

**UNIVERZITET CRNE GORE**  
**PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET**

**Dražana Radonjić**

**DINAMIKA EMERGENTNIH SUPSTANCI U VODI (EmS)  
I ENDOKRINO-UZNEMIRAVAJUĆIH HEMIKA LIJA  
(EDCs) U EKOSISTEMIMA RIJEKE MORAČE I  
SKADARSKOG JEZERA**

**Doktorska disertacija**

**Podgorica 2021.**

**UNIVERSITY OF MONTENEGRO**  
**FACULTY OF SCIENCE AND MATHEMATICS**

**Dražana Radonjić**

**DYNAMICS OF EMERGING WATER SUBSTANCES (EmS)  
AND ENDOCRINE-DISRUPTING CHEMICALS (EDCs)  
IN RIVER MORACA AND SKADAR LAKE ECOSYSTEMS**

**Doctoral Dissertation**

**Podgorica 2021**

## DOKTORAND

Ime i prezime: *MSc Dražana Radonjić*

Datum rođenja: 05.09.1973

Naziv završenog studijskog programa i godina završetka:

- Studijski program biologija, osnovne studije 1997 godina;
- Studijski program biologija – smjer mikrobiologija, specijalističke studije, 2003. godina;
- Studijski program biologija – smjer ekologija, master studije, 2007. godina

### UDK, OCJENA I ODBRANA DOKTORSKE DISERTACIJE

Datum prijave doktorske teze: \_\_\_\_\_ godine

Datum sjednice Senata Univerziteta na kojoj je prihvaćena teza: \_\_\_\_\_ godine

#### Komisija za ocjenu podobnosti teze i kandidata:

**Prof. dr Mira Petrović,**

Catalan Institute for Water Research, Spain, **mentor**

**Dr Slaviša Stanković,**

redovni profesor Biološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu,

**Dr Svetlana Perović,**

redovni profesor Prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta Crne Gore

**Dr Slađana Krivokapić,**

vanredni profesor Prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta Crne Gore

**Dr Danilo Mrdak**

vanredni profesor Prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta Crne Gore

#### Komisija za ocjenu doktorske disertacije:

**Prof. dr Mira Petrović,**

Catalan Institute for Water Research, Spain, **mentor**

**Dr Slaviša Stanković,**

redovni profesor Biološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu,

**Dr Svetlana Perović,**

redovni profesor Prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta Crne Gore

**Dr Slađana Krivokapić,**

vanredni profesor Prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta Crne Gore

**Dr Danilo Mrdak,**

vanredni profesor Prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta Crne Gore

# REZIME

Prisustvo tragova emergentnih supstanci (EmS), kao što su PhACs farmaceutski spojevi, endokrino uznemirajuće hemikalije (EDCs), (npr. prirodni i sintetički estrogini i njihovi konjugati, bisphenol A, alkilfenoli), kao i jedinjenja za koje se sumnja da mogu da budu EmS (antimikrobna sredstva, benzotriazoli i organofosforna protivzapaljiva sredstva) postalo je predmet posebnog interesovanja u posljednjoj deceniji s obzirom na to da niske koncentracije ovih analita ranije nisu mogle biti detektovane. U postrojenjima za prečišćavanje otpadnih voda mnogi farmaceutici (PhACs) se ne uklanjaju efikasno, zbog čega dospevaju u prirodne vode. Zbog ograničenog znanja o koncentraciji, degradaciji i posledicama prisustva u životnoj sredini, tragovi PhACs u vodi još uvek nisu zakonski regulisani.

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

Na osnovu prvih „Skrining analiza” površinskih voda rijeke Morače i Skadarskog jezera utvrđeno je prisustvo velikog broja organskih jedinjenja i to 528, od kojih je identifikovano 119. Ustanovljeno je da se fenotipski mikroorganizmi mijenjaju, ali da je za te promjene potrebno vrijeme i generacijske promjene mikroorganizama. Od svih ispitanih EDCs i PhACs, čije smo prisustvo pokušali da utvrdimo u tkivima riba, jedino je utvrđena koncentracija Triclosan od  $14,1 \pm 1,3$  ng g<sup>-1</sup>, i to samo mišićnom tkivu ribe *Alburnus alburnus*. U uzorcima voda zabilježeno prisustvo NSAID-Nesteroidnih antiinflamatornih lijekova, sa izuzetno niskim koncentracijama za koji je HQ- rizik opterećenosti ekosistema iznosi 0,01 te stoga ne postoji potencijalni ekološki rizik.

---

**Ključne riječi:** emergentne supstance (EmS), farmaceutski spojevi (PhACs), endokrino uznemirajuće hemikalije (EDCs), procjena fiziološkog profila mikrobioloških zajednica CLPP, prosječni metabolički odgovor AMR, diverzitet metabolizma mikroorganizama CMD, HQ-potencijalni ekološki rizik, prisustvo NSAID-Nesteroidnih antiinflamatornih lijekova.

**Naučna oblast:** Biologija

**Uža naučna oblast:** ekologija voda i primijenjena mikrobiologija

**UDK broj:**



# ABSTRACT

The presence of emergent substances (EmS), such as pharmaceuticals (PhACs), endocrine disrupting substances (EDCs) (e.g. natural and synthetic oestrogens and their conjugates, bisphenol A, alkyl phenols) as well as compounds that are suspected to be EmS (antimicrobial agents, benzotriazoles and organophosphorus flame retardants) became the interest of many in the past decade, because low concentration of these analytes could not have been detected before. In water purification plants, many pharmaceuticals (PhACs) are not eliminated properly, and therefore end up polluting natural waters. Because the knowledge about concentration, degradations and consequences they have on the environment is limited, PhACs presence is still not regulated by law.

This study, for the first time in Montenegro, describes and explains the terms EmS and EDCs, performed “screening research” of the lower reaches of the Morača River and some localities of the Skadar Lake basin, determined the concentrations of EmS and EDCs in the six most important fish stocks. For the first time in Montenegro, the presence of PhACs and EDCs in water samples was determined at the sites of Zlatica, Vukovci, Left and Right branches of the Morača River, “Kraljeva glavica” - Vranjina and “Tanki rt” - Skadarsko Lake during the period of high water-winter spring, and low waters- summer autumn during 2017-2018. years. Along with these results, microbiological parameters of the physiological group of microorganisms, heterotrophic, oligotrophic, coliform groups of bacteria and their identification were monitored, the physiological profile of CLPP microbiological communities was assessed, the average metabolic response AMR and the diversity of CMD community metabolism were calculated. An assessment of the ecological load of the system was performed using risk assessments that may arise from the action of PhACs on organisms in water by calculating the HQ damage coefficient.

Based on the first “Screening analyses” of river Moraca and Skadar lake’s surface waters, high number of present organic compounds has been assessed, and out of the 528 of them being present, 119 have been identified. Phenotypic organisms are changing, but for those changes to happen both time and generational alteration are needed. Presence of EDCs and PhACs has been researched in fish tissue. Triclosan in the concentration of  $14,1 \pm 1,3 \text{ ng g}^{-1}$  has been detected in the muscle tissue of the fish *Alburnus alburnus*. In water samples, the presence of NSAID-nonsteroidal anti-inflammatory drugs has been detected, but in concentrations so small, they do not present as potential ecological risk (HQ-risk of ecological overload was 0,01).

Based on everything presented, we can conclude that river Moraca and Skadar lake remain “unpolluted” aquatic ecosystems, thanks to the dominant autotrophic microorganisms, as well as the presence of physiological group of microorganisms.

---

**Keywords:** emergent substances (EmS), pharmaceuticals (PhACs), endocrine disrupting substances (EDCs), HQ- potential ecological risk, NSAID-nonsteroidal anti-inflammatory drugs, physiological profile of CLPP microbiological communities, average metabolic response AMR, the diversity of CMD community metabolism, HQ- as potential ecological risk, the presence of NSAID-nonsteroidal anti-inflammatory drugs.

**Scientific area:** Biology

**Special scientific area:** water ecology and applied microbiology

**UDK number:**

### *Zahvalnica*

*Najveću zahvalnost dugujem svojoj mentorki Profesorici Miri Petrović, koja je svih ovih godina bila stub i sigurnost, promoter ideja i pokrovitelj svih rezultata.*

*Veliku zahvalnost dugujem uvaženim članovima komisije, koji su našli vremena za moj rad i sluha za ideje i pojmove koji ovaj rad promoviše.*

*Ovaj rad posvećujem mojoj majci Miloratki, a kroz nju i svim majkama koje se sav svoj život bore za svoju djecu*

*Srdačno,  
Dražana Radonjić*

# SADRŽAJ

|  |    |
|--|----|
| 1. UVOD .....  | 1  |
| 1.1 Voda kao prirodni resurs .....                               | 2  |
| 1.2 Zagađivanje voda .....                                       | 3  |
| 1.3 Putevi kojima EmS i EDCs dospevaju u vodene ekosisteme ..... | 6  |
| 1.4 Mikroorganizmi u vodenim ekosistemima .....                  | 10 |
| 1.5 Biotički faktori .....                                       | 13 |
| 2. PREGLED DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA .....                        | 16 |
| 3. CILJ RADA .....   | 18 |
| 4. MATERIJAL I METODE .....                                      | 19 |
| 4.1 Opis istraživanih lokacija.....                              | 19 |
| 4.2. Klimatske karakteristike .....                              | 20 |
| 4.3 Istraživano područje.....                                    | 20 |
| 4.3.1 Pregled istraživanih lokaliteta .....                      | 21 |
| 4.4 Uzorkovanje uzoraka na terenu .....                          | 21 |
| 4.4.1 Uzimanje uzoraka za fizičko – hemijska ispitivanja .....   | 21 |
| 4.4.2 Uzorkovanje vode za bakteriološke analize .....            | 22 |
| 4.4.3 Uzorkovanje za "Skrining" analize .....                    | 22 |
| 4.4.4 Određivanje prisustvo PhACs i EDCs u tkivima riba.....     | 23 |
| 4.4.5 Uzorkovanje za analizu farmaceutika u uzorcima vode. ....  | 26 |
| 4.4.6 Terenska mjerenja pokazatelja kvaliteta .....              | 28 |
| 4.6 Mikrobiološke analize .....                                  | 30 |
| 4.6.1 Hranljive podloge, reagensi, boje i rastvori .....         | 30 |
| 4.6.2 Metode za bojenje mikroorganizama.....                     | 30 |
| 4.6.3 Određivanje sanitarne grupe mikroorganizama.....           | 31 |
| 4.6.4 Određivanje fiziološke grupe mikroorganizama .....         | 31 |
| 4.7 Utvrđivanje bioloških parametara .....                       | 32 |

|  |     |
|--|-----|
| 4.8 Procjena rizika koji može nastati djelovanjem PhACs na organizme u vodi izračunavanjem HQ hazard quotient-količnika štete Sanchez-Bayo (2002). ....                    | 34  |
| 4.9 Statistička obrada podataka.....   | 35  |
| 5. REZULTATI .....   | 36  |
| 5.1 Fizičko-hemijske karakteristike voda istraživanih lokaliteta .....   | 36  |
| 5.2. Mikrobiološki kvalitet vode istraživanih lokaliteta (u odnosu na ekološke parametre) .....  | 41  |
| 5.2.1 Statistička obrada podataka mikrobiološkog kvaliteta vode istraživanih lokacija .....  | 45  |
| 5.3 Mikrobiološki kvalitet vode istraživanih lokaliteta i statistička obrada podataka mikrobiološkog kvaliteta vode istraživanih lokacija u odnosu nasanitarni aspekt..... | 51  |
| 5.4 Fenotipske karakteristike mikroorganizama u toku 2016-2018. godine ...   | 59  |
| 5.5 Rezultati „Skrining“ ispitivanja za EmS tokom 2013-2014. godine .....  | 64  |
| 5.6 Rezultati analize koncentracije EDCs i PhACs u tkivu riba .....  | 69  |
| 5.7 Rezultati analize koncentracije PhACs u uzorcima voda istraživanih lokaliteta tokom 2017-2018.godine .....   | 72  |
| 5.8 Rezultati HQ .....   | 77  |
| 6. DISKUSIJA .....   | 79  |
| 7. ZAKLJUČCI .....   | 93  |
| Preporuke: .....   | 95  |
| 8. LITERATURA .....  | 96  |
| Prilog 1. ....   | 104 |
| Prilog 2. ....   | 139 |
| BIOGRAFIJA .....   | 144 |

