičnom elementu, a izračunava se preko jednačine (USEPA, 2005):  $THQ = EF \cdot ED \cdot MS \cdot C \cdot 10^{-3} / RfDo \cdot BW \cdot AT$  EF – učestalost izloženosti (365

**dana godišnje); ED – trajanje izloženosti, prosječan ljudski životni vijek (70 godina); MS – veličina porcije**

1

ribe (standardna stopa potrošnje ribe iznosi 17.5 g/dan za opštu populaciju (USEPA, 2000)); C – koncentracija ispitivanog elementa u ribi (mg/kg mokrog uzorka); RfDo –

**Referentna doza (engl. reference dose ? RfD) je procjena dnevne izloženosti ljudske populacije određenom agensu bez značajnog rizika od štetnih**

25

efekata tokom životnog vijeka (USEPA, 1993). Vrijednosti oralne referentne doze (RfDo) za teške metale preuzete su od strane USEPA, 2000, 2019 i predstavljene su u Tabeli 4.7. BW – tjelesna masa odraslog čovjeka (70 kg); AT – prosječno vrijeme izloženosti (EF · ED). Tabela 4.7 Oralne referentne doze (RfDo) teških metala (USEPA, 2000, 2019) Metali As Hg Cd Pb Cr Ni Mn Zn Fe Cu RfDo (mg/kg·dan) 0.0003 0.0001 0.001 0.0035 0.003 0.02 0.14 0.3 0.7 0.04 Indeks opasnosti ili rizika (engl. hazard index, HI), korišćen je za procjenu rizika po zdravlje ljudi pomoću kojeg

**se ocjenjuje zajednički uticaj većeg broja elemenata. Indeks opasnosti se izračunava sabiranjem THQ vrijednosti za sve pojedinačne elemente**

1

(USEPA, 2005):  $HI = THQ1 + THQ2 + THQ3 + \dots + THQn$

**gdje je THQ1 koeficijent rizika pojedinačnog elementa, a n je broj ispitivanih elemenata (u ovom istraživanju n = 10). Kada je vrijednost HI**

1

< 1, ne postoji očigledan rizik od supstance tokom izloženosti čitavog životnog vijeka, međutim ukoliko je vrijednost HI > 1, može postojati opasnost ili štetan efekat po ljudsko zdravlje (USEPA, 1989). 4.4 Analiza mikroplastike u uzorcima sedimenta i ribe Postupak pripreme uzoraka sedimenta i ribe za analizu mikroplastike obavljani su najvećim dijelom u laboratorijama Morske biološke postaje u Piranu, Slovenija, i manjim dijelom u

**Laboratoriji za hemiju mora i okeanografiju Instituta za biologiju mora u Kotoru**

1

. Nakon uzimanja uzoraka, u cilju kvantifikacije i identifikacije MPs, neophodno je ekstrahovati MPs sadržanu u uzorcima sedimenta i ribe. Tehnike ekstrakcije MPs iz uzoraka od drugih neželjenih komponenti su: disekcija (odnosi se na ribe), zamrzavanje i sušenje, razdvajanje gustine (odnosi se na sediment), prosijavanje, filtracija i razgradnja organske materije. Na Slici 4.17 dat je šematski prikaz cjelokupne analize mikroplastike u uzorcima sedimenata i ribe. Neda

Bošković Slika 4.17 Šematski prikaz cjelokupne analize mikroplastike u uzorcima sedimenata (a) i ribe (b) 73 4.4.1 Ekstrakcija mikroplastike iz uzoraka sedimenta i ribe Disekcija (ribe) Nakon uzorkovanja (ulova), riba je transportovana u laboratoriju gdje je izmjerena masa, dužina, određen pol, a zatim je riba otvorena na metalnoj tacni primjenom metalnih makaza, skalpela i pincete. Svakoj ispitivanoj jedinki izvađen je GIT od jednjaka do kraja crijeva. Svaki uzorak (želudac) je zapakovan zasebnim u aluminijskim folijama sa adekvatnim informacijama: mjesto uzorkovanja i datum, biološki parametri ribe (vrsta ribe, dužina (mm), težina (g), pol (M/F)). Uzorci su odloženi u zamrzivaču na  $-18^{\circ}\text{C}$  do dalje analize. Zamrzavanje i sušenje uzoraka Zamrznuti uzorci ribe (želuci) su prenijeti u staklene čaše, prekriveni aluminijskim folijama u cilju sprečavanja kontaminacije i podvrgnuti postupku hladnog sušenja pod vakumom na  $-40^{\circ}\text{C}$  tokom 48 h. Takođe, na isti način uzorci sedimenta su podvrgnuti postupku hladnog sušenja u liofilizatoru, CHRIST, Alpha 2?4 LD. Osušeni uzorci riba su odmah podvrgnuti procesu razgradnje organske materije, dok su suvi uzorci sedimenta do sledeće analize čuvani u staklenim teglama, Slika 4.18. Slika 4.18 Suvi uzorci sedimenta Razdvajanje gustine (sediment) Razdvajanje gustine je jednostavna tehnika koja se zasniva na razlici u gustini između materijala od interesa i drugih neželjenih materijala. Razdvajanje gustine je uobičajna tehnika za ekstrakciju MPs iz uzoraka sedimenta (Hidalgo?Ruz i dr., 2012; Mai i dr., 2018). Upotrebom odgovarajućeg rastvora, MPs manje gustine će lebdjeti / „plutati“ u vodenoj fazi, dok će se čestice veće gustine, poput zrna pijeska, istaložiti na dno (Löder i Gerdts, 2015), Slika 4.19. Najčešće korišćen rastvor soli za tehniku razdvajanje gustine je zasićeni rastvor natrijum hlorida (NaCl,  $1.202\text{ g/cm}^3$ ) (Thompson i dr., 2004). NaCl se koristi za ekstrakciju MPs niske gustine kao što je polietilen (PE,  $0.965\text{ g/cm}^3$ ), polipropilen (PP,  $0.94\text{ g/cm}^3$ ) i polistiren (PS,  $1.1\text{ g/cm}^3$ ) (Thompson i dr., 2004; Zobkov i Esiukova, 2018). Prednosti upotrebe NaCl u procesu razdvajanja gustine u uzorcima sedimenta su: uporedivost sa prethodnim istraživanjima, lako rukovanje, lako taloženje netoksičnog rastvora i ekonomičnost za pripremu velikih količina zasićenog rastvora (Van Cauwenberghe i dr., 2015; Hanvey i dr., 2017). Nedostatak razdvajanja gustine sa NaCl je ograničena maksimalna gustina rastvora ( $1.202\text{ g/cm}^3$ ) što može predstavljati problem za ekstrakciju sintetičkih polimera visoke gustine kao što su polivinilhlorid (PVC,  $1.7\text{ g/cm}^3$ ) i polietilen tereftalat (PET,  $1.6\text{ g/cm}^3$ ) (Wang i Wang 2018). Slika 4.19 Uzorci prije i nakon razdvajanja gustine (taloženja) Pored natrijum hlorida (Thompson i dr., 2004), u procesu razdvajanja gustine kod uzoraka sedimenta koriste se i rastvori soli visoke gustine kao što su natrijum jodid (NaI,  $1.8\text{ g/cm}^3$ ) i cink hlorid ( $\text{ZnCl}_2$ ,  $1.7\text{ g/cm}^3$ ). Navedeni rastvori soli su se pokazali uspješnim za ekstrakciju MPs visoke gustine kao što su PVC i PET (Liebezeit i Dubaish, 2012; Vianello i dr., 2013; Nuelle i dr., 2014). Soli visoke gustine su teže za rukovanje, uglavnom su skupe, a neke su i štetne po životnu sredinu (Claessens i dr., 2013; Nuelle i dr., 2014). Ponavljanje postupka ekstrakcije je još jedan efikasan način za postizanje bolje ekstrakcije MPs iz uzorka sedimenta (Nuelle i dr., 2014). U cilju postizanja veće efikasnosti ekstrakcije i minimiziranja zagađenja okoline, preporučuje se ponovna upotreba rastvora soli i ponavljanje postupka ekstrakcije. Za proces razdvajanja gustine u ovom radu korišćena je metoda koju su predložili Thompson i dr. (2004). Ova metoda se zasniva na upotrebi zasićenog rastvora NaCl (koncentracija

**5.475 mol/L** , gustina **1.2 g /cm<sup>3</sup>**, rastvorljivost **360 g** u **1 L**

38

vode). U 100 g suvog uzorka sedimenta dodato je 400 ml rastvora NaCl nakon čega se suspenzija intezivno mućkala 2 minuta, a zatim ostavljena 24 h na sobnoj temperaturi. Nakon 24 h, supernatant je dekantovan kroz čelično sito. Ostatak (talog), za svaki uzorak, je ponovo podvrgnut procesu razdvajanja gustine. Prosijavanje i filtracija I prosijavanje i filtracija su tehnike koje se primjenjuju i za uzorke sedimenta i za uzorke biote (ribe, školjke) i primjenjuju se nakon procesa

razdvajanja gustine kao i nakon procesa razgradnje organske materije. Prosijavanje je često korišćena tehnika za ekstrakciju MPs. Sito fizički zadržava čvrste materijale koji su veći od veličine mreže i omogućava uklanjanje vode i manjih čestica iz uzorka. Veličina mreže sita uglavnom zavisi od željene veličine raspona MPs koja se sakuplja, a većina se kreće od 0.035 do 4.75 mm (Hidalgo-Ruz i dr., 2012; Van Cauwenberghe i dr., 2013). Sita su obično izrađena od metala, poput nerđajućeg čelika ili bakra (Zobkov i Esiukova, 2018). Prosijavanjem se smanjuje zapremina uzorka za naknadnu ekstrakciju MPs (Löder i Gerdt, 2015). Da bi se minimizirao gubitak MPs na zidovima sita, preporučuje se detaljno ispiranje sita sa dejonizovanom vodom (Zobkov i Esiukova, 2018). Upotrijebljena sita su izgrađena od nerđajućeg čelika, dok je veličina pora sita iznosila 63  $\mu\text{m}$ . Nakon prosijavanja uzoraka, sita su isprana sa 200 ml dejonizovane vode u cilju sprječavanja gubitka MPs. Nakon prosijavanja slijedi filtracija (Slika 4.20). Slika 4.20 Vakum filtracija

Filtracija je efikasna tehnika koja se obično koristi za odvajanje MPs od tečnosti. Najčešće korišćeni filteri koji se koriste za filtraciju uzorka su staklena vlakna (Hidalgo-Ruz i dr., 2012; Hanvey i dr., 2017; Zobkov i Esiukova, 2018). Veličina pora filtera uglavnom varira 0.45 do 20  $\mu\text{m}$  (Wang i dr., 2017). Da bi se minimizirao gubitak MPs, preporučuje se ispiranje zidova laboratorijske opreme za filtraciju sa dejonizovanom vodom na filtru više puta tokom procesa filtracije (Zobkov i Esiukova, 2018). Uzorci su filtrirani na staklenim filterima (GF/C Glass Microfiber Filters, 1.2  $\mu\text{m}$ , 4.7 cm, Whatman 1822-047) pomoću vakum pumpe. Zidovi aparata za filtraciju su isprani sa 100 ml dejonizovane vode, a zatim su filter papiri prenijeli pincetom u staklene Petrijeve posude u kojima su se osušili. Razgradnja organske materije

Uzorci prikupljeni iz prirodnog okruženja sadrže određene količine organskih materija, kao što su zooplankton, fitoplankton, ostaci organizma ili biofilmi, što može ometati tačnu identifikaciju i karakterizaciju MPs. Razgradnja organskog / biološkog materijala u uzorcima je neophodna kako bi se smanjila mogućnost pogrešne identifikacije sitnih plastičnih čestica. Digestija je proces koji ima za cilj razgradnju organskih materija u uzorcima životne sredine, što se može postići hemijskim reakcijama primjenom oksidatora, kiselina, alkalija ili enzimskim reakcijama (Zobkov i Esiukova, 2018). Izbor odgovarajuće hemikalije koja efikasno razgrađuje organsku materiju bez degradacije plastičnih polimera je veliki izazov. Svi uzorci riba podvrgnuti su procesu razgradnje organske materije, dok razgradnja organske materije nije neophodna za sve 77 uzorke sedimenta, ona zavisi od prirode sedimenta kao i od mjesta uzorkovanja. Na lokacijama Tivat, Herceg Novi, Žanjice i Budva, razgradnja organske materija u uzorcima sedimenta bila je neophodna, zbog velikog sadržaja biljnog i životinjskog materijala. U cilju izbora najefikasnijeg protokola ekstrakcije MPs iz sedimenta i iz ribljeg tkiva, primijenjeno je više različitih protokola koji su predloženi u literaturi:

• Protokol 1. Oksidativna digestija primjenom 30% vodonik peroksida ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). Upotreba 30%  $\text{H}_2\text{O}_2$  predstavlja najčešće korišćenu metodu za razgradnju organske materije u sedimentima (Wang i Wang, 2018). Suvi uzorci sedimenta nakon filtracije su prenijeti u staklene čaše i tretirani sa 20 ml 30%  $\text{H}_2\text{O}_2$  na temperaturi oko 50  $^\circ\text{C}$  tokom 120 min.

• Protokol 2. Kisela digestija primjenom azotne kiseline ( $\text{HNO}_3$ ).  $\text{HNO}_3$  je jaka kiselina sposobna za molekularno cijepanje i brzu razgradnju, zbog čega je i jedna od najkorišćenijih agenasa za digestiju organskog materijala (Van Cauwenberghe i Janssen, 2014; Van Cauwenberghe i dr., 2015; Lu i dr., 2016). Nakon filtracije, osušenim uzorcima sedimenta dodato je 20 ml 65%  $\text{HNO}_3$  a zatim su uzorci zagrijani 120 min na temperaturi oko 70  $^\circ\text{C}$ . Optimalni proces digestije u uzorcima riba zasnivao se na izlaganju GIT-a ribe sa 20 ml 65%  $\text{HNO}_3$  na temperaturi od oko 80  $^\circ\text{C}$  tokom 120 min.

• Protokol 3. Kisela digestija primjenom smješe azotne i perhlorne kiseline u odnosu 4:1 ( $\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$ ). De Witte i dr. (2014) predložili su primjenu smješe kiselina ( $\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$ ) za razgradnju biogenog materijala. Izuzetno uspješna metoda uključuje kiselu mješavinu 68%  $\text{HClO}_4$  i 65%  $\text{HNO}_3$ , koja može potpuno ukloniti biološka tkiva i druge prirodne ostatke, gdje nakon digestije ostaju samo plastika i silicijum dioksid (Vandermeersch i dr., 2015). Ova metoda se pokazala veoma uspješnom i izuzetno primjenljivom i efikasnom kako na uzorcima biote (De Witte i dr., 2014; OSPAR, 2015), tako i na uzorcima sedimenta uz određene modifikacije.

Osušeni filteri sa sedimentom prenijeti su pincetom u čaše, zatim tretirani sa 20 ml smješe kiselina HNO<sub>3</sub> i HClO<sub>4</sub> u odnosu 4:1, 120 min na temperaturi oko 70 °C. U staklenim čašama u kojima se nalaze GIT riba dodato je 20 ml smješe kiselina, uzorci su zagrijavani na temperaturi od oko 80 °C tokom 120 min. ? Protokol 4. Bazna digestija primjenom 10% kalijum hidroksida (KOH). Jake baze se uspješno mogu koristiti za uklanjanje biogenog materijala hidrolizom hemijskih veza i denaturacijom proteina (Lusher i dr., 2017). GIT riba digestirani su pomoću 10% KOH (Dehaut i dr., 2016). GIT svake jedinice prenijet je u odvojenu staklenu čašu u koju je dodato 20 ml 10% rastvora KOH. Uzorci su inkubirani na sobnoj temperaturi 48h, a zatim 120 min na temperaturi od oko 70 °C. Poređenjem sprovedenih protokola, najefikasniji protokol za razgradnju organske materije u uzorcima sedimenta zasniva se na primjeni smješe azotne i perhlorne kiseline (HNO<sub>3</sub> + HClO<sub>4</sub>, 4:1), dok se najefikasniji protokol za razgradnju biogenog materijala u GIT?u riba zasniva na primjeni 10% rastvora KOH. Primjenom Protokola 3, izvršena je efikasna razgradnja organske materije (oko 80%) u uzorcima sedimenta bez značajnog efekta „žute plastike“ i bez značajnog uticaja na degradaciju plastičnih polimera. Mnogi autori preporučuju primjenu 10% rastvora KOH (Protokol 4), kao najboljeg kompromisa za ekstrakciju MPs iz tkiva školjki, rakova i riba, kao i za primjenu u daljnim studijama kako bi se osigurala relevantnost, pouzdanost informacija i uporedivost rezultata (Foekema i dr., 2013; Rochman i dr., 2015; Dehaut i dr., 2016). Iz navedenih razloga u eksperimentalnom radu, za ekstrakciju MPs iz sedimenta i GIT?a riba primjenjeni su Protokoli 3 i 4.

#### 4.4.2 Identifikacija mikroplastike

Nakon terenskog sakupljanja (uzorkovanja) i ekstrakcije MPs iz uzoraka sedimenta i ribe, ciljna MPs se mora tačno identifikovati. Najčešće korišćen pristup za identifikaciju MPs je vizuelna identifikacija moguće plastike praćena hemijskom analizom polimernog sastava.

##### 4.4.2.1 Vizuelna identifikacija mikroplastike

U ovom radu uzorci su analizirani korišćenjem mikroskopa da bi se vizuelno identifikovala MPs i odredio oblik, boja, veličina i tekstura MPs prisutne u uzorcima. Vizuelna analiza MPs izvedena je korišćenjem Olympus SZX16 optičkog mikroskopa (DP?Soft softver), a slike MPs snimljene su pomoću softvera ImageJ (verzija 2.0.0) (Slika 4.21). Vizuelna identifikacija je najjednostavnija i najčešće korišćena tehnika za identifikaciju MPs koja se može postići posmatranjem golim okom ili uz pomoć optičkog mikroskopa (Karapanagioti i Klontza, 2007; Gilfillan i dr., 2009; Van Cauwenberghe i dr., 2013). Vizuelna metoda se često koristi u metodološkim pristupima za početno nabranje i identifikaciju (Hidalgo?Ruz i dr., 2012; Blair i dr. 2017). Slika 4.21 Optički mikroskop Olympus SZX16 (DP?Soft softver) Plastika se vizuelno klasifikuje po morfološkim karakteristikama: veličini, obliku i boji. MPs može biti različitog spektra boja od providne, bijele, plave, zelene, žute, crvene, crne, itd. Prema Claessens i dr. (2011), MPs se može klasifikovati u četiri najčešća tipa oblika: granule, filmovi, filamenti i fragmenti. Da bi se povećala tačnost rezultata vizuelne identifikacije, neophodno je poštovati propisane kriterijume za vizuelno ispitivanje MPs: MPs nema vidljive organske ili ćelijske strukture, vlakna bi trebalo da budu konzistentne debljine i boje duž cijele dužine, čestice su bistre i jednolično obojene, a transparentne i bijele čestice treba da budu potvrđene pod mikroskopom visokog uvećanja (Hidalgo?Ruz i dr., 2012). Vizuelna identifikacija je odgovarajuća metoda za uzorke velike zapremine, posebno u slučajevima kada skupi analitički instrumenti nisu dostupni.

**Kvalitet podataka** dobijen **vizuelnim sortiranjem zavisi od** : osobe **koja** broji; od **kvaliteta** 8  
**i uvećanja mikroskopa i** matrica **uzorka (npr. plankton, sediment**

, sadržaj crijeva). Drugi osnovni nedostatak vizuelnog sortiranja je ograničenje veličine, tj. čestice ispod određene veličine se ne mogu vizuelno razlikovati od drugog materijala. Stopa greške pri vizuelnoj 80 identifikaciji MPs prijavljenih



u literaturi kreće se od 20% (Eriksen i dr., 2013) do 70% (Hidalgo-Ruz i dr., 2012) i povećava se sa smanjenjem veličine čestica. Stoga koristeći neke spektroskopske instrumente ili druge analitičke tehnike za potvrđivanje identiteta sumnjivih čestica MPs je neophodno. U cilju smanjenja grešaka tokom vizuelne identifikacije poštovane su smjernice koje su dali Hidalgo-Ruz i dr. (2012). Takođe MPs na filterima je brojana ponavljanjem tri puta, sa greškom koja nije prelazila 5%. 4.4.2.2 Hemijska identifikacija mikroplastike Nakon vizuelne identifikacije slijedi hemijska identifikacija MPs primjenom infracrvene spektrometrije sa Fourier-ovom transformacijom (FTIR). FTIR nudi mogućnost precizne identifikacije polimernih čestica prema njihovom karakterističnom IR spektru (Thompson i

dr., 2004 ; Ng i Obbard, 2006 ; Reddy i dr., 2006 ; Frias i dr., 2010; Harrison i dr., 2012; Vianello i dr., 2013; Löder i

19

Gerdts, 2015). Plastični polimeri posjeduju veoma specifičan IR spektar sa jasnim dijagramima traka koji čine IR spektroskopiju optimalnom tehnikom za identifikaciju mikroplastike (Löder i Gerdts, 2015). U programima za praćenje MPs, FTIR se koristi uglavnom na dva načina: skeniranje svih sumnjivih čestica (Browne i dr., 2011) ili analiziranje niza poduzoraka kako bi se potvrdili rezultati vizuelne identifikacije (Wang i dr., 2017). Ukratko, infracrveno zračenje pobuđuje veze u molekulama da vibriraju na određenim talasnim dužinama koje odgovaraju jedinstvenoj molekularnoj strukturi materijala. FTIR-ATR tehnika zasniva se na identifikaciji kontaktom uzorka (Primpke i dr., 2017). Karakterizacija se postiže u srednjem infracrvenom spektru. U istraživanjima MPs često se koristi dijamantski kristal sa indeksom prelamanja 2.4 (Olesen i dr., 2018). Kada se MPs postavi na ciljano mjesto, pritisna stezaljka se spusti da se omogući kontakt sa kristalom, infracrveni zraci prolaze kroz kristal, dolaze u kontakt sa uzorkom i odbijaju se nazad formirajući spektralni otisak (Hidalgo-Ruz i dr., 2012; Löder i Gerdts, 2015). Generisani spektar može se unijeti u softver koji vrši spektar u biblioteci ili bazi podataka poznatih polimera i drugog materijala da bi potvrdio identitet jedinjenja. Traženje spektra često pruža više od jednog rezultata zajedno sa rezultatom koji odgovara verovatnoći podudaranja. Obično se rezultati od 70% ili više smatraju „dobrim“. Ukupan broj potvrđenih plastičnih čestica unutar svake kategorije izvršen je u cilju ispravljanja vizuelnih podataka (podaci ispravljani FTIR-om), kako bi se izračunala greška u brojanju neplastičnih komponenti poput celuloze, neorganske i organske materije. FTIR spektroskopija pruža komplementarne informacije o MPs u uzorcima, omogućava mjerenje broja i veličina čestica, kao i identifikaciju polimera. Kvalitet podataka dobijen primjenom FTIR identifikacije značajno je povećan u odnosu na prethodne baze podataka (Primpke i dr., 2018). Zbog visoke pouzdanosti, FTIR postaje jedna od najčešće korišćenih hemijskih tehnika karakterizacije MPs (Olesen i dr., 2018). Na Slici 4.22 je prikazan instrument upotrijebljen za hemijsku analizu MPs u uzorcima sedimenta i ribe da bi se potvrdilo porijeklo sintetičkih polimera (Perkin Elmer Spotlight 200i, ATR FTIR Spectrum Two). Posebna pažnja je posvećena analizi svih vrsta čestica (različite boje, oblika, veličine i strukture/teksture). Svaka snimljena čestica MPs na FTIR-u prethodno je fotografisana, a njen spektar je sačuvan. U slučaju postojanja sličnih čestica MPs (sličnog oblika, boje, teksture) u uzorcima, desetak takvih čestica je analizirano. Slika 4.22 Perkin Elmer Spotlight 200i, ATR FTIR Spectrum Two 4.4.3 Osiguranje i kontrola kvaliteta Kontaminacija uzoraka može prouzrokovati značajnu precijenjenost kvantitativnih rezultata MPs (Foekema i dr., 2013). Zato se u svim fazama rada vodi računa da izvori kontaminacije budu maksimalno eliminisani, tj. da se se spriječi eventualno zagađenje ili unakrsna kontaminacija uzoraka. Posebna pažnja je posvećena sprečavanju i minimiziranju kontaminacije u svim koracima uzorkovanja, ekstrakcije i analize. Vodio se računa da se izbjegne upotreba plastike tokom analize. Izuzetna pažnja posvećena je da se osigura čistoća