# 1. UVOD

Zagađenje životne sredine postalo je jedan od najizazovnijih, svakodnevnih problema. S razvojem industrijalizacije i urbanizacije, zabrinjavajuće je evoluirala degradacija kvaliteta životne sredine. Različite kategorije zagađivača, postali su ozbiljan problem na globalnom nivou, jer ulaskom u vodene ekosisteme mogu uticati na floru i faunu, kao i na ljude i njihovo zdravlje (Bunke et al., 2019). Voda, kao bitan resurs za život na Zemlji, jedan je od najranjivijih dijelova životne sredine, pa je zagađenje voda postalo pitanje od najvećeg interesa i zabrinutosti u cijelom svijetu. Posebno prisustvo tragova emergentnih supstanci (EmS) kao što su farmaceutici, endokrino uznemirajuće supstance (EDCs) kao što su npr. prirodni i sintetički estrogini i njihovi konjugati, bisphenol A, alkilfenoli, kao i jedinjenja za koje se sumnja da mogu biti antimikrobna sredstva, benzotriazoli i organofosforna zapaljiva sredstva, postalo je predmet posebnog interesovanja naučnika i istraživača u posljednjoj deceniji, s obzirom na to da niske koncentracije ovih jedinjenja ranije nisu mogle biti detektovane.

Odlaganjem lijekova kojima je prošao rok upotrebe na nekontrolisane deponije može dovesti do zagađenja podzemnih voda usljed spiranja poroznog zemljišta (Jørgensen & Halling-Sørensen 2000). Jasno je prepoznat veliki problem koji EmS izazivaju u vodenim ekosistemima, naročito što se njihovo uklanjanje u procesu prečišćavanja voda odvija izuzetno slabo, a zavisi od mnogih faktora, kao što su npr. priroda aktivne supstance lijeka, sastav otpadnih voda, tehnologija prerade otpadnih voda i dr. (Carballa et al. 2004; Roberts & Thomas 2006). Poznato je, na primjer, da je procenat uklanjanja kiselih jedinjenja, kao što su lijekovi diklofenak i acetilsalicilna kiselina, prilično nizak (Petrović et al. 2003). Ukoliko je čovjek, npr., putem vode za piće, neprekidno izložen izuzetno niskim koncentracijama raznovrsnih lijekova, može doći do povećanja toksičnosti lijeka, tj. gubitka tolerancije čovjeka prema toj hemijskoj supstanci i pojave negativnih simptoma. Ove karakteristike zabilježene su i za antiinflamatorne lijekove i regulatore masti u vodi, zbog učestalosti njihovog korišćenja (Petrović et al. 2005). Zbog velike rastvorljivosti u vodi, polarnosti i otpornosti na degradaciju, ove supstance se teško apsorbuju i lako prolaze kroz procese prečišćavanja, ali i procese prirodne filtracije, dospijevaju do podzemnih voda i vode za piće (Buser et al. 1998; Ternes et al. 2002a). Problemi vezani za prisustvo lijekova u životnoj sredini, prije svega u vodi, povezani su sa poremećajima fizioloških procesa i reproduktivne funkcije kod različitih organizama, uključujući čovjeka (Kolpin et al. 2002). Stoga značajnost detekcije ovih supstanci u vodenim ekosistemima i detekcija njihovog prisustva u tkivima živih bića je od velikog značaja. Značajniji su i podaci o njihovom transportu kroz procese prečišćavanja i konačnoj degradaciji lijekova u životnoj sredini. Nažalost ovi podaci su prilično ograničeni.

Razlog tome je činjenica da je ranije postojalo svega nekoliko analitičkih metoda koje su, sa ograničenom sigurnošću, mogle da detektuju niske koncentracije lijekova u vodi (Jørgensen & Halling-Sørensen 2000).

Činjenica da hemijskim analizama nije moguće izmjeriti biološki odgovor, odnosno ne možemo determinisati njihov efekat na žive organizme, neophodno je zbog cjelishodnije dijagnostike stanja vodenih ekosistema uključiti i biološke analize koje će ukazati na promjene u strukturi životnih zajednica, njihovom odnosu i diverzitetu. Integralni pristup koji obuhvata kombinaciju bioloških tehnika i hemijskih analiza postao je globalno prepoznatljiv i jasno se ističe (Céspedes et al. 2004) u determinaciji EDCs u površinskim vodama. Kao veoma osjetljiva životna zajednica na uticaj različitih zagađivača u vodenim ekosistemima su svakako mikroorganizmi, pa upravo utvrđivanje fizioloških grupa mikroorganizama (proteolitskih i lipolitskih) u vodi i njihova struktura su dobar pravac za objašnjenje uticaja različitih zagađivača na životnu sredinu.

U Crnoj Gori ne postaje dostupni naučni podaci o ovoj problematici ispitivanja EmS i EDCs, tako da ova ispitivanja predstavljaju osnovu za buduća istraživanja sličnog tipa kao i osnova za predlaganja određenog modela monitoringa kojim bi se unaprijedilo rano dijagnostikovanje vodenih ekosistema i preduzele mjere zaštite istih.

## 1.1 VODA KAO PRIRODNI RESURS

Prirodni resursi značajni su s dva aspekta: s aspekta opstanka čovječanstva i ljudskog društva i s aspekta ekonomskog razvoja i prosperiteta čovječanstva i ljudskog društva (Dimkic et al. 2015). Istorijski posmatrajući, ljudsko društvo i ekosistemi povezani s vodom uvijek su bili suočeni s nepovoljnim uticajem klimatskih promjena i zagađujućih materija. Zato je veoma važno unaprijediti sistem praćenja i upravljanja kvaliteta vodenih sistema, imajući u vidu da opstanak na Zemlji zavisi od tri osnovna prirodna resursa – vode, vazduha i zemljišta, među kojima je voda najvažnija komponenta.

Svjetska komisija za vodu procjenjuje da na plavoj planeti imamo oko  $1,4 \times 10^9$  km<sup>3</sup> vode i da od te količine na slatku vodu otpada 2,5%. Međutim, procenat dostupne slatke vode (atmosferske, podzemne i površinske vode) iznosi samo 0,26%, što približno iznosi  $3,64 \times 10^6$  km<sup>3</sup>. Iz ovoga proizilazi potreba zaštite voda. Očuvanje, održavanje i unapređenje zdravlja svakog pojedinca i ljudske populacije u direktnoj je zavisnosti od kvaliteta vode za piće i njene higijenske ispravnosti (Radonjić, 2006)

Svjetska zdravstvena organizacija (WHO) je u 12 osnovnih pokazatelja zdravstvenog stanja stanovništva jedne zemlje svrstala i kvalitet vode za piće. Stoga je neophodno razviti bolji sistem upravljanja vodenim resursima da bi se ublažio negativni uticaj čovjeka na životnu

sredinu. U tom smislu treba integrisati nauku, političku akciju i reakciju javnosti u logičan okvir rada.

Konferencija Ujedinjenih Nacija o životnoj sredini i razvoju održana u Rio de Ženeiru (1992. godine) deklarirala je principe o životnoj sredini i razvoju, popularno nazvana "Agenda 21", kojima su određeni pravci i ciljevi, koji se odnose na uspostavljanje novog i pravednog globalnog partnerstva, putem stvaranja novih nivoa saradnje među državama sa novim jedinstvenim pogledom na zaštitu životne sredine.

U skladu s tim jasno se mora ostvariti skladna međusobna zavisnost između ekonomskog razvoja i zaštite životne sredine, s druge strane, upravo radi efikasne zaštite životne sredine.

Jedan od najznačajnijih zakonskih instrumenata jeste Okvirna direktiva EU o vodama (2000/60/EC). Okvirna direktiva ima za cilj da zaštiti fizički i biološki integritet akvatičnih ekosistema, a time i osnovne čovjekove resurse za kvalitetno vodosnabdijevanje.

U savremenim uslovima urbanog načina života, industrijalizacije, demografske eksplozije, moderne poljoprivrede i poljoprivredne tehnologije dolazi do korišćenja sve većih količina vode. Pod devizom "voda sve nosi" svakodnevno se ogromna količina otpadaka izbacuje u rijeke, jezera i mora.

Rijeke su danas postale kolektori svih urbanih i industrijskih otpadnih voda. "Lakoća" odstranjivanja otpadaka na ovaj način dovela je do toga da su neke rijeke u svojim donjim tokovima pretvorene u mrtvaje, a da je korišćenje vode sve skuplje zbog visoke cijene prečišćavanja.

Voda je neiscrpan resurs, ali uvek treba imati na umu da za preživljavanje i opstanak nije potrebna samo velika količina vode, nego je neophodno da kvalitet te vode bude takav da ona može da se koristi.

Ako se zna da su rezerve pitke vode u prirodi ograničene problem zagađivanja voda i snabdevanja slatkim vodom postaje još ozbiljniji, jer voda može da postane i limitirajući faktor daljeg opstanka i razvoja ljudske civilizacije.

## 1.2 ZAGAĐIVANJE VODA

Tehnološki i socijalni razvoj je itekako postavio čovjeka na mjesto jednog od najmoćnijih ekoloških faktora, koji interveniše u svim osnovnim procesima u okviru hidrosfere i biosfere u cjelini. Evropa je samo jedan od primjera promjena, koje je čovjek izazvao u svom okruženju. Intenzivna urbanizacija, industrijalizacija i razvoj poljoprivrede, uslovljavaju sve veću potrebu za vodom i rezultiraju zagađenjem površinskih i podzemnih voda, što predstavlja jedan od najaktuelnijih problema savremenog svijeta i faktor ograničavanja raz-



voja gradova, pa i čitavih regiona. Čovjek, svojom djelatnošću, utiče na promjene životnih uslova u vodenim biotopima i zagađuje ih otpadom iz industrijskih postrojenja i ljudskih naselja (Radonjić, 2006). U takvim vodama, po pravilu, uslovi života se pogoršavaju za živi svijet. Veliki broj hemikalija izaziva ogroman pritisak na životnu sredinu, javno zdravlje i naravno biosferu (Miloradov et al., 2012).

Otpadne vode utiču na opšte hemijske uslove života u recipijentu, jer povlače za sobom smanjenje indeksa saturacije kiseonikom u vodi i obogaćivanje mulja njihovim recidivima ili pak produktima nepotpune biodegradacije (uz stvaranje vodoniksulfida, amonijaka i metana), a pored toga, suspendovanim česticama organskog ili neorganskog porijekla, zamućuju vodu (Radonjić, 2013). Toksikanti drastično narušavaju prirodnu ravnotežu u akvatičnim ekosistemima i remete (zaustavljaju ili usporavaju) procese samoprečišćavanja. Zbog veoma izraženih problema rezervi čiste sirove vode za piće, u posljednje vrijeme sve više se kao izvorišta koriste površinske vode, čiji je kvalitet potrebno poboljšanje (Radonjić, 2017).

EmS i EDCs nisu nužno nove hemikalije. To su supstance koje su često dugo prisutne u okolini, ali o čijoj se prisutnosti i značaju tek se u novije vrijeme govori. NORMAN (Network of reference laboratories, research centres and related organisations for monitoring of emerging environmental substances) identifikovali su listu emergentnih supstanci "LIST OF EMERGING SUBSTANCES". Sistematizovano su pristupili kvalifikaciji i uređivanju liste o najčešće diskutovanim EmS, a prema NORMAN (<https://www.norman-network.net/?q=node/19>) zadnji put korigovani podaci za ovu listu bili su u februaru 2016. godine.

Prema NORMAN-u otvorena je dinamična lista-23 kategorije/klase EmS sa preko 300 subklasa EmS i 750 Em supstanci. Najvažnije kategorije su: toksini alga, sredstva protiv stvaranja pjene, antioksidanti, sredstva protiv obrušavanja, bioteroristička sredstva, deterđenti sredstva za dezinfekciju (vode za piće), plastifikanti, sredstva za ličnu higijenu, pesticidi, farmaceutici i drugi.

EmS i EDCs, prema nekim naučnicima nazivaju se i "ksenobioticima" a u to ubrajaju: sredstva za ličnu higijenu, pesticide, farmaceutike, kozmetičke proizvode, usporivače gorenja, hormonski aktivne supstance, dijetetske proizvode, industrijske hemikalije i sva ostala jedinjenja koja nisu prirodno prisutna u životnoj sredini, već je njihovo prisustvo posledica ljudskih aktivnosti.

Pod terminom "organski ksenobiotici" smatraju se organske zagađujuće supstance koje nisu prirodno prisutne u organizmu ili životnoj sredini. Riječ potiče od grčkih reči xenos-tran i bios-život. Drugi izrazi koji se mogu naći u literaturi su: "organski mikropolutanti", "sintetske organske hemikalije" ili pak, u novije vreme, "emergentni polutanti".

"Emergentni polutanti" prema NORMAN-u (<http://www.norman-network.net>) su polutanti koji trenutno nisu obuhvaćeni rutinskim monitoring programima na evropskom nivou, a



koji su potencijalni kandidati za buduće regulative u oblasti voda, u zavisnosti od njihove ekotoksičnosti, odnosno ponašanja u životnoj sredini (Tabela NORMAN; Prilog 1.)

EmS, predstavljaju grupu sintetizovanih ili prirodnih jedinjenja-molekula, supstanci koje su početkom 21. vijeka prepoznate kao potencijalno hazardne. Mogu se posmatrati i kao sve prisutne, pseudo perzistentne, biološki aktivne hemikalije, polutanti, nastali kao rezultat prirodnih, undustrijskih i ljudskih aktivnosti.

EmS se još nazivaju i “trace “supstance, zbog izuzetno niskih koncentracija koje se kreću od  $\mu\text{g/L}$  pa na niže, što ovu vrstu polutanata izdvaja od konvencionalnih zagađujućih supstanci. Moderna istraživanja pokazuju da dugotrajna upotreba i izloženost niskim dozama EmS ili dugotrajno konzumiranje ovih jedinjenja ima različite i često veoma ozbiljne negativne efekte na većinu živih organizama, pa i čoveka, pri koncentracijama od samo par  $\mu\text{g/L}$ . Veoma je teško predvideti i izolovati toksične efekte koje EmS imaju na zdravlje čoveka.

Prirodno hormoni oslobođeni iz žlijezda sa unutrašnjim lučenjem regulišu tjelesne funkcije kao što su npr. metabolizam, seksualni razvoj. Hormonski sistem je povezan sa nervnim i imunološkim sistemom, njihova koncentracija u tjelesnim tečnostima kojom oni vrše svoju funkciju je izuzetno niska i kreće se od mikrograma po litru pa na niže. Upravo niske koncentracije prirodnih hormona i niske doze djelovanja lako su podržane od strane EDCs, čije koncentracije pikomolarnog i nanomolarnog ranga, mimikrujući prave hormone, imitiraju njihove funkcije i cikluse.

Prisustvo tragova emergentnih supstanci u nastavku EmS kao što su farmaceutici, endokrinno uznemiravajuće supstance u daljem tekstu EDCs kao (npr. prirodni i sintetički estrogeni i njihovi konjugati, bisphenol A, alkilfenoli), kao i jedinjenja za koje se sumnja da mogu biti, (antimikrobna sredstva, benzotriazoli i organofosforna zapaljiva sredstva) postalo je predmet posebnog interesovanja u posljednjoj deceniji s obzirom na to da niske koncentracije ovih analita ranije nisu mogle biti detektovane.

U postrojenjima za prečišćavanje otpadnih voda mnoge EmS se ne uklanjanju efikasno, zbog čega dopijevaju u prirodne vode. Veliki broj hemikalija izaziva ogroman pritisak na životnu sredinu, javno zdravlje i naravno biosferu (Miloradov et al., 2012). EmS i EDCs u životnu sredinu dopijevaju najčešće kao posljedica intenzivnog i konstantnog korišćenja u humanoj medicini i veterini i kroz proizvode za ličnu higijenu. Glavni izvori zagađenja površinskih i podzemnih voda EmS i EDCs su gradske i poljoprivredne otpadne vode, odnosno domaćinstva, bolnice i poljoprivredna zemljišta (Halling-Sørensen et al. 1998; Robinson et al. 2007).

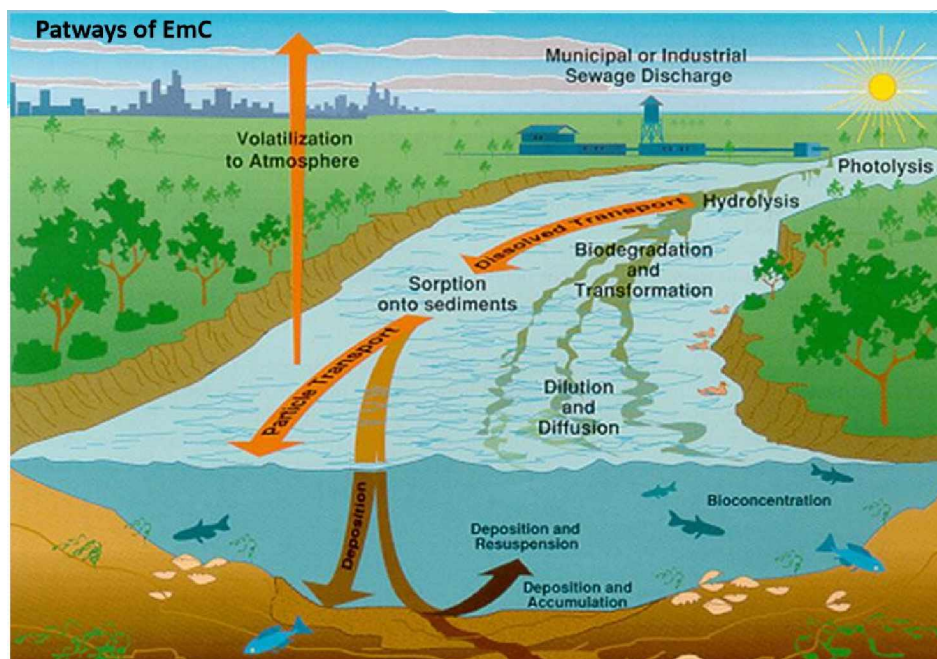
WHO je objavila nekoliko publikacija, koje su rađene u saradnji s UNEP-om i ključnim naučnim stručnjacima i donijela je “Rezoluciju o uključivanju EDCs kao novog pitanja” u okviru Strateškog pristupa u međunarodnom upravljanju hemikalijama (SAICM). Rezolucija

je usvojena u septembru 2012. godine na trećoj Međunarodnoj konferenciji o upravljanju hemikalijama (ICCM3) u Najrobiju.

### 1.3 PUTEVI KOJIMA EMS I EDCS DOSPEVAJU U VODENE EKOSISTEME

Supstance kao što su EmS i EDCs dospijevaju u vodene sisteme različitim putevima, npr. ispuštanjem otpadnih voda i ispuštanjem ostataka pesticida iz poljoprivrednih aktivnosti. Ribe i divlje životinje mogu biti direktno izložene, a ljudi mogu biti izloženi unosom kontaminirane vode i preko raznih proizvoda. Ove materije, nije lako ukloniti iz vode konvencionalnim postupcima obrade koje nude postrojenja za prečišćavanje vode ili kanalizacije (Pironti et al. 2021). Ipak, jedan od najznačajnijih puteva kojim lijekovi dospijevaju u životnu sredinu su komunalne otpadne vode. Nakon konzumiranja, u ljudskom organizmu lijek podliježe nizu metaboličkih reakcija, pri čemu nastaju metaboliti koji su često polarniji od polaznog jedinjenja. Zbog toga su rastvorljiviji u vodi, a u nekim slučajevima i toksičniji od polazne supstance (Petrović et al., 2005). Ljekovi se izlučuju djelimično transformisani, pri čemu se jedan procenat lijeka izluči u neizmijenjenom obliku, taj procenat je za svaki lijek specifičan (Hirsch et al. 1999; Heberer 2002).

Na Slici 1, prikazani su putevi kojim je moguće opisati kretanje EmS preko ispustanja opadnih voda direktno u recipijent, njihove transformacije, moguće depozicije i akumulacije ili biokoncentracije.