laboratorijskog prostora, posebno da ne sadrži prašinu ili čestice. Uzorci su minimalno vrijeme bili izloženi vazduhu. Postupci analize vršeni su u čistoj laboratoriji (u digestoru), a tokom analize u prostoriji nije boravilo više od dvije osobe. Radne površine su prije svakog procesa / aktivnosti očišćene etanolom visokog kvaliteta. Stakleni i metalni pribor / posuđe, oprani i isprani sa dejonizovanom vodom, su korišćeni pri svakoj analizi. Sav pribor i posuđe su bili prekriveni sa aluminijskom folijom odmah nakon korišćenja. Posle filtracije, filteri su čuvani u staklenim Petrijevim posudama. Sve vrijeme su korišćeni čisti pamučni laboratorijski mantili i posebna pažnja je posvećena ograničavanju nošenja sintetičke odeće. Proceduralni blankovi su izvedeni i sakupljeni tokom svih analiza. Svi rezultati su korigovani u skladu sa nivoom kontaminacije izmjerenim tokom obrade i analize uzorka u blankovima, kako bi se kompenzovala spoljašnja kontaminacija i kako bi dobijeni rezultati bili pouzdaniji. 4.5 Statistička analiza Za analizu karakteristika grupa i procjene koncentracije teških metala i zastupljenosti mikroplastike u uzorcima sedimenta i ribe, u ovom radu izvršena je statistička obrada podataka primjenom statističkog programa PRIMER v7 sa PERMANOVA+ softverom.

**Za karakterizaciju ispitivanih uzoraka sedimenta i ribe, korišćene su sledeće analize: ? Klaster analiza** 1

(engl. CLUSTER analyses ? CO); ? Analiza glavnih koordinata (engl. Principal coordinates analysis – PCO); ? Permutaciona multivarijantna analiza varijanse (engl. Permutational multivariate analysis of variance ? PERMANOVA). Prije izbora analize potrebno je uraditi obradu podataka. U ovom radu prije statističke obrade podataka izvršen je predtretman primjenom kvadratnog korijena (engl. square root), a zatim su podaci transformisani primjenom Bray-Curtis sličnosti. Navedeni predtretman i transformacija imaju za cilj da definišu sličnosti između svakog para ponaosob. U PRIMER-u se sličnost kreće od 0 do 100 (savršena sličnost), formirajući trouglastu matricu. Bray-Curtis sličnost je tretman koji se najčešće koristi za analizu biološke zajednice, jer poštuje mnoge „prirodne“ biološke smjernice. U cilju ublažavanja efekata različitih količina uzoraka prvo se vrši predtretman, a zatim transformacija (Anderson i dr., 2008).

**Klaster analiza (CO) vrši grupisanje jedinica posmatranja u grupe ili klase tako da se slične jedinice nađu u istoj klasi (klasteru)** 23

). Klaster predstavlja jednu vrstu korelacije.

**Grupisanje se vrši na osnovu rezultata (skora) koji se izračunava na osnovu vrijednosti obilježja po svim varijablama, za svaku jedinicu posmatranja posebno** 23

**Ovom metodom se podaci na osnovu sličnosti razdvajaju u grupe (klaster), a stepen udruživanja je najveći ukoliko se nalaze u okviru istog klastera** 1

(Anderson i dr., 2008). Za klasterku analizu je korišćena Pearsonova korelacija. Analiza glavnih koordinata (PCO) je metoda ordiniranja u kojoj se uzorci, koji se smatraju tačkama u promjenljivom prostoru velikih dimenzija, projektuju na najprikladniju ravan. Svrha PCO analize je da identifikuje što je moguće više varijabilnosti i omogući što tačniji prikaz prave veze između uzoraka u originalnom prostoru.

**Dvije glavne komponente** (PCO1 i PCO2) **su izdvojene i korišćene za dvodimenzionalni grafički prikaz**

1

. Rezultati PCO

**analize se najčešće tumače na osnovu doprinosa ili ocjene promjenljivih u komponentama**

1

(Anderson i dr., 2008; Clarke i Gorley, 2015). PCO analiza je korišćena za ispitivanje sličnosti između različitih područja, lokacija, sezona, godine uzorkovanja i različitih vrsta (za ribe)

**na osnovu izmjerenih vrijednosti ispitivanih parametara, kao i u cilju identifikacije izvora i raspodjele**

1

teških metala i mikroplastike u uzorcima sedimenata i ribe. Permutaciona multivarijantna analiza varijanse (PERMANOVA) je geometrijsko particioniranje varijacije u viševarijantnom sistemu podataka, eksplicitno definisano u prostoru izabrane mjere različitosti, sa p-vrijednostima dobijenim primjenom odgovarajućih tehnika permutacije bez raspodjele. Statistički zaključci se izvode u okruženju bez distribucije korišćenjem permutacionih algoritama. Monte Carlo test vrši analizu gradeći modele mogućih rezultata zamjenom raspona vrijednosti ? raspodjelom vjerovatnoće za bilo koji faktor koji ima inherentnu nesigurnost. Zatim izračunava rezultate iznova i iznova, svaki put koristeći drugačiji skup slučajnih vrijednosti iz funkcija vjerovatnoće. U zavisnosti od broja nesigurnosti i raspona koji su za njih određeni, simulacija u Monte Carlo testu mogla bi uključivati hiljade ili desetine hiljada ponovnih proračuna prije nego što se završi. Simulacija Monte Carlo testa proizvodi distribucije mogućih vrijednosti ishoda (Anderson i dr., 2008; Clarke i Gorley, 2015)

**REZULTATI I DISKUSIJA 5. TEŠKI METALI U MORSKOJ SREDINI CRNOGORSKOG PRIMORJA 5.1 Sadržaj**

teških metala u sedimentu Koncentracije ispitivanih teških metala u sedimentu, uzorkovanom 2019. i 2020. godine u proljećem i jesenjem periodu na deset ispitivanih lokacija duž crnogorskog primorja, prikazane su u Tabelama 5.1 i 5.2. Tabela 5.1 Koncentracije teških metala (mg/kg suvog uzorka) u sedimentu uzorkovanom tokom 2019. godine

Ispitivane lokacije	Fe	Mn	Cr	Ni	Zn	Cu	Pb	As	Hg	Cd
Proljeće 2019 Dobrota	42863	870.1	228.8	197.3	163.7	53.3	56.3	14.3	0.476	0.297
Orahovac	44120	980.8	196.3	194.4	118.1	54.6	43.5	17.3	0.284	0.293
Sveta Nedjelja	44120	767.7	202.2	197.8	112.8	62.6	50.2	21.6	0.649	0.251
Tivat	44872	902.3	241.1	237.5	126.8	57.6	47.8	20.4	0.495	0.236
Bijela	36359	528.5	253.8	126.2	132.5	156.8	57.9	22.2	0.525	0.231
Herceg Novi	32930	706.3	282.8	201.5	117.2	36	34.3	15.9	0.264	0.188
Žanjice	23256	484	172.1	126.7	58.75	20	24.7	38.1	0.098	0.14
Budva	11200	416.9	215.5	20.7	31.41					

12.4 28.3 15 0.011 0.245 Bar 25031 676.2 207.2 101.9 85.38 25.6 33.4 15.1 0.086 0.246 Ada Bojana 48960 1039 492.2 327.6 86.9 22.9 19 14.8 0.016 0.211 Jesen 2019 Dobrota 33584 732.4 228.7 151.7 147.3 35 46.7 13.2 0.443 0.218 Orahovac 44295 1071 181.4 171.9 137.7 43.3 38.8 18.7 0.233 0.302 Sveta Nedjelja 24992 541.5 125.1 77.9 86.3 39.9 27.1 16.1 0.364 0.168 Tivat 35702 456 200.9 125.8 218.5 58.1 84.7 44.1 15.19 0.217 Bijela 38026 723.8 190.3 145.2 146.5 89.2 39.9 18.9 0.452 0.23 Herceg Novi 22717 583.8 184.2 111.3 102.5 43.9 28.4 24.6 0.347 0.229 Žanjice 10179 378.5 83.4 70.1 29.1 11.3 18.9 11.7 0.034 0.095 Budva 15062 513.7 64.6 38.7 71.4 31.7 19.7 7.4 0.249 0.301 Bar 25595 623.2 176.3 90.4 448.9 52.4 159 17.1 0.207 1.87 Ada Bojana 51393 1304 661.4 640.2 76 30.4 15.8 19.7 0.113 0.15 Srednja vr. 32763 714.9 229.4 167.7 124.9 46.9 43.7 19.3 1.027 0.306 Minimalna vr. 10179 378.5 64.6 20.7 31.4 11.3 15.8 7.4 0.011 0.095 Maksimalna vr. 51393 1304 661.4 640.2 448.9 156.8 84.7 44.1 15.2 1.9 Tabela 5.2 Koncentracije teških metala (mg/kg suvog uzorka) u sedimentu uzorkovanom tokom 2020. godine Ispitivane Teški metali lokacije Fe Mn Cr Ni Zn Cu Pb As Hg Cd Proljeće 2020 Dobrota 40091 955.2 237.1 201.7 183.6 41.8 48.6 13.8 0.547 0.263 Orahovac 42533 1077 204.3 196.8 142.6 42.6 38.5 15.2 0.188 0.330 Sveta Nedjelja 29496 539.9 181.1 138.8 108.9 42.1 31.9 18.8 0.311 0.216 Tivat 34645 475.7 242.7 146.3 307.1 54.5 369.6 36.1 4.967 0.281 Bijela 37501 533.9 261.1 138.7 150.2 121.7 41.7 19.8 0.501 0.240 Herceg Novi 27050 717.9 293.6 186.7 111.2 33.5 38.1 20.3 0.394 0.211 Žanjice 9059 358.2 63.2 54.7 24.3 6.8 16.6 13.4 0.094 0.145 Budva 10450 401.8 168.7 42.3 32.86 18.0 33.2 14.5 0.146 0.214 Bar Ada Bojana 29708 70759 545.6 1133 180.2 2432 112.5 440.2 132.2 96.3 28.7 28.5 69.2 15.9 16.1 14.2 0.114 0.069 0.262 0.237 Jesen 2020 Dobrota 31681 1026 342.8 148.6 183.4 32.8 40.1 11.2 0.514 0.225 Orahovac 40807 1008 174.5 167.7 143.1 44.6 36.5 16.7 0.294 0.351 Sveta Nedjelja 32663 564.7 170.7 142.9 117.2 51.6 32.1 17.5 0.408 0.242 Tivat 42551 707.8 212.9 204 134.0 48.2 33.6 18.6 0.450 0.232 Bijela 39671 586.1 238.2 155.6 208.0 141.6 49.9 18.9 0.568 0.248 Herceg Novi 17173 689.8 185.2 96.4 103.6 36.7 29.3 21.9 0.423 0.310 Žanjice 11313 279.9 73.6 63.54 30.5 12.5 23.1 12.8 <0.03 0.103 Budva 9769 331.7 59.0 23 39.9 19.5 29.6 15.2 <0.03 0.115 Bar 31278 573.9 153.6 102.6 106.6 31.0 36.5 14.0 0.095 0.277 Ada Bojana 94670 1294 3238.0 499.3 108.6 26.0 22.1 15.4 <0.03 0.322 Srednja vr. 34143 690 455.6 163.1 123.2 43.1 51.8 17.2 0.509 0.241 Minimalna vr. 9059 279.9 63.2 22.9 24.3 6.8 15.9 11.2 <0.03 0.103 Maksimalna vr. 94670 1294 3238 499.3 307.1 141.6 369.6 36.1 4.967 0.351