Slika 1: Mogući putevi EmS, preuzeto iz

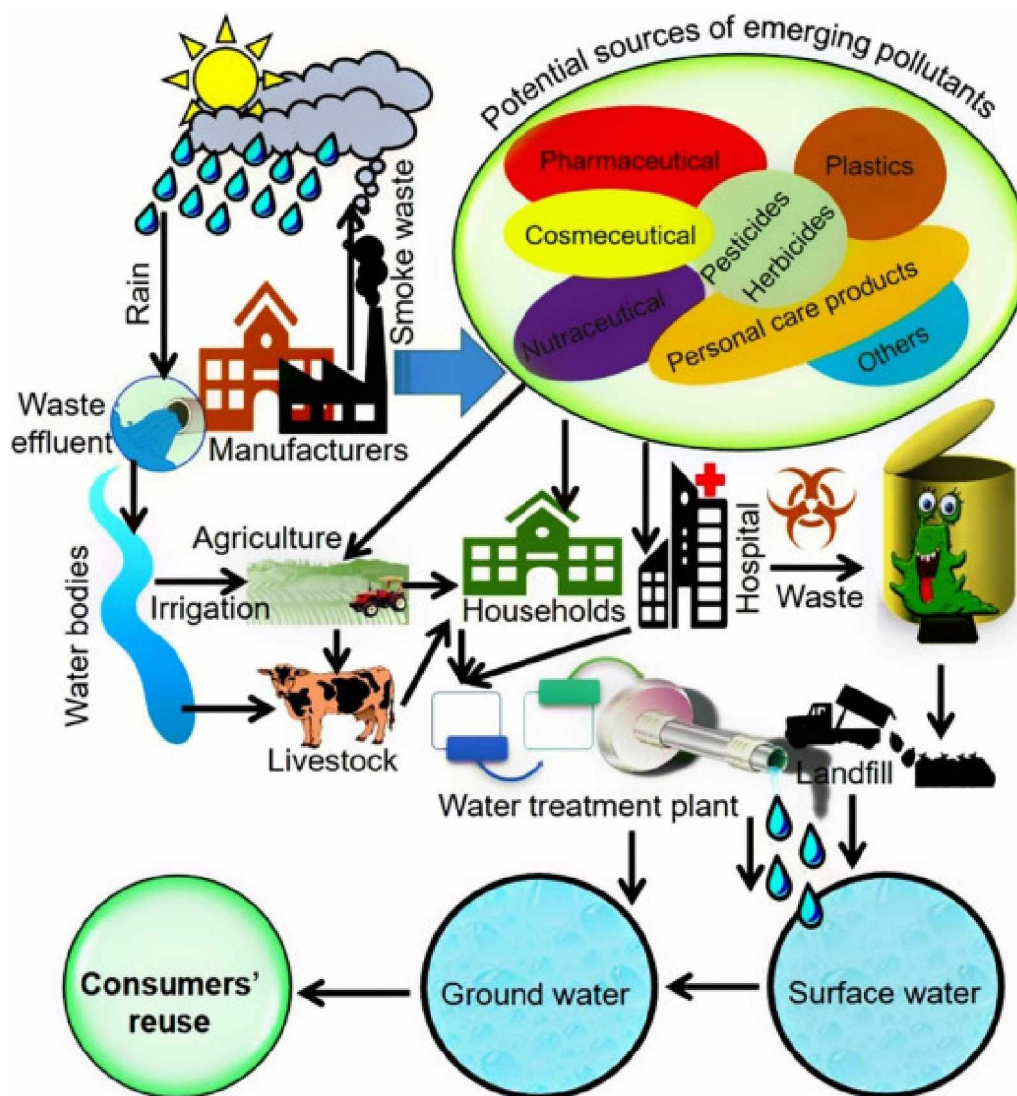
<http://ambassadors-env.com/wp-content/uploads/EMERGENTNE-SUPSTANCE.pdf>

Domaćinstva na kojima se vrši uzgoj ili tretman stoke i živine važni su izvori kontaminacije površinskih voda, prvenstveno antibioticima, koji se koriste za liječenje infekcija i preventivno, ali i kao dodatak hrani radi pospiješivanja rasta životinja (Hirsch et al. 1999). Upotrebom stajskog đubriva, antibiotici se dalje mogu prenijeti na poljoprivredno zemljište, a ispiranjem zemljišta i u podzemne vode (Hartig et al. 1999; Heberer 2002). Ispitivanje prisustva bakterija u komunalnim otpadnim vodama je pokazalo da se više od 95% bakterija ukloni tokom procesa prečišćavanja, ali da većina preostalih bakterija ispoljava rezistentnost na ostatke antibiotika u vodi (Radtke & Gist 1989; Malik & Ahmad 1994). Ispitivana je kontaminacija rijeka i jezera koliformnim bakterijama 2utvrđeno je da i ako je količina bakterija mnogo manja nego u otpadnim vodama, izolovani sojevi pokazuju gotovo identičnu rezistentnost kao sojevi iz otpadnih voda (Alvero 1987; Al-Ghazali et al. 1988; Campeau et al. 1996). Poznato je, na primjer, da se u bolnicama često javljaju infekcije izazvane *Klebsiellae* sojem bakterija. Istraživanja su pokazala da je 90% soja otporno na antibiotik ampicilin, a da 6% soja ispoljava višestruku rezistentnost (Hirsch et al. 1999).

Odlaganjem lijekova kojima je prošao rok upotrebe na nekontrolisane deponije može doći do zagađenja podzemnih voda usljed spiranja ovakvog zemljišta (Jørgensen & Halling-Sørensen 2000).

Jasno je prepoznat veliki problem koji EmS izazivaju na vodeni ekosistem naročito što se njihovo uklanjanje u procesu prečišćavanja odvija izuzetno slabo, a zavisi od mnogih faktora, kao što su npr. priroda aktivne supstance lijeka, sastav otpadnih voda, tehnologija prerade otpadnih voda, tip i vrijeme korišćenja aktivnog mulja, temperatura, i dr. (Carballa et al. 2004; Roberts & Thomas 2006). Zbog velike rastvorljivosti u vodi, polarnosti i otpornosti na degradaciju, ove supstance se teško apsorbuju i lako prolaze kroz procese prečišćavanja, ali i procese prirodne filtracije, dospijevaju do podzemnih voda i vode za piće (Buser et al. 1998; Ternes et al. 2002a).

U procesu biodegradacije, koji je svakako efikasniji od procesa taloženja, ukloni se manje od 10% karbamazepina i trimetoprima (Clara et al. 2004) dok je efikasnost biodegradacije diklofenaka, 10-39% (Hernando et al. 2006). Na Slici 2. prikazani su mogući izvori zagađenja i putevi kojima lekovi dospevaju u površinske i podzemne vode.



Slika 2: Mikropolutanti i mogući način dospijevanja u vode

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

Poznato je, na primer, da je procenat uklanjanja kiselih jedinjenja, kao npr. diklofenak, ibuprofen i acetilsalicilna kiselina, prilično nizak (Petrović et al. 2003). Ove karakteristike zabilježene su i za identifikaciju koncentracija antiinflamatornih lijekova i regulatora masti u vodi, zbog učestalosti njihovog korišćenja (Petrović et al. 2005). Kao dinamična i funkcionalna struktura na ekosistem se lako utiče aktivnošću čoveka i/ili prirode, naruši homeostaza sistema, unosom EmS i EDCs, posljedice mogu biti ispoljene na različitim nivoima organizacije (molekul, ćelija, jedinka, populacija, zajednica... itd). Složenost ovog fenomena iziskuje holistički pristup, jer ima više mogućih načina interakcije zagađujućih supstanci i ekosistema, što znači da postoje različite tehnike kojima možemo posmatrati prisustvo organskih ksenobiotika u životnoj sredini (Shema 1.) na različitim "nivoima organizacije" (Landis & Yu, 1995; Marković, 2015).



*Shema 1: Interakcija zagađujućih supstanci i različitih nivoa organizacije, modificirano iz (Landis & Yu, 1995)*

Kada EmS i EDCs dopiju u životnu sredinu, bivaju usvojene na nivou jedinki, pokreću se različiti biohemijski i fiziološki procesi i interakcije, pa se mogu biti očekivane subletalne ili letalne posljedice. To pokreće promjene na populacionom nivou, što prouzrokuje promjene u karakteristikama ali i dinamici odnosa u strukturi zajednice, što na kraju produkuje promjenu u kruženju nutrijenata i energije, odnosno u efikasnosti ekosistema (Marković, 2015).

Bez obzira što su mnoge EmS nativne (teški metali, mikotoksini, alkaloidi, radionuklidi....), njihova količina i diverzitet se antropološkim aktivnostima povećava, samim tim proizvodnja, korišćenje i odlaganje EmS (komunalni, industrijski, poljoprivredni otpad, hemijski akcidenti, farmaceutski metaboliti...itd.) (Marković, 2015).

Sve zagađujuće supstance imaju svoj životni vijek i put, što znači da podležu fizičko-hemijskim procesima promjene, ali ujedno postaju i dio biološkog matriksa (mikroorganizmi) što može dovesti do "ravnotežnog" stanja. Svrstavanje EmS kroz različite medije životne sredine zavisi prvenstveno od fizičko-hemijskih osobina (molekulska struktura, molekulska masa, rastvorljivost u vodi, napon pare, veličina čestice...itd ), raspodjela zavisi i od procesa transporta u vodenoj sredini (disperzije, sedimentacije, difuzije, protoka i stepena miješanja vode, brzine sedimentacije čestica temperature, pH vrednosti, količine suspendovane materije, prirode sedimenta, kao i mikrobioloških (aerobna biodegradacija i anaerobna biodegradacija) zajednica i sadržaja nutrijenata.



Prisustvo organskih ksenobiotika u hidrološkom ciklusu je dobro poznata činjenica (Bester et al., 2008), međutim što se dešava sa njima u vodenim ekosistemima, kakve efekte izazivaju, kao i uklanjanje iz vodenih ekosistema, duži niz godina izuzetno je interesantno polje istraživanja. Prisustvo organskih zagađujućih supstanci u akvatičnoj sredini predstavlja jedan od najvećih izazova za održivo upravljanje vodama, naročito u sušnim regionima, gde se nameće potreba ponovne upotrebe vode.

Problemi vezani za prisustvo EmS i EDCs u životnoj sredini uključuju poremećaje fizioloških procesa i reproduktivne funkcije organizama, povećanje toksičnosti nekih farmaceutski aktivnih supstanci (Kolpin et al., 2002). Prisustvo hormona, ili supstanci, koje mogu podržati njihovu funkciju, u vodenoj sredini izaziva ozbiljne posljedice kod raznih vodenih organizama. Uočene su promjene u razvoju i reproduktivnim funkcijama riba i vodozemaca, kao što su smanjenje plodnosti i feminizacija mužjaka, pri koncentracijama od nekoliko  $\mu\text{g}/\text{dm}^3$  (Jørgensen & Halling-Sørensen 2000). Podaci o transportu kroz procese prečišćavanja i konačnoj degradaciji lijekova u životnoj sredini su prilično ograničeni. Razlog je činjenica da je ranije postojalo svega nekoliko analitičkih metoda koje su, sa ograničenom sigurnošću, mogle da detektuju niske koncentracije lijekova u vodi (Jørgensen & Halling-Sørensen 2000). Kombinacija bioloških tehnika i hemijskih analiza postala je globalno prepoznatljiva i jasno se ističe (Céspedes et al., 2005) u determinaciji EDCs u uzorcima površinskih voda.