**U uzorcima** sedimenta **sa lokacije** Žanjice zabilježene **su najniže koncentracije** Mn, **Cr** , Zn, **Cu i** 1

Cd tokom cjelokupnog istraživanja, dok su koncentracije ostalih ispitivanih metala bile niže od vrijednosti zabilježenih u sedimentima na većini ispitivanih lokacija. Sa druge strane, u sedimentima sa lokacije Budva, tokom cjelokupnog istraživanja, zabilježene su najniže koncentracije Fe, Ni i As u poređenju sa sadržajem istih metala u sedimentima sa drugih ispitivanih lokacija (Tabela 5.1 i 5.2). Niže koncentracije ispitivanih teških metala u sedimentima sa lokacije Žanjice mogu se objasniti činjenicom da su Žanjice slabo naseljeno mjesto, sa neznatnim antropogenim uticajem, osim u mjesecima ljetnje sezone usled povećane fluktuacije ljudi, što je suprotno od lokacije Budva. Međutim, Žanjice i Budva se nalaze na otvorenom dijelu mora, što može imati uticaj, s obzirom da

**morske struje i talasi mogu uticati na raspodjelu površinskog sedimenta** (Perošević?Bajčeta, 1 2020). **U**

sedimentima na lokaciji Tivat, tokom cjelokupnog istraživanja, zabilježene su izuzetno visoke vrijednosti Pb, As i Hg (Tabela 5.1 i 5.2). Visoke koncentracije navedenih teških metala u uzorcima sedimenata sa lokacije Tivat mogu biti posledice aktivnosti marine „Porto Montenegro“ koju karakteriše intenzivni nautički turizam tokom cijele godine. Neophodno je pomenuti i aktivnosti nekadašnjeg remontnog brodogradilišta „Arsenal“ i „Avioservisa“ u Tivtu, čije se posledice aktivnosti i dalje vide. Sa druge strane, Tivat se nalazi unutar Bokokotorskog zaliva, a karakteriše se gustim naseljima uz samu obalu, što povećava mogućnost zagađenja putem komunalnih voda, otpada iz domaćinstava i saobraćaja (Joksimović i dr., 2018). Najveće koncentracije Cu zabilježene su u sedimentima sa lokacije Bijela, dok su u sedimentima sa lokacije Bar zabilježene najveće koncentracije Zn i Cd, tokom dvogodišnjeg ispitivanja (Tabela 5.1 i 5.2). U Bijeloj je bilo smješteno Jadransko brodogradilište „Bijela“ koje se smatra jednim od pet crnih ekoloških tačaka u Crnoj Gori. U brodogradilištu „Bijela“ se intenzivno koristio abrazivni materijal za pjeskarenje brodova napravljen od granulirane šljake dobijene tokom procesa topljenja bakra. Ostatak ovog materijala se smatra opasnim otpadom koji je nepropisno skladišten u okolini nekadašnjeg brodogradilišta. Povišene koncentracije Zn i Cd u sedimentima na lokaciji Bar u odnosu na sedimente sa drugih ispitivanih lokacija mogu biti posledice aktivnosti Luke Bar koja predstavlja frekventnu luku u kojoj se obavlja pretovar svih vrsta tereta (Joksimović i dr., 2019). Visoke kontaminacije Pb, As, Hg, Cu, Zn i Cd na lokacijama Tivat, Bijela i Bar su posledice kako antropogenog uticaja sa kopna (komunalni otpad, industrijske aktivnosti, trgovina i saobraćaj, turizam, otpadne vode), tako i uticaja sa mora, poput lučkih aktivnosti, upotreba anti korozivnih boja za potrebe brodova i čamaca i dr. (Yasar, i dr., 2001; Joksimović, 2012; Neser i dr., 2012). Ada Bojana je lokacija sa najvećim koncentracijama metala u sedimentima. Koncentracije Mn, Fe, Cr i Ni su znatno povećane u odnosu na ostale lokacije, dok su u sedimentima na lokaciji Ada Bojana zabilježene najniže vrijednosti Pb i Hg (Tabela 5.1 i 5.2). Visoke vrijednosti Mn, Fe, Cr i Ni u sedimentima na lokaciji Ada Bojana mogu biti posledice više različitih antropogenih faktora kao što su: ljetnji turizam, komunalne vode, industrijske otpadne vode, ušće rijeke Bojane koja protiče kroz Crnu Goru i Albaniju i sa sobom nosi različite zagadjivače, stacionirani industrijski objekti i bolnice koje se nalaze na samoj obali (Joksimović, 2012). Visoke vrijednosti koncentracije Cr i Ni pronađene su i u sedimentima Albanije, koje su najčešće posledica industrijskih djelatnosti, poput rudarstva, skladišta i aktivnosti hemijskih postrojenja (Lazo i dr., 2003; Rivo i dr., 2004). Takođe, treba imati

**u vidu da tlo Evrope sadrži visoke koncentracije** Cr koje su **uglavnom geogenog porijekla**

1

(Plant i dr., 2003). Sa druge strane, niže koncentracije Pb i Hg u sedimentima na lokaciji Ada Bojana mogle bi biti uslovljene većim prilivom slatke vode, kao i većim strujanjem morske vode (Joksimović i dr., 2018). Na osnovu dobijenih rezultata, koncentracije ispitivanih teških metala u sedimentu uglavnom su bile veće tokom jesenjeg perioda uzorkovanja u odnosu na prolječni period. Ovakvi rezultati su zapravo i očekivani uzimajući u obzir činjenice da crnogorsko primorje predstavlja ljetnju turističku destinaciju, sa velikim brojem plažnih barova, restorana, povećanu fluktaciju ljudi, ulazak velikog broja kruzera, jahti i drugih plovnih objekata, kao i opterećenje komunalne i vodovodne infrastrukture. Navedene činjenice mogu biti samo neki od razloga povećane koncentracije teških metala u sedimentu crnogorskog primorja u jesenjem periodu uzorkovanja koji se obavlja na kraju ljetnje sezone. Upoređujući srednje koncentracije ispitivanih teških metala u sedimentu u odnosu na godinu uzorkovanja (Tabela 5.3), primjećujemo da ne postoje značajne razlike za većinu ispitivanih elemenata, osim za Cr i Hg. Preciznije, u sedimentima uzorkovanim 2020.

godine, koncentracija Cr je bila skoro dvostruko veća u odnosu na sedimente uzorkovane 2019. godine. Navedenim rezultatima doprinosi lokacija Ada Bojana, tačnije u sedimentu uzorkovanom 2020. godine zabilježena je maksimalna koncentracija Cr na lokaciji Ada Bojana (proljeće: 2432 mg/kg i jesen: 3238 mg/kg). Visoke vrijednosti koncentracije Cr, koje su ustanovljene u sedimentima na Adi Bojani tokom 2020. godine, mogu biti posledica intenzivnih industrijskih djelatnosti koje se odvijaju na obali Albanije (rudarstvo, hemijska postrojenja, različite deponije) odakle zagađujuće materije dopijevaju u crnogorsko primorje nošene morskim strujama). Sa druge strane, koncentracija Hg u sedimentima uzorkovanim 2019. godine bila je dvostruko veća u odnosu na sedimente uzorkovane 2020. godine. Navedenim rezultatima doprinosi lokacija Tivat, tačnije u sedimentu uzorkovanom u jesenjem periodu 2019. godine zabilježena je maksimalna koncentracija Hg na lokaciji Tivat (15.19 mg/kg). Razlike

**u koncentraciji Hg, pored već navedenih faktora (slatkovodne pritoke, gusta naselja), mogu se objasniti i blizinom luke**

1

, kao i intenzivnim pomorskim saobraćajem na ovom području koji se tokom 2019. godine odvijao češće u odnosu na 2020. godinu koju je obilježila loša turistička sezona izazvana posledicama virusa COVID-19 (Joksimović i dr., 2018; Vlada Crne Gore, 2019a). Tabela 5.3 Srednje koncentracije ispitivanih teških metala u sedimentu u odnosu na godinu uzorkovanja (mg/kg suvog uzorka)

Godina	Teški metali	uzorkovanja	Fe	Mn	Cr	Ni	Zn	Pb	Cu	As	Hg	Cd									
2019	32763	714.9	229.4	167.7	124.9	43.7	46.9	19.3	1.027	0.306	2020	34143	690	455.6	163.1	123.2	51.8	43.1	17.2	0.509	0.241
Srednja	33453	702.5	342.5	165.4	124	47.8	45	18.3	0.768	0.274	Najzastupljeniji ispitivani elementi u sedimentima sa crnogorskog primorija su Fe i Mn što nije iznenađujuće uzimajući u obzir da su upravo ova dva elementa najzastupljeniji metali u Zemljinoj kori (Perošević-Bajčeta, 2020). Generalno, rezultati istraživanja pokazuju da su veće koncentracije Zn, Cu, Pb, As i Hg uglavnom nalaze u sedimentima sa lokacija unutar Bokokotorskog zaliva, dok se veće koncentracije Fe, Mn, Cr, Ni i Cd uglavnom nalaze u sedimentima sa lokacija na otvorenom moru, što je u saglasnosti sa ranijim istraživanjima (Joksimović i dr., 2019). Usled neadekvatnog i neuređenog sistema kontrolisanja, u priobalnom području Crne Gore često se ispuštaju kanalizacione vode, otpadne voda iz industrije, luka i broskog područja, kao i domaći i poljoprivredni otpad, koji sadrži razne opasne hemikalije. Visoke koncentracije metala u sedimentu mogu biti posledica lučkih aktivnosti tokom postupka kojim se uklanjaju stari slojevi boje sa brodskih trupova, komunalnih i industrijskih otpadnih voda, turističke i rekreativne aktivnosti u obalnom području, kao i zagađenja iz bivših industrijskih aktivnosti čije su posledice zagađenja i dalje vidljive (Obhodaš i Valković 2010; Khan i dr. 2017; Joksimović i dr., 2019). Perošević-Bajčeta (2020) ukazuje da razlike između koncentracija pojedinih ispitivanih teških metala u sedimentima, pored različitih antropogenih aktivnosti, mogu biti posledice geografskih, hidromorfoloških karakteristika, morskih struja i talasa, sezone uzorkovanja (proljeće-jesen) kao i preciznosti tokom uzorkovanja.										

5.1.1 Poređenje koncentracija ispitivanih teških metala u sedimentu sa podacima iz literature U Tabeli 5.4 su predstavljene koncentracije ispitivanih teških metala u sedimentu dobijene u ovoj studiji i koncentracije teških metala u sedimentu iz različitih oblasti Jadranskog i Sredozemnog mora. Koncentracija Fe u sedimentu sa crnogorskog primorija (srednja vrijednost 33453 mg/kg) je bila niža od vrijednosti nađenih u sedimentu sa obale Jadranskog mora u Crnoj Gori (1990 ? 45500 mg/kg) i Albaniji (25260 ? 49833 mg/kg), južnog Jadrana (20400 ? 41800 mg/kg), Jonskog mora u Italiji (10600 ? 39900 mg/kg) i Egejskog mora u Turskoj (13302 ? 40463 mg/kg) (Dolenec i dr., 1998; Uluturhan, 2010; Rivaro i dr., 2011; Emili i dr.,

2016). Opseg vrijednosti Fe na lokaciji Ada Bojana kretao se od 9059 – 94670 mg/kg, tj. bio je viši od svih zabilježenih vrijednosti prikazanih u literaturi, Tabela 5.4. Izmjerene koncentracije Mn (279.9 – 1304

**mg/kg) su bile niže od vrijednosti** zabilježenih **u sedimentu** Egejskog **mora u**

1

Turskoj (351 ? 4718 mg/kg) i vrijednosti za južni Jadran (572 ? 2050 mg/kg) (Dolenec i dr., 1998; Uluturhan, 2010). Dobijene vrijednosti Mn u sedimentima iz Jadranskog mora u Crnoj Gori (135 ? 1139 mg/kg) i Albaniji (421 ? 1102 mg/kg) su bile slične vrijednostima zabilježenim u ovoj studiji, dok su u Jonskom moru u Italiji (234 ? 545 mg/kg) vrijednosti Mn u sedimentima bile niže od vrijednosti zabilježenih u ovoj studiji (Rivaro i dr., 2011; Emili i dr., 2016; Joksimović i dr., 2019), Tabela 5.4. Koncentracije Cr u sedimentu su se kretale u opsegu 63.2 mg/kg ? 3238

**mg/kg, sa** srednjom **vrijednošću od** 342.5 **mg/kg, što je** više od **vrijednosti nađenih**

1

u sedimentima sa obale: Jadranskog mora u Crnoj Gori (2.5 ? 369 mg/kg), Hrvatskoj (52.8 ? 69.8 mg/kg), Albaniji (132 ? 311 mg/kg) i Italiji (0.05 ? 15.5 mg/kg) (Rivaro i dr., 2011; Cukrov i dr., 2014; Mali i dr., 2018; Joksimović i dr., 2019). Zabilježene vrijednosti Cr u sedimentima u južnom Jadranu (53 ? 256 mg/kg), Jonskom moru u Italiji (17.2 ? 85.0 mg/kg) i Egejskom moru u Turskoj (27.7 ? 555 mg/kg) su bile manje od vrijednosti zabilježenih u ovoj studiji (Dolenec i dr., 1998; Uluturhan, 2010; Emili i dr., 2016). Kao što su za većinu ispitivanih metala ustanovljene maksimalne vrijednosti koncentracija na jednoj ili dvije lokacije, tako je i za hrom ustanovljena znatno viša vrijednost koncentracije na lokaciji Ada Bojana. Neda Bošković Tabela 5.4 Poređenje koncentracija teških metala izmjerenih u sedimentu u ovoj studiji sa dostupnim podacima iz regiona (mg/kg suvog uzorka) Teški metali Područje ispitivanja Literatura Fe Mn Cr Ni Zn Pb Cu As Hg Cd 9059-94670 Crna Gora, Jadransko more (33453) Crna Gora, Jadransko more 1990-45500 Hrvatska, Jadransko more / Slovenija, Jadransko more / Albanija, Jadransko more 25260-49833 Italija, Jadransko more / Italija, Jonsko more 10600-39900 Turska, Egejsko more 13302-40463 Južni Jadran ? pozadinske vr. 20400-41800 279-9-1304 63.2-3238 20.7-640.2 24.3-448.9 15.8-369.6 6.8-156.8 7.4-44.1 (702.5) (342.5) (165.4) (124) (47.76) (45) (18.3) 135-1139 2.5-369 2.94-267 10.1-1596 0.1-756 3.8-2719 0.1-39.1 / 52.8-69.8 56.3-80.7 85.5-156 41.2-71.5 30.7-89.3 10.3-19 / / 61.3-109.4 54.0-99.0 10.7-30.2 17.6-37.8 6.8-19.9 421-1102 132-311 117-326 59.3-109 9.65-20.1 22.3-46.1 <DL-25.8 / 0.05-15.5 10.8-21.3 11.6-86.9 5.41-49.0 3.73-74.0 5.81-9.77 234-545 17.2-85.0 25.1-63.6 29.0-449 12.7-167 10.9-91.0 / 351-4718 27.7-555 54.3-703 49.9-121 3.9-48.2 10.1-42.4 / 572-2050 53-256 49-264 58-101 5.0-18.0 21.8-44.9 1.0-19.0 <0.03-15.2 0.095-1.87 ova studija (0.765) (0.274) 0.01-14.2 0.1-5.43 Joksimović i dr., 2019 0.332-0.65 0.17-0.4 Cukrov i dr., 2014 / 0.1-0.4 Šmuc i dr., 2018 0.02-3.06 0.05-0.29 Rivaro i dr., 2011 0.05-0.15 0.05-0.48 Mali i dr., 2018 0.01-11.1 0.23-0.91 Emili i dr., 2016 0.06-0.19 0.01-0.05 Uluturhan, 2010 0.07-0.42 / Dolenec i dr., 1998 92 Koncentracije Ni u sedimentu sa crnogorskog primorja su se kretale u opsegu 20.7 mg/kg ? 640.2

**mg/kg, sa** srednjom **vrijednošću od** 165.4 **mg/kg, što je** niže od **vrijednosti nađenih za**

1

Egejsko more u Turskoj (54.3 ? 703 mg/kg) (Uluturhan, 2010). Izuzevši ekstremno visoke vrijednosti Ni u sedimentima na lokaciji Ada Bojana, koncentracije Ni u ovoj studiji su bile niže od vrijednosti ranijih istraživanja u Crnoj Gori (2.94 ? 267 mg/kg), Albaniji (117 ? 326 mg/kg), kao i južnog Jadrana (49 ? 264 mg/kg) (Dolenec i dr., 1998; Rivoaro i dr., 2011; Joksimović i dr., 2019). Međutim, izmjerene koncentracije Ni u ovom istraživanju su bile više od vrijednosti zabilježenih na obali Jadranskog mora u Hrvatskoj (56.3 ? 80.7 mg/kg), Sloveniji (61.3 ? 109.4 mg/kg), Italiji (10.8 ? 21.3mg/kg), kao i Jonskog mora u Italiji (25.1 ? 63.6 mg/kg) (Cukrov i dr., 2014; Emili i dr., 2016; Šmuc i dr., 2018; Mali i dr., 2018), Tabela 5.4. Upoređujući dobijene vrijednosti Zn (24.3 ? 448.9 mg/kg) u ovoj studiji sa literaturnim podacima zemalja iz okruženja, vidimo da su rezultati u potpunoj saglasnosti sa rezultatima u Italiji, Jonsko more (29.0 ? 449 mg/kg) i niži od rezultata u Crnoj Gori, Jadransko more (10.1 ? 1596 mg/kg) (Emili i dr., 2016; Joksimović i dr., 2019). Međutim, dobijene vrijednosti Zn tokom istraživanja u ovoj studiji bile su više od vrijednosti zabilježenih na Jadranskoj obali: u Hrvatskoj (85.5 ? 156 mg/kg), Sloveniji (54.0 ? 99.0 mg/kg), Albaniji (59.3 ? 109 mg/kg) i Italiji (11.6 ? 86.9 mg/kg) (Rivoaro i dr., 2011; Cukrov i dr., 2014; Šmuc i dr., 2018; Mali i dr., 2018), Tabela 5.4. Od svih istraživanih lokacija povećana koncentracija Zn izmjerena je samo na lokaciji Bar. Vrijednosti Pb u sedimentu, tokom cjelokupnog istraživanja, kretala se u opsegu 15.

**8 mg/kg** ? 369.6 **mg/kg, sa** srednjom **vrijednošću od** 47.76 **mg/kg** . Maksimalne koncentracije Pb **u**

1

sedimentima zabilježene su u lučkim centrima kao što su Tivat i Bar, dok na ostalim lokacijama vrijednosti Pb u sedimentu su bile niže ili u okviru vrijednosti izmjerenih u Hrvatskoj (41.2 ? 71.5 mg/kg), Italiji (5.41 ? 49.0 mg/kg) i Turskoj (3.9 ? 48.2 mg/kg) (Uluturhan, 2010; Cukrov i dr., 2014; Mali i dr., 2018). Izmjerene vrijednosti Pb u sedimentu u ovoj studiji bile su niže od vrijednosti izmjernih u prethodnim studijama na crnogorskoj obali (0.1 ? 756 mg/kg) (Joksimović i dr., 2019) i više od vrijednosti izmjerenih u Sloveniji (10.7 ? 30.2 mg/kg), Albaniji (9.65 ? 20.1 mg/kg), kao i vrijednosti za južni Jadran (Dolenec i dr., 1998; Rivoaro i dr., 2011; Šmuc i dr., 2018), Tabela 5.4. Koncentracije Cu (6.8 ? 156.8 mg/kg) u sedimentima sa crnogorskog primorija su bile niže od vrijednosti zabilježenih tokom jedanaestogodišnjeg perioda istraživanja sedimenta u Crnoj Gori (3.8 ? 2719 mg/kg) (Joksimović i dr., 2019). Visoke koncentracije Cu u sedimentu su zabilježene samo na lokaciji Bijela, dok su na ostalim lokacijama vrijednosti Cu bile u okviru ili niže od vrijednosti zabilježenih u Hrvatskoj (30.7 ? 89.3 mg/kg) i Italiji (3.73 ? 74.0 mg/kg) Jadransko more i Italiji (10.9 ? 91.0 mg/kg) Jonsko more (Cukrov i dr., 2014; Emili i dr., 2016; Mali i dr., 2018). Uočene su povećane vrijednosti Cu u sedimentima u ovoj studiji u odnosu na vrijednosti dobijenih za južni Jadran (21.8 ? 44.9 mg/kg), Sloveniju (17.6 ? 37.8 mg/kg) i Albaniju (22.3 ? 46.1 mg/kg) (Dolenec i dr., 1998; Rivoaro i dr., 2011; Šmuc i dr., 2018), Tabela 5.4. Izmjerene koncentracije As (7.4 ? 44.1 mg/kg) u sedimentima sa crnogorskog primorija, sa srednjom vrijednošću od 18.3 mg/kg, su bile u okviru vrijednosti istraživanja u period od 2005. do 2016. godine (0.1 ? 39.1 mg/kg), koje je obuhvatilo većinu lokacija ispitivanih tokom ovog istraživanja (Joksimović i dr., 2019). Izuzimajući izuzetno visoke koncentracije As koje su zabilježene u sedimentima na lokacijama Tivat i Žanjice, koncentracije As su bile u okviru vrijednosti zabilježenih u sedimentima Jadranskog mora, sa obale Hrvatske (10.3 – 19 mg/kg), Slovenije (6.8 ? 19.9 mg/kg) i Albanije (<DL ? 25.8 mg/kg) (Rivoaro i dr., 2011; Cukrov i dr., 2014; Šmuc i dr., 2018). Opseg vrijednosti As u sedimentu sa južnog Jadrana (1.0 ? 19.0 mg/kg) je bio sličan dobijenim vrijednostima u ovoj studiji, dok su zabilježene