Upravo je utvrđivanje fizioloških grupa mikroorganizama (proteolitskim, amilolitskih i lipolitskih) u vodi dobar pravac, uz to i objašnjenje mnogobrojnim jedinjenjima koji su istraživanjima kvantitativno detektovani.

Analizom i interpretacijom mikrobioloških zajednica mogu se optimalno odrediti nivoi fizioloških profila na određenim lokacijama (Radonjić, 2016). Identifikaciju i klasifikaciju bakterija do nivoa vrste, iz različitih vodenih ekosistema (rijeke, jezera, mora, otpadne vode), vršimo koristeći se fenotipskim ili genotipskim identifikacionim tehnikama. Fenotipske modifikacije organizama nastaju interakcijama genotipa i faktora spoljašnje sredine. Fenotipske modifikacije mikrobioloških zajednica moguće je dokazati Eco Plate Biolog softverom. To ih čini vrlo korisnom informacijom u vezi sa promjenom životne sredine, uzrokovane prisustvom EmS u vodi (Radonjić, 2016). Kombinacija metoda omogućava različita istraživanja na akvatičnim ekosistemima.

## 1.4 MIKROORGANIZMI U VODENIM EKOSISTEMIMA

U prirodnoj akvatičnoj sredini dešavaju se fizički, hemijski i biološki procesi, koji utiču na sadržaj, transformaciju i kretanje konstituenata u vodi (Radonjić, 2016). Ovo saznanje se može vezati za i sadržaj EmS i EDCs, koje dopijevaju u vodene sisteme i utiču na strukturu životnih zajednica u vodi.

Transformacioni procesi u vodenoj sredini su:

- biorazgradnja (biodegradacija), mikroorganizmi koriste polutante za svoj metabolizam mijenjajući time njihove osobine;
- fotoliza-apsorpcija sunčeve svjetlosti (energije) od strane polutanata, što dovodi do hemijskih reakcija, a iste do promjene stepena toksičnosti;
- hidroliza-oksidacija, koju čine reakcije organskih polutanata i metala, dovodeći do nastanka manjih prostih jedinjenja;
- redukcija-oksidacija, koju čine reakcije organskih polutanata i metala, dovodi do otpuštanja ili primanja elektrona, što utiče na njihove osobine i toksična svojstva. Mikroorganizmi bitno utiču na odvijanje mnogih biohemijskih procesa u vodama, naročito hemijskih, koji uključuju organske i neorganske materije i oksido-redukticione procese. Alge se smatraju primarnim proizvođačima biološke organske materije u vodi, za razliku od bakterija, koje se smatraju reducentima, koji "cijepaju" hemijska jedinjenja na prostija i iz toga koriste energiju i nutrijente za rast i razvoj.

Pregled vode, posmatran sa aspekta sanitarne bakteriologije, koji se rutinski i svakodnevno vrši u gotovo svim laboratorijama za ocjenu higijensko-epidemiološkog stanja vode, često biva poistovjećen sa hidromikrobiologijom kao naukom (Radonjić 2006). Površinske vode predstavljaju vodene ekosisteme u kojima vladaju odnosi interakcije sredine i organizama, pa se i samo na osnovu njih može suditi o stanju i kvalitetu vode. Zato je pažnja biologa i mikrobiologa danas sve više usmjerena na mikroorganizme kao realan faktor razgradnje organskih materija u vodama, a time i sposobnosti autopurifikacije vode, što je i od osobitog značaja za očuvanje kvaliteta površinskih voda (Radonjić, 2006).

Glavni pravci istraživanja površinskih voda s mikrobiološkog aspekta su:

- utvrđivanje kvantitativnog i kvalitativnog sastava bakterioplanktona u površinskim vodama u što svrstavamo:
  1. istraživanje heterotrofnih bakterija (saprofita) u vodi;
  2. istraživanje fizioloških grupa mikroorganizama;
  3. istraživanje bakterija indikatora fekalnog zagađenja voda;
  4. dokazivanje prisustva patogenih bakterija u vodama.

Istraživanje bakterioplanktona u vodama obuhvata izučavanje autohtonih i alohtonih bakterija različitih metaboličkih tipova, kao i povezivanje dobijenih rezultata s ekološkim uslovima sredine, posebno organskim opterećenjem alohtone prirode.

Najrasprostranjenija grupa bakterija po tipu metabolizma u prirodi su heterotrofi, odnosno grupa hemoorganotrofa (ili samo organotrofa). Naziv heterotrofija (grč. heteros-drugi i

trophein-hraniti se) znači da ovi mikroorganizmi koriste materiju, koju je proizveo neki drugi organizam, a u mogućnosti su da metaboliziraju organsku materiju u aerobnim i anaerobnim uslovima (Petrović, 1998, Radonjić, 2006). Određivanje broja heterotrofnih bakterija u vodi jedan je od osnovnih parametara mikrobioloških laboratorija, koje se bave istraživanjima kvaliteta vode (Tumpling, 1969; Sladaček, 1973; Kohl, 1975; Ishida et al., 1980).

Heterotrofne bakterije indikatori su prisustva lako razgradivih materija u vodi, tj. dobrim dijelom, pokazatelj svježeg organskog opterećenja, pa je zato u postojećim sistemima za utvrđivanja kvaliteta vode broj grupe mikroorganizama u vodi uzet kao jedan od glavnih parametara (Tumpling, 1969; Sladaček, 1973; Kohl, 1975; Radonjić, 2006).

Oligotrofne bakterije nasuprot tome naseljavaju sredine, sa vrlo niskim koncentracijama organskih materija, ali kao fakultativni organizmi oni se mogu nalaziti i u sredinama sa većim koncentracijama tih materija. Ovo je grupa bakterija, manje je zahtjevna u pogledu hranjivih materija (grč. oligos-mali, trophein-hraniti se). Kada ove vrste bakterija dominiraju u vodi, voda je malo ili gotovo uopšte neopterećena zagađenjem, odnosno, pripada oligotrofnom tipu vode i u tom ekosistemu procesi autopurifikacije su izraženi (Petrović, 1998; Radonjić, 2006).

Jedan od najznačajnijih parametara, koji se određuje u vodi je Kohlov index (1975), koji je određen odnosom između broja fakultativnih oligotrofa i heterotrofa, i koji daje stanje kvaliteta vode sa šireg ekološkog aspekta. Odnos između fakultativnih oligotrofa i heterotrofa (index FO/H) predstavlja jedan od važnih parametara za procjenu stanja vode sa ekološkog aspekta (Đukić et. al., 1991, Radonjić, 2006), jer ukazuje na sposobnost samoprečišćavanja (Tabela 1)

*Tabela 1: Kategorizacija voda u zavisnosti od indeksa FO/H (Kohl, 1975)*

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

Voda je za mnoge mikroorganizme prirodno boravište, bilo one izvorske ili površinske. Razne grupe mikroorganizama nalaze se u vodama, kao sastavni dio njene autohtone mikroflore, ali su mnoge, zbog nedostatka adekvatnih metoda, još nedovoljno istražene (Ishida et al., 1982; Lafteva, 1987). Posebnu grupu mikroorganizama u vodenim sredinama predstavljaju alohtoni mikroorganizmi, koji dospijevaju u vode iz različitih izvora (vazduha, zemlje, od biljaka, životinja i čovjeka) (Leschine & Canale-Parola, 1983; Spino, 1985, Radonjić, 2006).

Kvalitativna i kvantitativna zastupljenost populacija mikroorganizama, odgovornih za pojedine faze transformacije materije, dobija sve veći značaj u okviru hidrobioloških pro-



učavanja (OECD, 1982; Đukić et al., 1991; Gajin et al., 1998).

Rijeke i jezera, prema nizu zajedničkih osobina, predstavljaju specifične ekosisteme, a jedna od najznačajnijih osobina je upravo ta što im mikroorganizmi čine značajnu biološku komponentu. Međutim, kvalitativni i kvantitativni sastav mikroorganizama određuje niz abiotičkih i biotičkih faktora: temperatura, hranjivi sastojci, količina padavina, količina rastvorenih gasova, intenzitet svjetlosti, mikroflora okolnog zemljišta i razni zagađivači, kanalizacione i druge otpadne vode. U rijekama i jezerima se razvija mikroflora, koja može biti specifična za istraživanu rijeku ili jezero, u kojima može duže ili kraće opstajati (Radonjić, 2006).

Ekološka istraživanja populacija bakterija u vodama usmjerena na proučavanje autohtonih i alohtonih bakterijskih populacija različitih metaboličkih tipova, kao i na povezivanje dobijenih rezultata sa ekološkim uslovima sredine, posebno sa alohtonim organskim opterećenjem (Albright & Mc Crae, 1987). Ovakav pristup trebalo bi da omogući realniju procjenu kvaliteta vode, bolju prognozu stanja i adekvatniju zaštitu ispitivanih ekosistema.

## 1.5 BIOTIČKI FAKTORI

Biološka degradacija u vodenom stubu se odvija pod aerobnim i anaerobnim uslovima, a pored kiseonika zavisi od supstrata, temperature, kao i dostupnosti nutrijenata. Supstance koje ne podležu promjenama aktivnošću mikrobijalne zajednice, mogu biti perzistentne.

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

Dok sterna efekat ima uticaja na transport supstance preko membrane stepen degradacije se povećava sa aerobnošću, izuzetak su PCB supstance, koje se bolje degradiraju u anaerobnoj sredini. Slatkovodni vodeni sistemi zbog obilnije organske materije imaju i raznovrsniju mikrobiološku zajednicu, što daje mogućnost potencijalo bolje razgradnje EmS i EDCs. Temperatura utiče na sastav konzorcijuma pa samim tim i na sudbinu EmS i EDCs, vrijednost pH neutralna vrijednost pH vodene sredine ima najviše upliva na degradaciju. Degradacijom organskih materija mikroorganizmi dolaze do ugljenika i/ili energije.

Mogući izvor kiseonika za prokariote su alifatične supstance mada njihova razgranata struktura može umanjiti stepen ili brzinu degradacije. Molekule srednje molekulske veličine (u aerobnoj sredini) karakteriše najbolja razgradnja, ali ova karakteristika se smanjuje sa povećanjem molekularne veličine, sa povećanjem molekulske mase, otežan je prekomembranski transport i smanjena rastvorljivost, pa su ove supstance manje biodostupne. Supstance manje molekulske mase imaju veću rastvorljivost, mogu biti usvojene u većoj

koncentraciji pa na taj način, jer ćelija ne prepoznaje i ne razumije toksikološke implikacije mogu biti "toksične".

Značaj se naglašen na niske doze kojima EmS i EDCs u koncentracijama pikomolarnog i nanomolarnog ranga, mimikrujući prave hormone imitiraju njihove funkcije i cikluse. Zahvaljujući kiseoniku u svojoj strukturi jedinjenja kao alkoholi, aldehidi, ketoni i karboksilne kiseline će lako podleći degradaciji i u anaerobnoj sredini (Nyholm et al., 1996+).