koncentracije As u Jadranskom moru u Italiji (5.81 ? 9.77 mg/kg) bile niže od vrijednosti zabilježenih u ovoj studiji (Dolenc i dr., 1998; Mali i dr., 2018), Tabela 5.4. Koncentracije Hg (<0.03 ? 15.2

mg/kg), sa srednjom vrijednošću od 0 .765 mg/kg ,bile su u

1

saglasnosti sa vrijednostima zabilježenim tokom ranijih istraživanja u sedimentima na crnogorskoj obali (0.01 ? 14.2 mg/kg) (Joksimović i dr., 2019). Takođe, opseg koncentracija Hg u ispitivanim sedimentima bio je u okviru vrijednosti zabilježenih u Jonskom moru u Italiji (0.01 ? 11.1 mg/kg) (Emili i dr., 2016). Maksimalna koncentracija Hg zabilježena je u sedimentu sa lokacije Tivat, dok su na ostalim lokacijama zabilježene koncentracije Hg bile u okviru literaturnih vrijednosti u sedimentima duž obale Jadranskog mora, u Hrvatskoj (0.332 ? 0.65 mg/kg) i Albaniji (0.02 ? 3.06 mg/kg) (Rivaro i dr., 2011; Cukrov i dr., 2014). Sa druge strane, koncentracije Hg u sedimentu tokom ovog istraživanja bile su iznad opsega koncentracija izmjerenih u južnom Jadranu (0.07 ? 0.42 mg/kg), Jadranskom moru u Italiji (0.05 ? 0.15 mg/kg) i Egejskom moru u Turskoj (0.06 ? 0.19 mg/kg) (Dolenc i dr., 1998; Uluturhan, 2010; Mali i dr., 2018), Tabela 5.4. Koncentracije Cd (0.095 ? 1.87

mg/kg) su bile u okviru, a dijelom i niže od vrijednosti Cd zabilježenih u prethodnim studijama u sedimentu sa

1

crnogorskog primorja (0.1 ? 5.43 mg/kg) (Joksimović i dr., 2019). U sedimentu na lokaciji Bar izmjerena je maksimalna koncentracija Cd, dok je na ostalim ispitivanim lokacijama, koncentracije Cd bila uglavnom niža

od vrijednosti nađenih u sedimentu duž obala Jadranskog mora u Hrvatskoj

1

(0.17 ? 0.4

mg/kg ), Sloveniji ( 0 .1 ? 0 .4 mg/kg ), Albaniji ( 0 .05 ? 0 .29 mg/kg) i Italiji ( 0 .05 ? 0 .48 mg/kg ) (Rivaro i

2

dr., 2011 ; Cukrov i dr., 2014 ; Šmuc i dr ., 2018; Mali i dr ., 2018). U

42

Egejskom moru u Turskoj su zabilježene niže koncentracije Cd (0.01 ? 0.05 mg/kg) u odnosu na vrijednosti izmjerene u ovoj studiji (Uluturhan, 2010), Tabela 5.4. Poređenjem dobijenih vrijednosti ispitivanih teških metala u sedimentima tokom dvogodišnjeg istraživanja na crnogorskom primorju sa literaturnim podacima iz okruženja, može se uočiti da su dobijene vrijednosti uglavnom u sličnom intervalu u odnosu na područja Sredozemnog i Jadranskog mora, Tabela 5.4.

Odstupanja se uglavnom odnose za pojedinačne elemente na lokacijama Ada Bojana, Tivat, Bijela i Bar. 5.1.2 Poređenje koncentracija teških metala u sedimentu sa dozvoljenim vrijednostima U Tabeli 5.5 je dat pregled dozvoljenih vrijednosti teških metala u

**sedimentu, propisanih od strane različitih zemalja i** svjetski **autoritativnih tijela, kao što su** : 1  
Centar za zaštitu **životne sredine**

, ribarstvo i akvakulturu, Ujedinjeno Kraljevstvo (CEFAS, 1994);

**Savjet za zaštitu životne sredine i očuvanje prirode Australije i Novog Zelanda** 1

(ANZECC/ARMCANZ 2000) i Kanadski savjet ministara životne sredine (CCME, 2019). U Tabeli 5.5 su predstavljeni i podaci o koncentracijama teških metala u sedimentu duž crnogorskog primorja tokom cjelokupnog ispitivanog perioda. Navedeni propisi su obično razvijeni za specifične ekosisteme, pa su korišćeni samo u svrhe poređenja (CEFAS, 1994; ANZECC/ARMCANZ 2000; CCME, 2019).

**Na osnovu** prikazanih **podataka u Tabeli 5** .5 **uočava se da** koncentracije As, Cd **i** 44

Cu sa ispitivanih lokacija duž crnogorskog primorja uglavnom nijesu

**prelazile granične vrijednosti, iznad kojih se očekuje negativno dejstvo na** morske **organizme** 1

. Opseg koncentracija Pb i Zn u ispitivanim sedimentima duž crnogorskog primorja nije prelazio granične vrijednosti propisane pravilnikom Velike Britanije (CEFAS, 1994), ali jeste prelazio granične vrijednosti propisane od strane Kanade i Australije i Novog Zelanda (ANZECC/ARMCANZ 2000; CCME, 2019). Opseg koncentracija Hg, Cr i Ni u ispitivanim sedimentima duž crnogorskog primorja je bio veći od propisanih graničnih vrijednosti (Tabela 5.5). Navedena prekoračenja se odnose isključivo na pojedinačne rezultate zabilježene na lokaciji Tivat, Bar, Bijela i Ada Bojana. Međutim, srednja koncentracija Hg u sedimentu tokom cjelokupnog istraživanja bila je u okviru vrijednosti propisanih od strane pravilnika Velike Britanije (CEFAS, 1994) i Kanadskog pravilnika (CCME, 2019). Takođe, srednje koncentracije Pb i Zn u sedimentu tokom cjelokupnog istraživanja bila su u okviru propisanih vrijednosti (CEFAS, 1994; ANZECC/ARMCANZ 2000; CCME, 2019), dok je srednja vrijednost Cr bila u okviru vrijednosti propisanih od strane pravilnika Australije i Novog Zelanda (ANZECC/ARMCANZ 2000), odnosno srednja vrijednost Ni odgovarala je vrijednostima propisanim pravilnikom Velike Britanije (CEFAS, 1994). Tabela 5.5 Koncentracije ispitivanih teških metala u uzorcima sedimenta sa crnogorskog primorja (2019?2020) i propisi sa graničnim vrijednostima teških metala u sedimentima Teški Ova Velika Britanija Australija i Novi Zeland Kanada metali studija CEFAS (1994) ANZECC/ARMCANZ

(2000) CCME (2019) (mg/kg suvog uzorka) As 7.4-44.1 (18.3) Hg <0.03-15.2 (0.765) Pb 15.8-369.6 (47.76) Cd 0.095-1.87 (0.274) Cr 63.2-3238 (342.5) Ni 20.7-640.2 (165.4) Zn 24.3-448.9 (124) Cu 6.8-156.8 (45) 20-100 0.3-3 50-500 0.4-5 40-100 20-200 130-800 40-400 20-70 0.15-1 50-220 1.5-10 80-370 21-52 200-400 65-270 7.24-41.6 0.13-0.7 30.2-112 0.7-4.2 52.3-160 / 124-271 18.7-108 Generalno, osim pojedinačnih izuzetaka gdje su zabilježene ekstremno visoke koncentracije Cr, Ni, Cu, Pb Hg i Zn, koncentracije ispitivanih metala za koje su date granične vrijednosti, bile su u okviru vrijednosti definisanih u pravilnicima (Tabela 5.1. 5.2 i 5.5).

5.1.3 Koncentracioni faktor, indeks opterećenja zagađenjem i geoakumulacioni indeks Vrijednosti koncentracionog faktora (CF) za deset ispitivanih metala u sedimentima sa deset različitih lokacija duž crnogorskog primorja, tokom cjelokupnog istraživanja, predstavljene su u Tabeli 5.6. Tabela 5.6 Koncentracioni faktor (CF) i indeks opterećenja zagađenja (PLI) u površinskim sedimentima sa crnogorskog primorja tokom cjelokupnog istraživanja Ispitivane CF lokacije Fe Mn Cr Ni Zn Cu Pb As Dobrota\* 1.45 0.81 2.08 1.54 2.15 1.53 5.11 1.57 Dobrota\*\* 1.13 0.68 2.08 1.19 1.94 1.01 4.25 1.45 Dobrota\*\*\* 1.35 0.89 2.16 1.58 2.42 1.20 4.42 1.52 Dobrota\*\*\*\* 1.07 0.95 3.12 1.16 2.41 0.94 3.65 1.23 Orahovac\* 1.49 0.91 1.78 1.52 1.55 1.57 3.96 1.90 Orahovac\*\* 1.50 0.99 1.65 1.34 1.81 1.25 3.53 2.05 Orahovac\*\*\* 1.44 1.00 1.86 1.54 1.88 1.23 3.50 1.67 Orahovac\*\*\*\* 1.38 0.93 1.59 1.31 1.88 1.28 3.32 1.84 Sveta Nedjelja\* 1.49 0.71 1.84 1.55 1.48 1.80 4.56 2.37 Sveta Nedjelja\*\* 0.84 0.50 1.14 0.61 1.14 1.15 2.47 1.77 Sveta Nedjelja\*\*\* 1.00 0.50 1.65 1.08 1.43 1.21 2.90 2.07 Sveta Nedjelja\*\*\*\* 1.10 0.52 1.55 1.12 1.54 1.49 2.92 1.92 Tivat\* 1.52 0.84 2.19 1.86 1.67 1.66 4.34 2.24 Tivat\*\* 1.21 0.42 1.83 0.98 2.88 1.67 7.70 4.85 Tivat\*\*\* 1.17 0.44 2.21 1.14 4.04 1.57 33.6 3.97 Tivat\*\*\*\* 1.44 0.66 1.94 1.59 1.76 1.39 3.05 2.04 Bijela\* 1.23 0.49 2.31 0.99 1.74 4.52 5.26 2.44 Bijela\*\* 1.28 0.67 1.73 1.13 1.93 2.57 3.63 2.08 Bijela\*\*\* 1.27 0.49 2.37 1.08 1.98 3.51 3.79 2.18 Bijela\*\*\*\* 1.34 0.54 2.17 1.22 2.74 4.08 4.54 2.08 Herceg Novi\* 1.11 0.65 2.57 1.57 1.54 1.04 3.12 1.75 Herceg Novi\*\* 0.77 0.54 1.67 0.87 1.35 1.27 2.58 2.70 Herceg Novi\*\*\* 0.91 0.67 2.67 1.46 1.46 0.97 3.47 2.23 Herceg Novi\*\*\*\* 0.58 0.64 1.68 0.75 1.36 1.06 2.66 2.41 Žanjice\* 0.79 0.45 1.56 0.99 0.77 0.58 2.25 4.19 Žanjice\*\* 0.34 0.35 0.76 0.55 0.38 0.32 1.71 1.29 Žanjice\*\*\* 0.31 0.33 0.57 0.43 0.32 0.20 1.51 1.47 Žanjice\*\*\*\* 0.38 0.26 0.67 0.50 0.40 0.36 2.10 1.41 Budva\* 0.38 0.39 1.96 0.16 0.41 0.36 2.57 1.65 Budva\*\* 0.51 0.48 0.59 0.30 0.94 0.91 1.80 0.81 Budva\*\*\* 0.35 0.37 1.53 0.33 0.43 0.52 3.01 1.59 Budva\*\*\*\* 0.33 0.31 0.54 0.18 0.52 0.56 2.69 1.67 Bar\* 0.85 0.63 1.88 0.80 1.12 0.74 3.04 1.66 Bar\*\* 0.86 0.58 1.60 0.71 5.91 1.51 14.5 1.88 Bar\*\*\* 1.00 0.51 1.64 0.88 1.74 0.83 6.29 1.77 Bar\*\*\*\* 1.06 0.53 1.40 0.80 1.40 0.89 3.31 1.54 Ada Bojana\* 1.65 0.96 4.47 2.56 1.14 0.66 1.73 1.63 Ada Bojana \*\* 1.74 1.21 6.01 5.00 1.00 0.88 1.43 2.16 Ada Bojana\*\*\* 2.39 1.05 22.1 3.44 1.27 0.82 1.45 1.56 Ada Bojana \*\*\*\* 3.20 1.20 29.4 3.90 1.43 0.75 2.01 1.69 Hg Cd 3.58 0.99 3.33 0.73 4.11 0.88 3.86 0.75 2.14 0.98 1.75 1.01 1.41 1.10 2.21 1.17 4.88 0.84 2.74 0.56 2.34 0.72 3.07 0.81 3.72 0.79 114.2 0.72 37.4 0.94 3.38 0.77 3.95 0.77 3.40 0.77 3.77 0.80 4.27 0.83 1.98 0.63 2.61 0.76 2.96 0.70 3.18 1.03 0.74 0.47 0.26 0.32 0.71 0.48 0.23 0.34 0.08 0.82 1.87 1.00 1.10 0.71 0.23 0.38 0.65 0.82 1.56 6.23 0.86 0.87 0.71 0.92 0.12 0.70 0.85 0.50 0.52 0.79 0.23 1.07 PLI 1.80 1.49 1.76 1.60 1.64 1.58 1.56 1.59 1.80 1.10 1.32 1.41 1.82 2.59 2.87 1.61 1.83 1.67 1.76 1.93 1.41 1.31 1.49 1.30 0.98 0.51 0.51 0.51 0.54 0.80 0.75 0.51 1.06 2.05 1.24 1.10 1.13 1.54 1.68 1.82 \* proljeće 2019; \*\* jesen 2019; \*\*\* proljeće 2020; \*\*\*\* jesen 2020 Neznatna kontaminacija; Umjerena kontaminacija; Jaka kontaminacija; Ekstremna kontaminacija Lokacije Dobrota i Sveta Nedjelja su prema CF vrijednostima bile nisko kontaminirane Mn i Cd, umjereno kontaminirane Fe, Cr, Ni, Zn, Cu, As i jako kontaminirane Pb i Hg. Lokacija Orahovac je na osnovu CF vrijednosti okarakterisana kao nisko kontaminirana sa Mn, umjereno kontaminirana sa Fe, Cr, Ni, Zn, Cu, As, Cd, Hg i jako kontaminirana sa Pb. Vrijednosti CF su lokaciju Tivat klasifikovale kao nisko kontaminiranu sa Mn i Cd, umjereno kontaminiranu sa Fe, Cr, Ni i Cu, umjereno ka jako kontaminiranu sa Zn i As i jako ka ekstremno kontaminiranu Pb i Hg. Bijela je klasifikovana kao nisko kontaminirana Mn i Cd, umjereno kontaminirana Fe, Cr, Ni, Zn, As i jako kontaminirana Cu, Pb i Hg, na osnovu vrijednosti CF. Lokacija Herceg Novi je prema vrijednostima CF

bila nisko kontaminirana sa Fe, Mn i Cd, umjereno kontaminirana Cr, Ni, Zn, Cu, As, Hg i jako kontaminirana sa Pb. Lokacije Žanjice i Budva su na osnovu CF vrijednosti okarakterisane kao nisko kontaminirane Fe, Mn, Ni, Zn, Cr, Cd, nisko do umjereno kontaminirane Cr i Ni, nisko do jako kontaminirane Pb i As. Bar je nisko kontaminiran Mn i Ni, nisko do umjereno kontaminiran Fe, Cr, Cu, As, Hg, umjereno do jako kontaminiran Zn, jako do ekstremno kontaminiran Pb i nisko do ekstremno kontaminiran Cd na osnovu vrijednosti CF. Lokacija Ada Bojana je prema vrijednostima CF bila nisko kontaminirana Cu, Hg i Cd, umjereno kontaminirana As, Pb, Zn, Mn, umjereno do jako kontaminirana Fe i Ni i ekstremno kontaminirana Cr, Tabela 5.6. Generalno, opadajući niz CF za ispitivane metale tokom cjelokupnog istraživanja kretao se: Hg > Pb > Cr > As > Zn > Cu > Ni > Fe > Cd > Mn, što je u saglasnosti sa ranijim istraživanjima na istim lokacijama (Joksimović i dr., 2019). Autori navode da visoke vrijednosti CF u sedimentima mogu biti posledica: ispusta otpadnih voda, neadekvatnog načina upravljanja i tretiranja komunalnog, industrijskog i građevinskog otpada, kao i neadekvatno tretiranje korišćenih motornih ulja, mobilizacije teških metala u sediment usled fizičko-hemijskih promjena na granici sediment-voda, hidro-meteoroloških uslova poput padavina, priliva slatkih voda, kao i geoloških karakteristika sedimenta (Ololade 2014; Khan i dr., 2017). Da bi se jasno definisalo da li su lokacije na kojima je uzorkovan sediment kontaminirane ili ne ispitivanim teškim metalima, korišćen je indeks opterećenja zagađenjem (PLI), Tabela 5.6. Vrijednosti PLI u ovom istraživanju bile su > 1 za sve ispitivane lokacije tokom četiri sezone uzorkovanja, osim na lokacijama Žanjice i Budva gdje su vrijednosti PLI bile < 1 tokom cjelokupnog perioda istraživanja. Na osnovu vrijednosti PLI, ispitivane lokacije su se kretale opadajućim nizom: Tivat > Bijela > Dobrota > Orahovac > Ada Bojana > Sveta Nedjelja > Herceg Novi > Bar > Žanjice > Budva. Rezultati PLI ukazuju da sedimenti na lokacijama unutar Bokokotorskog zaliva, kao i Ada Bojana sadrže povećane koncentracije ispitivanih teških metala, što je u saglasnosti sa ranijim studijama (Joksimović i dr., 2019). Iako PLI vrijednosti pokazuju da je zagađenje prisutno, crnogorsko primorje spada u područje koje je najmanje zagađeno sadržajem teških metala u sedimentu (Joksimović i dr., 2019). Rezultati geoakumulacionog indeksa (Igeo) koji definiše različite stepene obogaćenja iznad pozadinske vrijednosti metala, i predstavlja zagađenje kao posledicu prirodnih i/ili antropogenih aktivnosti, predstavljeni su u Tabeli 5.7. Igeo vrijednosti za Fe, Mn i Cd, Dobrotu kategorizuju kao nezagađenu, Igeo za Cr, Ni, Zn, Cu i As kao neznatno zagađenu, dok vrijednosti Igeo za Pb i Hg kao umjereno zagađenu lokaciju. Igeo vrijednosti svih ispitivanih metala osim Pb, lokaciju Orahovac kategorizuju kao nezagađenu do neznatno zagađenu lokaciju. Igeo vrijednosti za Pb, lokaciju Orahovac kategorizuje kao umjereno zagađenu lokaciju. Sa druge strane, Svetu Nedjelju Igeo vrijednosti za Pb i Hg kategorizuju kao neznatno do umjerno zagađenu lokaciju, dok Igeo vrijednosti za ostale ispitivane metale Svetu Nedjelju svrstavaju u nezagađenu do neznatno zagađenu lokaciju. Međutim, lokaciju Tivat Igeo vrijednosti za Pb i Hg klasifikuju od umjerno do ekstremno zagađenu lokaciju, dok u pogledu Igeo vrijednosti ostalih metala u nezagađenu do umjereno zagađenu lokaciju. Vrijednosti Igeo u Bijeloj, za sve ispitivane metale osim za Cu, Pb i Hg, ovu lokaciju kategorizuju kao nezagađenu do neznatno zagađenu, odnosno umjereno zagađenu na osnovu vrijednosti Igeo za Cu, Pb i Hg. Herceg Novi, Žanjice i Budva se na osnovu vrijednosti Igeo za sve ispitivane metale klasifikuju kao nezagađene do neznatno zagađene lokacije, osim par vrijednosti Igeo za Pb, As i Hg, koje ove lokacije kategorizuje kao umjereno zagađene. Igeo vrijednosti za Pb i Cd Bar kategorizuju kao umjereno do jako zagađenu lokaciju i nezagađenu do umjereno zagađenu lokaciju na osnovu Igeo vrijednosti ostalih ispitivanih metala. Lokacija Ada Bojana se na osnovu Igeo vrijednosti za Mn, Zn, Cu, Hg i Cd klasifikuje kao nezagađena, na osnovu Igeo za Fe, Ni, Pb i As kao nezagađena do umjereno zagađena i na osnovu Igeo za Cr od umjereno, jako do ekstremno zagađena lokacija, Tabela 5.7. Generalno, Igeo vrijednosti ukazuju da su ispitivane lokacije uglavnom kategorisane kao nezagađene ili neznatno do umjereno zagađene ispitivanim teškim metalima. Veće vrijednosti Igeo su uočene za Pb i Hg u Tivtu; Pb i Cd u Baru i Cr na Adi Bojani. Tabela 5.7 Vrijednosti

geoakumulacionog indeksa (Igeo) u površinskim sedimentima sa crnogorskog primorja tokom cjelokupnog istraživanja