Za razgradnju alicikličnih jedinjenja često su potrebni aerobni uslovi, pa se degradiraju putem kometabolizma (oksidacija supstance, koja se ne koristi za bakterijski rast (Nyholm et al., 1996) ili komensalizma (interspecijski odnos koji je pozitivan za komensala, a neutralan po drugu vrstu) Stirling & Watkinson, (1977). Ovi interspecijski odnosi konzorcijuma doprinose potpunoj mineralizaciji, ali je brzina degradacije ograničena brojem alkil grupa. Ako se metabolizam ili ekskrecija EmS odvija sporije od usvajanja dolazi do bioakumulacije (škrge, dermalno, inhalacija ili ingestija), što inicira, biotransformacije, detoksifikacije, akumulacije i ekskrecije (toksikokinetike) različitih supstanci između organizma i životne sredine (Landis, 1995), može da se desi da koncentracija neke supstance u organizmu prevazilazi nivo iste u životnoj sredini.

Na bioakumulaciju ima uticaja, temperatura, pH, metabolizam, starost i pol organizma, vrsta organizma, ponašanje, sezonski ciklus...itd. Endokrini sistem je u mogućnosti da funkcioniše na principu "niskih koncentracija" hormona koji omogućavaju hormonalno aktivnih supstanci da cirkulišu i koegzistiraju (Welshons et al., 2003). Hormoni se prenose cirkulacijom do ćelija u cijelom tijelu a ponekada i u nervni sistem, gdje se vezuju za receptore i započinju mnoge reakcije. Osnovna karakteristika hormona (polipeptidnih i proteinskih) jeste da se deponuju u sekretornim vezikulama dok se ne pojavi potreba za njima. Stimulacija receptora na površini endokrinih ćelija dovodi do povećanja koncentracije cikličnog adenozin monofosfata (cAMP) koji zatim aktivira protein-kinazu, čime započinje izlučivanje hormona.

Za razliku od peptidnih hormona koji su rastvorljivi u vodi, što im omogućava da lako uđu u vaskularni sistem i budu prenešeni do ciljnih tkiva, steroidni hormoni se sintetišu iz holesterolu i rastvorljivi su u lipidima. Ne skladište se. Koncentracija hormona koja je potrebna za većinu metaboličkih i endokrinih funkcija je nevjerovatno mala. Njihova koncentracija u krvi iznosi od samo 1 pikograma ( $10^{-12}$  g) do najviše nekoliko mikrograma ( $10^{-6}$  g) po 1 ml krvi. Veličina izlučivanja različitih hormona je izuzetno mala i obično iznosi nekoliko miligrama ili mikrograma na dan. Prvi korak u djelovanju hormona jeste njegovo vezivanje sa specifičnim receptorom u ciljnom tkivu. Ćelije koje nemaju receptore za hormone ne reaguju na njih. Receptori se mogu nalaziti u ćelijskoj membrani ciljnih ćelija ili u citoplazmi ili jedru. Svi hormoni djeluju na ciljno tkivo gradeći kompleks hormon-receptor, pri čemu

se mijenja funkcija samog receptora pa tako aktivisan receptor izaziva hormonski efekat. Već decenijama poznato je da postoje endokrino uznemiravajuće hemikalije (EDCs) koje mogu da svojim izgledom ili functionisanjem da podržavaju prirodne hormone i mogu da loše utiču na organizme zahvaljujući efektima koji su poznati kao efekti niskih doza i nenmonocidni odgovori.

Male doze su defisane od strane Nacionalno Toksikološkog programa kao doze koje se javljaju u rasponu veličina izloženosti organizma a koji je po redu veličine manji od poznatih doza koje se koriste u “tradicionalnoj toksikologiji”, a za koje su poznati efekti (Vandenberg, et al., 2012)

## 2. PREGLED DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA

Na osnovu uvida u stručnu literaturu može se konstatovati da su vodeni ekosistemi rijeke Morače i Skadarskog jezera istraživani sa različitih aspekata (fizičko-hemijskih, ekotoksikoloških, bioloških itd.). Međutim, ovi akvatični ekosistemi u pogledu ekološke mikrobiologije nedovoljno su izučavani.

Postojeći podaci o mikrobiološkom kvalitetu voda se uglavnom odnose na sanitarni aspekt i rađeni su uglavnom u sklopu programa od strane institucija kao što su Institut za javno zdravlje Crne Gore za potrebe Ministarstva zdravlja ili Hidrometeorološkog zavoda za potrebe Ministarstva ekologije i turizma. Ne postoje podaci da su istraživani akvatični ekosistemi proučavani sa aspekta EmS, EDCs ili farmaceutika u vodi.

Radulović, V. (1998) i Radulović, M. (2000) detaljno su izvršili istraživanja površinskih voda (rijeke Morače, Skadarskog jezera i rijeke Bojane) i utvrdili njihove hidrogeološke karakteristike. Jedno od najznačajnijih i najobimnijih istraživanja Skadarskog jezera obavljeno je u periodu od 1972 do 1977 godine, u okviru projekta "Limnološka istraživanja Skadarskog jezera" iz kojeg je proizašla i publikovana monografija: *The Biota And Limnology Of Lake Skadar*, (1981). Podatke o hemijskim karakteristikama vode Skadarskog jezera, i to više lokaliteta (Ušće Morače, Vranjina, Rijeka Crnojevića i dr.) daju Petrović i Beeton (1981), navodeći da su hemijske karakteristike voda Skadarskog jezera, rezultat uliva voda iz glavnih pritoka, sublakustričkih izvora, kao i razmjene između sedimenata vode i ekstenzivnih poplava.

U toku trogodišnjeg perioda (od 1992 do 1995) Institut za javno zdravlje Crne Gore istraživao je kvalitet vode Skadarskog jezera, uključujući stepen autopurifikacije po Kohlu i hlorofil a.

Kao dio integralnog monitoringa kvaliteta sedimenata, tzv. trijadnog pristupa (SQT), organski ekstrakti sedimenata iz Skadarskog jezera istraženi su kako bi se procijenila moguća ekotoksikološka kontaminacija organskim zagađivačima i dobio sveobuhvatan uvid u ekotoksikološki hazard (Perovic et al. 2012). Trijadni pristup je obuhvatao tri komponente: 1) hemijsko opterećenje vode i sedimenata jezera; 2) bateriju biotestova na toksičnost (citotoksičnost, embriotoksičnost, genotoksičnost, mutagenost, praćenje dioksinu i estrogenu, sličnih efekata) i 3) genetički profil diverziteta mikrobnih zajednica (Kostanjsek et al. 2006).

Istraživanja koja su sprovedena na školjkama *Unio pictorum* kao test organizmu, kako bi se utvrdilo moguće zagađenje rijeke Morače i Skadarskog jezera (Perovic et al, 2012) pokazala su oštećenje DNK na živim organizmima uzrokovana pritiskom zagađivača i drugih stresora rijeke Morače i Skadarskog jezera.

Istraživanja ukupnog azota, ukupnog fosfora i hlorofila a, uz bakteriološke analize voda rijeke Morače, kao pritoka Skadarskog jezera pokazale su da postoji niska korelacija između ukupnog fosfora i suspendiranih materija. To zapažanje, u kombinaciji s visokim koncentracijama hranjivih materija i fekalnih bakterija tokom niskih protoka, sugerije da bi nedovoljno prečišćavanje otpadnih voda mogla biti važan izvor hranjivih materija za jezero (Skarbovik et al, 2014.).

Istraživanja bioakumulacije i translokacije različitih teških metala, osobito bakra, cinka, kadmija i olova, u različitim biljnim organima *Trapa natans* L. (korijen, stabljika i list) pokazalo se kao dobar indikator za procjenu ekološkog kvaliteta voda Skadarskog jezera (Kastartovic et al. 2020; Petrovic et al. 2020).

### 3. CILJ RADA

U okviru ovih istraživanja postavljeni su sledeći glavni ciljevi:

- Ispitati prisustvo EmS i EDCs supstanci u vodama rijeke Morače i Skadarskog jezera i kvantitativno izmjeriti njihovo prisustvo.
- Ispitati abudantnost fizioloških grupa mikroorganizama i odrediti njihov diverzitet. Takođe, kvantitativno i kvalitativno odrediti prisustvo mikroorganizama kao indikatora sanitarnog stanja voda rijeke Morače i Skadarskog jezera.
- Odrediti uzročno-posljedične odnose između fizioloških grupa mikroorganizama i prisustva EmS i EDCs supstanci, kao i utvrditi postoje li sezonske razlike u tom odnosu.
- Testirati bioakumulaciju EmS i EDCs supstanci u tkivima različitih vrsta riba, kao indikator koliko su dugo živi organizmi izloženi ovim supstancama u vodama rijeke Morače i Skadarskog jezera.
- Odrediti vrijednosti HQ – koeficijenta kao pokazatelja rizika opterećenosti vodenog ekosistema rijeke Morače i Skadarskog jezera hemijskim zagađivačima.
- Na osnovu dobijenih rezultata i integralne analize podataka istraživanja predložiti dopunu postojećeg programa monitoringa vodenih ekosistema rijeke Morače i Skadarskog jezera, kao i eventualne mjere njegove zaštite.
- Hipoteza: Sa razvojem urbanizacije sve više su vođeni ekosistemi rijeke Morače i Skadarskog jezera opterećeni različitim hemijskim supstancama koji mijenjajući sastav sredine utiču na žive organizme koji žive u tim ekosistemima. Pretpostavlja se da ti uticaji mogu dovesti kroz određeni vremenski period do promjene u strukturi mikrobne zajednice, odnosno do promjene u brojnosti, diverzitetu mikroorganizama kao i njihovog fenotipa.

## 4. MATERIJAL I METODE

### 4.1 OPIS ISTRAŽIVANIH LOKACIJA

Površinski tokovi Crne Gore pripadaju slivu Jadranskog i slivu Crnog mora. Od površinskih vodotoka Jadranskog sliva najznačajniji su: Morača sa svojim pritokama Zetom, Cijevnom, i Malom rijekom, Crnojevića rijeka, Biševina, Orahovačka rijeka, Crmnička rijeka, Grahovska i Nudolska rijeka (Radulović, 2000; Radonjić, 2006, 2018).

Rijeka Morača nastaje na koti 975 m od više potoka, koji se slivaju ispod padina Javorja i Zebalaca, među kojima su najveći Javorski i Ržavski potok. Izvorišno područje izgrađuju sedimenti Durmitorskog fliša u kojima je rijeka duboko urezala svoje korito. Od spajanja Ržavskog i Javorskog potoka do mjesta Mioske Morača ima pravac toka od sjeverozapada prema jugoistoku, odakle skreće na jugozapad. Kad napusti flišni teren, od mjesta Andrijevo, Morača teče dalje kroz karstno područje kao rijeka probojnica, tj. pravac toka je skoro, upravan na pravac pružanja slojeva. Na ovom dijelu rijeka je, probijajući se kroz krečnjake usjekla svoj duboki, imponantni kanjon zvani Platije. Kod Zlatice Morača ulazi u Zetsku ravnicu kroz koju teče sve do ušća u Skadarsko jezero. S desne strane najveće su joj pritoke Požnja, Topli potok, Vrela, Zeta, Mareza i Sitnica. S lijeve strane njene najveće pritoke su: Slatina, Koštanica, Kruševački potok, Mala rijeka, Ribnica i Cijevna (Radulović 1989; Radonjić, 2006, 2018).