Ispitivane Igeo lokacije Fe Mn Cr Ni Zn Cu Pb As Hg Cd Dobrota\* -0.05 -0.90 0.47 0.04 0.52 0.03 1.77 0.07 1.25 -0.60  
Dobrota\*\* -0.40 -1.14 0.47 -0.34 0.37 -0.57 1.50 -0.05 1.15 -1.05 Dobrota\*\*\* -0.15 -0.76 0.52 0.07 0.69 -0.32 1.56 0.02  
1.46 -0.77 Dobrota\*\*\*\* -0.49 -0.66 1.05 -0.37 0.69 -0.67 1.28 -0.29 1.37 -1.00 Orahovac\* -0.01 -0.72 0.25 0.02 0.05 0.07  
1.40 0.34 0.51 -0.62 Orahovac\*\* 0.001 -0.60 0.14 -0.16 0.27 -0.26 1.23 0.45 0.22 -0.58 Orahovac\*\*\* -0.06 -0.59 0.31 0.04  
0.32 -0.29 1.22 0.16 -0.09 -0.45 Orahovac\*\*\*\* -0.12 -0.68 0.08 -0.20 0.33 -0.22 1.15 0.29 0.56 -0.36 Sveta Nedjelja\* -0.01  
-1.08 0.29 0.04 -0.02 0.27 1.60 0.66 1.70 -0.84 Sveta Nedjelja\*\* -0.83 -1.58 -0.40 -1.30 -0.40 -0.38 0.72 0.24 0.87 -1.42  
Sveta Nedjelja\*\*\* -0.59 -1.58 0.13 -0.47 -0.07 -0.31 0.95 0.46 0.64 -1.06 Sveta Nedjelja\*\*\*\* -0.44 -1.52 0.05 -0.43 0.04  
-0.01 0.96 0.36 1.03 -0.89 Tivat\* 0.02 -0.84 0.55 0.31 0.15 0.15 1.53 0.58 1.31 -0.93 Tivat\*\* -0.31 -1.83 0.28 -0.61 0.94  
0.16 2.36 1.69 6.25 -1.05 Tivat\*\*\* -0.36 -1.77 0.56 -0.39 1.43 0.07 4.49 1.40 4.64 -0.68 Tivat\*\*\*\* -0.06 -1.19 0.37 0.09  
0.23 -0.11 1.03 0.45 1.17 -0.96 Bijela\* -0.29 -1.61 0.62 -0.61 0.22 1.59 1.81 0.70 1.40 -0.96 Bijela\*\* -0.22 -1.16 0.21 -0.40  
0.36 0.78 1.27 0.47 1.18 -0.97 Bijela\*\*\* -0.24 -1.60 0.66 -0.47 0.40 1.23 1.34 0.54 1.33 -0.91 Bijela\*\*\*\* -0.16 -1.47 0.53  
-0.30 0.87 1.44 1.60 0.47 1.51 -0.86 Herceg Novi\* -0.43 -1.20 0.78 0.07 0.04 -0.53 1.05 0.22 0.40 -1.26 Herceg Novi\*\*  
-0.97 -1.47 0.16 -0.79 -0.15 -0.24 0.78 0.85 0.80 -0.97 Herceg Novi\*\*\* -0.71 -1.17 0.83 -0.04 -0.04 -0.63 1.21 0.57 0.98  
-1.09 Herceg Novi\*\*\*\* -1.37 -1.23 0.17 -0.99 -0.14 -0.50 0.83 0.68 1.08 -0.54 Žanjice\* -0.93 -1.74 0.06 -0.60 -0.96 -1.38  
0.58 1.48 -1.03 -1.68 Žanjice\*\* -2.12 -2.10 -0.98 -1.45 -1.97 -2.21 0.19 -0.22 -2.55 -2.24 Žanjice\*\*\* -2.29 -2.18 -1.38 -1.81  
-2.23 -2.93 0.01 -0.03 -1.09 -1.63 Žanjice\*\*\*\* -1.97 -2.53 -1.16 -1.60 -1.90 -2.06 0.49 -0.09 -2.73 -2.13 Budva\* -1.99 -1.96  
0.39 -3.21 -1.86 -2.06 0.78 0.14 -4.18 -0.88 Budva\*\* -1.56 -1.66 -1.35 -2.31 -0.68 -0.72 0.26 -0.88 0.32 -0.58 Budva\*\*\*  
-2.09 -2.01 0.03 -2.18 -1.79 -1.53 1.01 0.09 -0.45 -1.07 Budva\*\*\*\* -2.18 -2.29 -1.48 -3.06 -1.52 -1.42 0.84 0.16 -2.73 -1.97  
Bar\* -0.83 -1.26 0.33 -0.91 -0.42 -1.03 1.02 0.15 -1.21 -0.87 Bar\*\* -0.79 -1.38 0.10 -1.09 1.98 0.01 3.27 0.33 0.05 2.06  
Bar\*\*\* -0.58 -1.57 0.13 -0.77 0.21 -0.86 2.07 0.24 -0.81 -0.78 Bar\*\*\*\* -0.51 -1.50 -0.10 -0.90 -0.10 -0.75 1.14 0.04 -1.07  
-0.70 Ada Bojana\* 0.14 -0.64 1.58 0.77 -0.39 -1.18 0.21 0.12 -3.64 -1.09 Ada Bojana \*\* 0.21 -0.31 2.00 1.74 -0.58 -0.78  
-0.07 0.53 -0.82 -1.58 Ada Bojana\*\*\* 0.67 -0.51 3.88 1.20 -0.24 -0.87 -0.05 0.06 -1.53 -0.93 Ada Bojana \*\*\*\* 1.09 -0.32  
4.29 1.38 -0.07 -1.00 0.42 0.17 -2.73 -0.48 \* proljeće 2019; \*\* jesen 2019; \*\*\* proljeće 2020; \*\*\*\* jesen 2020; Nezagađen;  
Neznatno zagađen; Umjereno zagađen; Umjereno do jako zagađen; Jako zagađen; Jako do ekstremno zagađen;  
Ekstremno zagađen Teški metali u vodenoj sredini imaju visok afinitet vezivanja (apsorpcije) za čestice, stoga se većina  
teških metala akumulira na površini sedimenta (Wang i dr., 2015). Nakon akumulacije, teški metali se usled različitih  
abiotičkih faktora (temperatura, pH, salinitet) u vodenoj sredini mogu desorbovati sa površine sedimenta i dospjeti u  
vodeni stub (Li i Dejvis, 2008). Kako sediment oslikava arhivu morske istorije i prošlih događaja, na osnovu dobijenih  
rezultata sedimenti crnogorskog primorja mogu predstavljati potencijalne sekundarne izvore teških metala. Istraživanje  
teških metala u površinskim sedimentima pruža značajan uvid o zagađenju vodene sredine teškim metalima. 5.1.4  
Analiza glavnih koordinata i klusterska analiza teških metala u sedimentima Analizom glavnih koordinata i klusterskom  
analizom izvršeno je grupisanje i predstavljanje uzoraka sedimenta na osnovu izmjerenih koncentracija teških metala  
prema: lokacijama, sezonama, godini i području uzorkovanja. Analiza je obavljena pojedinačno za obje godine  
uzorkovanja. Slika 5.1 Grafički prikaz rasporeda promjenljivih u uzorcima sedimenta u odnosu na područje, lokacije i  
sezonu uzorkovanja tokom 2019. godine, PCO + CO analiza Na Slici 5.1 je prikazana zajednička PCO i CO analiza  
uzoraka sedimenata uzorkovanih tokom 2019. godine na osnovu koncentracija ispitivanih teških metala u odnosu na  
područje, lokacije i sezonu uzorkovanja. Na Slici 5.1 uočavaju se dva odvojena klastera, sa međusobnom povezanošću  
od 75%. Prvi klaster obuhvata uzorke sedimenta sa lokacija Žanjice i Budva. U sedimentima na ovim lokacijama su  
zabilježene najmanje koncentracije Fe, kao i niže koncentracije svih ostalih ispitivanih metala u odnosu na ostale

ispitivane lokacije, pa međusobna sličnost i povezanost unutar prvog klastera iznosi 85%. Drugi klaster sastoji se od pet podklastera, čija međusobna povezanost i sličnost iznosi 85%, a unutar klastera 95%. Prvi podklaster sačinjava uzorke sedimenta sa lokacija Bar i Žanjice uzorkovane tokom proljećnjeg perioda, odnosno uzorke sedimenta sa lokacija Sveta Nedjelja i Herceg Novi uzorkovane tokom jesenjeg perioda. Navedene lokacije u zajedničkom klasteru uglavnom vezuju niske koncentracije Cr, Pb i Cd. Sediment uzorkovan u jesenjem periodu sa lokacije Bar, sadržao je visoke koncentracije Zn, u odnosu na sedimente uzorkovane na drugim lokacijama tokom obje sezone (proljeće?jesen 2019), zbog čega se pojavljuje samostalno u drugom podklasteru. Visoke koncentracije As i Cu su zabilježene u sedimentima uzorkovanim u proljećnjem periodu na lokacijama Bijela i Herceg Novi i u sedimentima uzorkovanim u jesenjem periodu na lokacijama Dobrota, Tivat i Bijela, zbog čega su navedeni sedimenti svrstani u trećem podklasteru. Četvrti podklaster sačinjavaju sedimenti uzorkovani tokom proljećnjeg perioda (Dobrota, Orahovac, Sveta Nedjelja i Tivat) i sediment uzorkovan tokom jesenjeg perioda (Orahovac), čija se sličnost i povezanost zasniva uglavnom na povećanom sadržaju Fe i Mn. Sedimenti sa lokacije Ada Bojana su sadržali najveće koncentracije Fe, Mn, Cr i Ni zbog čega su svrstani u petom podklasteru, Slika 5.1. Na osnovu PCO analize se uočava razdvajanje lokacija u odnosu na koncentracije ispitivanih teških metala u sedimentima. Tačnije, lokacije u čijim je sedimentima zabilježena manja koncentracija ispitivanih metala smještene su u negativnom dijelu grafika u odnosu na PCO1 osu. Sa druge strane, lokacije sa većim koncentracijama ispitivanih metala u sedimentima smještene su u pozitivnom dijelu grafika u odnosu na PCO1 osu. Na osnovu PCO2 ose primjećuje se razdvojenost lokacija na osnovu područja uzorkovanja, odnosno lokacije sa otvorenog mora su uglavnom pozicionirane u negativnom dijelu, a lokacije iz Bokokotorskog zaliva u pozitivnom dijelu grafika. Ne uočava se razlika u koncentracijama ispitivanih metala u odnosu na sezonu uzorkovanja. Zbir dvije glavne komponente PCO analize iznosi 94.3% ukupnih varijacija, Slika 5.1. Na Slici 5.2 je prikazana zajednička PCO i CO analize uzoraka sedimenta uzorkovanih tokom 2020. godine na osnovu koncentracija ispitivanih teških metala u odnosu na područje, lokacije i sezonu uzorkovanja. Na Slici 5.2 se primjećuju tri odvojena klastera, sa međusobnom povezanošću od 70%. Prvi klaster obuhvata uzorke sedimenta sa lokacija Žanjice i Budva, koje se odlikuju najmanjim sadržajem skoro svih ispitivanih metala, a njihova međusobna sličnost i povezanost iznosi 90%. Drugi klaster sačinjavaju uzorci sedimenta sa lokacija Dobrota, Orahovac, Sveta Nedjelja, Tivat, Bijela, Herceg Novi i Bar koje uglavnom karakteriše slična zastupljenost Cd. Međutim unutar drugog klastera sediment koji je uzorkovan tokom jesenjeg perioda na lokaciji Herceg Novi se pojavljuje samostalno usled niže koncentracije Fe u odnosu na sedimente uzorkovane na drugim lokacijama. U trećem klasteru se nalaze sedimenti uzorkovani na lokaciji Ada Bojana, a koji se odlikuju povišenim koncentracijama Fe, Mn, Ni i Cr, Slika 5.2. Slično kao sa uzorcima sedimenta koji su uzorkovani 2019. godine, na osnovu PCO analize uočava se razdvojenost lokacija u zavisnosti od sadržaja teških metala u sedimentima (PCO1 osa) i u zavisnosti od područja uzorkovanja (PCO2 osa), ali se ne uočava razdvojenost u odnosu na sezonu uzorkovanja. PCO analiza zbirom dvije glavne komponente iznosi 97.2% ukupnih varijacija, Slika 5.2. Slika 5.2 Grafički prikaz rasporeda promjenljivih u uzorcima sedimenta u odnosu na područje, lokacije i sezonu uzorkovanja tokom 2020. godine, PCO + CO analiza Nijesu postojale značajne razlike u koncentracijama ispitivanih teških metala u analiziranim sedimentima tokom cjelokupnog perioda istraživanja u odnosu na godinu uzorkovanja. Na Slici 5.3 prikazana je CO analiza koncentracije ispitivanih teških metala u uzorcima sedimenta tokom cjelokupnog perioda ispitivanja Slika 5.3 Grafički prikaz rasporeda teških metala u uzorcima sedimenta tokom cjelokupnog perioda istraživanja, CO analiza. Na Slici 5.3 se primjećuje pet klastera: u prvom klasteru se nalaze metali Hg i Cd; u drugom se nalazi Fe; u trećem se nalaze As, Cu i Pb; u četvrtom se nalazi Mn; dok se u petom klasteru nalaze Cr, Ni i Zn.