U izuzetno sušnim godinama korito Morače je suvo od Manastira Duge do ušće Zete i od Botuna do uspora voda Skadarskog jezera.

Skadarsko jezero nalazi se na krajnjem jugozapadnom dijelu Crne Gore. Napaja se vodom iz prostornog sliva, površine 5.490km<sup>2</sup>, od čega je na teritoriji Crne Gore 4.460km<sup>2</sup>, a na teritoriji Albanije oko 1.030km<sup>2</sup>. Povremeno Skadarsko jezero dobija vodu i od rijeke Drima čiji je sliv oko 14.000km<sup>2</sup>. Najvažnije pritoke Skadarskog jezera su: Morača, Karatuna, Bazagurska matica, Crnojevića rijeka, Orahovštica i Crmnička rijeka. Značajne količine vode jezero dobija preko vodotoka, koji dreniraju zbijenu izdan Zetske ravnice. To su Mala Morača, Plavnica, Zetica, Gostiljska rijeka, Pjarnik, Mala Mrka, Velika Mrka i Rujela. Osim navedenih rijeka, sa karstnog dijela terena, na području od albanske granice do Malog blata dotiču mnogobrojni povremeni vodotoci, kao oni što su u Murićima, Godinju, Komarnu, Podseljanima i Sinjcu.

Skadarsko jezero vodom napajaju i brojni podvodni izdanci-vrulje (Radulović, 2000). Skadarsko jezero se odlikuje nizom specifičnosti (Petrović, 2017).

U Malom blatu postoje brojni podjezerski izvori ("oka"), među kojima su najznačajnije: Biotsko oko, Brodić, Bolje sestre, Crno oko, Bivo, Donja Krakala, Mala Šujica, Krstato oko, Bobovine i dr. Na području Karuča najznačajnija su Đurovo oko, Volač, Karuč, Gušeljevo, Njivice i dr.

Skadarsko jezero otiče rijekom Bojanom čiji je srednji protok preko 320 m<sup>3</sup>/s.

Današnje korito Skadarskog jezera je dinarskog pružanja. Njegovi najniži dijelovi nalaze se ispod nivoa mora čineći kriptodepresiju. Zapremina Skadarskog jezera varira od 1,76 km<sup>3</sup>, pri najnižem vodostaju, do 4,06 km<sup>3</sup> pri najvišem vodostaju. To je ujedno najveća vodena masa na teritoriji Crne Gore.

## 4.2. KLIMATSKE KARAKTERISTIKE

Klimatske karakteristike karstnih terena Crne Gore su složene, što je posljedica prije svega blizine mora, geografske širine, velike raščlanjenosti reljefa, nadmorske visine, prostornog položaja visokih planina, rijeka, jezera i vegetacije.

Crna Gora je u pojasu koji predstavlja prelaz između suptropskog područja, visinskog pritiska i subpolarnih područja niskog vazdušnog pritiska. Iznad teritorije Crne Gore smenjuje se tropski vazduh, koji cirkuliše od pustinja krajeva Afrike i polarna strujanja sa ciklonskom aktivnošću, koja donosi obilne padavine u hladnijem periodu godine (Radulović, 2000).

Klima istraživanog područja je sredozemna i umjerena. Prema Statističkom godišnjaku Crne Gore iz 2017. godine središnja godišnja temperatura za opštinu Podgorica iznosi 18,74°C sa središnjom sumom padavina od 257,05/m<sup>2</sup> godišnje. Maksimalne izmjerene temperature za opštinu Podgorica iznosile su 39,9°C. Uglavnom neuravnoteženi raspored atmosferskih padavina i duži periodi aridnosti uslovljavaju specifičnosti u klimatskim režimima istraživanih lokacija, odnosno samih vodenih staništa. Godišnji ciklus od toplog, sušnog i niskovodostajnog perioda, zamjenjuje hladniji do hladni ciklus sa izražajnim obiljem atmosferskog taloga i visokog vodostaja.

## 4.3 ISTRAŽIVANO PODRUČJE

Analizirani su uzorci vode uzorkovani zahvatom iz rijeke Morače i Skadarskog jezera (Slika 4.) Istraživanja su vršena u dvije etape. Prva "Skrining" analiza vršena je vršena na pet lokacija: Vukovci, "Lijevi krak rijeke Morače", "Desni krak rijeke Morače", "Kraljeva glavica"-Vranjina, "Tanki rt"-ispod mosta-Jezero, a drugi dio istraživanja na šest lokacija : Zlatica/Smokovac, iznad grada Podgorice, kao "nulta tačka"; Vukovci, "Lijevi krak rijeke



Morače“, “Desni krak rijeke Morače“, “Kraljeva glavica“-Vranjina, “Tanki rt“ ispod mosta-Jezero. Istraživanje je obavljeno u toku 2013-2018. godine. U toku 2013.-2014. godine uzorci za analizu su uzimani jedanput u toku novembra 2013. godine i jedanput u toku septembra 2014. godine kako bi se izveo “skrining“ istraživanih lokacija na prisustvo “ksenobiotika“.

Drugi dio eksperimenta izveden je mjesečno, u toku 2017. godine (januar, maj, jun, avgust, septembar, novembar i decembar) i januar 2018. godine. Prikazan je prolječno-ljetnji i jesenjo-zimski aspekt voda na istraživanim lokacijama na prisustvo EmS, upotunjene mikrobiološke analize opisane poglavljem 4.6.

### 4.3.1 PREGLED ISTRAŽIVANIH LOKALITETA

Zlatica 42° 46' 35" N; 19° 29' 36" E

Vukovci 42° 20' 02" N; 19° 11' 60" E

”Lijevi krak rijeke Morače“ 42°25' 84" N; 19° 13' 46" E

”Desni krak rijeke Morače“ 42°27' 70" N; 19° 12' 32" E

”Kraljeva glavica“-Vranjina 42°27' 57" N; 19° 12' 15" E

”Tanki rt“-ispod mosta 42° 27' 90" N, 19° 13' 49" E



Slika 4: Istraživani lokaliteti

## 4.4 UZORKOVANJE UZORAKA NA TERENU

### 4.4.1 UZIMANJE UZORAKA ZA FIZIČKO –HEMIJSKA ISPITIVANJA

Uzorci za hemijsku analizu uzimani su staklenim bocama (amber boce) od 1 jednog litra. Za određivanje koncentracije rastvorenog kiseonika u vodi korištene su Vinklerove bočice sa šlifovanim zatvaračima, pri čemu je kiseonik odmah fiksiran dodavanjem 1 cm<sup>3</sup> KJ plus 1 cm<sup>3</sup> MgCl<sub>2</sub>. Uzorci za određivanje biološke potrošnje kiseonika (BPK<sub>5</sub>), uzimani su takođe Vinklerovim bočicama.

Standardnim metodama (Škunca-Milovanović i ostali, 1990) su određeni i pH, koncentracija rastvorenog kiseonika, BPK<sub>5</sub> i utrošak KMnO<sub>4</sub>, nitriti, nitrati, fluoridi i hloridi.

#### 4.4.2 UZORKOVANJE VODE ZA BAKTERIOLOŠKE ANALIZE

Uzorci vode za bakteriološku analizu uzimani su sterilnim bocama zapremine 1 dm<sup>3</sup>.



*Fotografija 1: Uzorkovanje na lokalitetu "Desni" krak rijeke Morače (foto: iz sopstvene kolekcije)*

Boca se otvara iznad površine vode, i boca se horizontalno potapa u vodu, puni se do 2/3 zapremine, zatim vadi iz vode, otvor se tretira plamenom i boca se zatvara. Uzorci su do laboratorije transportovani u najkraćem mogućem roku u terenskom frižideru sa patrimonima leda. Po prispjeću u laboratoriju uzorci su odmah mikrobiološki analizirani. Uzorci za analizu fizioloških grupa mikroorganizama uzimani su na isti način kao i za ostale bakteriološke analize.

#### 4.4.3 UZORKOVANJE ZA "SKRINING" ANALIZE

Boce za hemijsku "skrining" analizu su isprane s vodom sa tri puta prije nego što se potapanjem izvrši uzorkovanje, to iz razloga da se površina stakla, hemijski uskladi sa uzorkom. Uzorci su pripremljeni na sledeći način: u 800 ml vode dodato je internog standard (phenanthrene-D10) u cilju postizanja krajnje koncentracije 1 µg/L, a zatim ekstrahovani sa 50-ml dichloromethane 20 minuta. Identifikacija komponenti vršena je korištenjem Wiley7n and NIST08 spekto-fotometrijske biblioteke.

Skrining analiza je perforirana na gasnom-hromatografu Agilent 7890N uz maseno spektrometrijskim detektorom Agilent 5975 na Institutu za analitičku hemiju, Fakultet hemijske i prehrambene tehnologije, slovačkog Univerziteta za tehnologiju u Bratislavi u Slovačkoj (Fotografija 2).



*Fotografija 2: 5 Agilent 7890N uz maseno spektrometrijski detektor Agilent 5975 (foto: iz sopstvene kolekcije)*

Gasni hromatograf 7890N GC System (Agilent Technologies) opremljen split/splitless injektorom i povezan sa dva detektora: plameno-jonizacionim (FID) i masenim kvadrupolnim detektorom 5975C inert XL EI/CI MSD (Agilent Technologies) – za snimanje masenih spektara isparljivih i termički stabilnih jedinjenja tehnikama elektronske (70 eV) i hemijske jonizacije.

Gasna hromatografije u kombinaciji sa masenom spektrometrijom analizirane su uz korišćenje kapilarnih kolona DB-FFAP 30 mx 250 mm ID, 0,25 mm, u scan modu akvizicije, carrier gas bio helijum protoka 1 ml/min, zagrijavanje, program 40°C, 10 min; Stopa 2°C / min do 230 °C splitless injektor (Sremački et al. 2014).

#### **4.4.4 ODREĐIVANJE PRISUSTVO PHACS I EDCS U TKIVIMA RIBA**

##### **Priprema uzorka**

Prisustvo farmaceutskih proizvoda i endokrino uznemiravajućih supstanci u tkivima sledećih vrsta riba: *Rutilus prespensis* (Karaman, S., 1924), *Squalius platyceph* (Župančić, et al., 2010), *Scardinius knezevici* (Bianco & Kottelat, 2005), *Chondrostoma ohridanum* (Karaman, 1924),

*Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758) i *Alburnus alburnus* (Bonaparte, 1845) ispitano je koristeći (LC-MC; Liquid chromatography-tandem mass spectrometry LC-MS je tečna hromatografija u tandemu sa masenom spektrofotometrijom), određena su na osnovu metode koje su uveli Huerta *et al.* (2013) na prisustvo PhACs, i metode Jakimska *et al.* (2013) za EDCs.

Postupak pripreme uzorka je opisan procedurom:

Svaka vrste su ulovljene u tri primjerka. Determinacija riba urađena je po (Kattelat & Freyhof, 2009) a nomenklatura je usaglašena sa (Marić & Milošević, 2011).

Po pristizanju u laboratoriju, riba se sortira po vrstama, zatim očisti od škrge, krljušti i unutrašnjica, samelje se i potom zamrzne. Uzorci su potom liofilizirani su u liofilizatoru Instituta za biologiju mora, Kotor.



Fotografija 3: Liofilizator ALPHA za liofilizaciju uzoraka riba (foto:iz sopstvene kolekcije)

- Procedura liofilizacije:

Uzorak, koji se suši liofilizacijom, tokom sušenja prolazi kroz dvije faze: fazu primarnog sušenja i fazu sekundarnog sušenja.

Primarno sušenje je iz zamrznutog stanja (od  $-15^{\circ}\text{C}$  do  $-70^{\circ}\text{C}$ ). Smatra se da je primarno sušenje završeno kad je u uzorku preostalo još 6-8 % vode, jer tada u njemu više nema leda pa je i sublimacija okončana. Primarnim sušenjem se iz uzorka izdvaja tzv. slobodna voda. Sekundarno sušenje je sušenje iz "tečnog" stanja i njime se nastoji ukloniti tkz. vezana voda, jer je ona u stvari i uzrok koji može spriječiti uspješno čuvanje liofiliziranog uzorka (Fotografija 3) posebno kod sobne temperature.

### Analiza uzoraka

Analiza uzoraka riba izvršena je u Geroni na Institut Català de Recerca de l'Aigua ICRA/ Catalan Institute for Water Research ICRA koristeći prethodno optimizirane metode za PhACs (Huerta *et al.*, 2013) i za EDCs (Jakimska *et al.*, 2013).



## A) PhACs

Metoda za određivanje koncentracija PhACs iz mišića riba zasnovana je na koraku ekstrakcije, pri čemu se koristi pritisak tečne ekstrakcije (PLE), nakon koje slijedi gel (GPC), čišćenje i ultraperformansa tečne hromatografije triple kvadropol masene spektrofotometrije (UPLC-MS/MS). Po 0,5 g homogenizata ulovljenih i zamrznutih riba stavljeno je pojedinačno u tuve uz tečnu ekstrakciju pod pritiskom ASE 350® (Thermo Scientific Dionex, USA), sa metanolom kao rastvaračem pri tome izvršene su 4 ekstrakciona ciklusa svaki od 5 minuta na temperatura od 50° C. Finalna ekstrakcija bila nježno uvođenje azota u 1 ml metanola čime se finalnom ekstrakciom dobio uzorak do uparenja. Sistem visokom pritiska i tečne hromatografije Agilent Technologies, USA, model 1260 Infinity, sa uz dodatak diode detektorom (PDA), korišteno je za ispiranje sa gel permanentnom hromatografijom (GPC). 500 mikrolitara, ekstrakcije metanola je injektovano u EnviroPrep kolumni dijametara pora (300 mm × 21,2 mm × 10 µm), kompletirano sa PLgel Guard kolumnom (50 mm × 7.5 mm) (Agilent Technologies, USA), koristeći mobilnu fazu rastvor (5 mL min<sup>-1</sup> dihlor-metan : metanol u odnosu 90:10). Prečišćene frakcije sadrže targete između 13,5 i 26,5 min., nakon čega su sakupljene, osušene do isparenja i rekonstruisane uz 1 ml mobilne faze rastvora metanol: voda u odnosu 10:90. Tečna hromatografija u tandemu sa masenom spektrofotometrijom (HPLC-MS/MS), metod je prvenstveno prikazan i razvijen od Gros et al. (2012) i Huerta et al. (2013) uz korištenje Waters Acquity Ultra-Performance™ tečnog hromatografa koji je upotpunjen sa 5500 QTRAP hibridnim kvadropol-linearnim jonsko-masnim spektrofotometrom sa ESI izvorom (Applied Biosystems, USA, model ABSciex 5500-QTRAP). Selektovane i monitoringovane reakcije SRM u tranziciji između prekursora jona i dva najabundantnija fragmenta monitoringovani su za svaku komponentu. Prva tranzicija je imala funkciju u kvantifikaciji, a druga kao potvrda identifikacije targetovanih komponenti. Zatim su utranzitivane vrijednosti upoređivane sa standardom i relativna abundanca uzoraka je trebala da bude između ± 20% odnosa od dva SRM i analitičkog standarda. Kvantifikacija je izvedena internom kalibracijom uzoraka. Metoda, validacija kriterijuma (recovery, matriks) mogu se naći u (Huerta et al., 2013). Hemijske strukture i prekursori jona ispitivanih hemikalija (Izračunato pomoću MarvinSketch software Huerta et al., 2013) prikazane su Prilogom 2.

## B) EDCs

Koristeći se metodom (Jakimska et al., 2013) koja se zasniva na QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe), ispitano je prisustvo 19 EDCs u tkivima riba. Metoda predstavlja kombinaciju (ultra high performance liquid chromatography coupled with tandem mass spec-trometry UHPLC-MS/MS).

PLE kondicioniranje uključuju ekstrakciju metanola u 4 ciklusa od 5 min svaki na 50° C za 1 g uzorka homogenata ribe. Konačni ekstrakti su uparivani do suvoće pod strujom azota, rekonstituisani u metanolu i podvrgnuti se koraku prečišćavanja GPC-om (gel permeation chromatography) koji je izveden sa anAgilent 1260- Infinity high pressure liquid chromatography system with a diode array detector (HPLC-DAD) koristeći Agilentnu Enviro-Prep kolonu (300 mm × 21,1 mm, 10 m) spojeno sa zaštitnom kolonom PLgel (50 mm × 7,5 mm). Mobilna faza je bila DCM / MeOH (90: 10, v/v) pri brzini protoka od 5 ml / min u izokratskim uslovima, a injekcioni volumen je 250 L. Frakcije koje sadrže ciljna jedinjenja sakupljene su između 13,5 i 26,5 min, a zatim su isparene do suva. Nakon ekstrakcije i purifikacije uzorka izvršena je analiza uzoraka je izvršena na Waters Acquity Ultra-Performance™ liquid chromatography system opremljeni dvosmjernim sistemom pumpi (Milford, MA, USA), koristeći kolonu Acquity BEHC18 (50 mm × 2.1 mm i.d., 1.7 µm particle size).

Optimizovani uslovi razdvajanja su bili sledeći: rastvarač (A) metanol i (B) voda (pH 9, podešen amonijakom) pri protoku od 0,4 mL /min.

Gradijentno ispiranje za režim pozitivnih jona (PI) je: 0–3 min, 30–100% A; 3–4,75 min, 100% A; 4,75–5,75 povratak na inicijalne uslove; 5,75–7 min, ekvilibrijum kolone i prebacivanje na mod negativnog jona (NI): 0–4 min, 30–100% A; 4–5 min, 100% A; 5–6 min povratka na početne uslove; 6–7,5 min, ravnoteža kolone. Kolona je održavana na 40°C u NI; temperatura nije kontrolisana u PI. Ubrizgana količina uzorka je bila 5 µL za oba načina jona. Fizičko-hemijska svojstva i hemijske strukture ciljnih jedinjenja dato je Prilogom 3.

#### 4.4.5 UZORKOVANJE ZA ANALIZU FARMACEUTIKA U UZORCIMA VODE.

Uzorci su se standardno uzorkovali u staklene neprovidne (amber boce) zaštićeni od sunčevih zraka. Nakon uzorkovanja pod temperaturnim režimom uzorci vode su donešeni u laboratoriju Odjeljenja biološke kontrole Hemomont. Tretirani automatskim tečnim ekstrakovanjem (SPE).

Specifičnost ove analitičke metode bazira se na automatskoj tečnoj fazi ekstrakovanja automatski ekstrakovanjem sa GX-271ASPEC™ sistemom (Gilson, Villiers le Bel, France) Oasis ili Plexa, HLB (60 mg, 3 ml). Ovako specijalno pripremljeni uzorci su zamrznuti i poslati u Geronu na Institut Català de Recerca de l'Aigua ICRA/Catalan Institute for Water Research ICRA gdje će se na osnovu ultra visoke performanse tečne hromatografije u tandemu sa masenom spektrometrijom (UPLC-QqLIT) izvršiti analiza uzoraka (Gros et al., 2012).

Za izvođenje metode svi farmaceutski standardi su bili visokog stepena čistoće (>90%). Jedinjenja sa brojevima (Tabela 4.4.4.3, Prilog 3.) 1-17, 20, 23, 25, 28-30, 32-34, 36-42, 44-

47, 49, 51, 54-57, 59-79 i 81 su kupljeni od Sigma-Aldrich. Jedinjenja sa brojevima 9, 18, 19, 27, 43, 52, 53 i 80 su kupljeni od US Pharmacopeia (USP), dok su supstance sa brojevima 24, 26, 31, 35, 50, 48 i 79 su dobijeni od strane European Pharmacopeia (EP). Supstance sa brojevima 24, 26, 28-31, 37, 41, 42, 55, 61, 69, 79 i 81 su kupljeni kao hlorovodonične soli, 12, 17 i 18 kao natrijumske soli, 19 kao kalcijumska so, 25 kao hidrobromidska so, 43 kao tartrat, 50 kao bestilat, 51 kao kalcijumska so, 54 kao hydrogen sulfat i 56 kao hemisulfat. Na kraju, substance sa brojevima 21, 22 i 58 su dobijeni iz Toronto Research Chemicals (TRC). Izotopski obilježena jedinjenja koja su se koristila kao interni standard su bila erithromycin-N,N-dimethyl-<sup>13</sup>C, xylazined<sub>6</sub>, azaperone-d<sub>4</sub>, ibuprofen-d<sub>3</sub>, diazepam-d<sub>5</sub>, meloxicam-d<sub>3</sub>, ronidazole-d<sub>3</sub>, ofloxacin-d<sub>3</sub>, i fluoxetine-d<sub>5</sub> kao hlorovodonične soli) od Sigma-Aldrich. Dexamethasone-d<sub>4</sub>, indomethacined<sub>4</sub>, antipyrine-d<sub>3</sub>, cimetidine-d<sub>3</sub>, bezafibrate-d<sub>6</sub>, gemfibrozil-d<sub>6</sub>, carbamazepine-d<sub>10</sub>, citalopram-d<sub>4</sub> (as hydrobromide), atenolol-d<sub>7</sub>, warfarin-d<sub>5</sub>, hydrochlorothiazide-d<sub>2</sub>, valsartan-d<sub>8</sub> and glyburided<sub>3</sub> su kupljeni od CDN isotopes (Quebec, Canada) i azithromycin-d<sub>3</sub>, sulfamethoxazole-d<sub>4</sub>, acetaminophen-d<sub>4</sub>, venlafaxine-d<sub>6</sub>, amlodipine-d<sub>4</sub> (as maleic acid salt), verapamild<sub>6</sub> (kao hidrohloridne soli) i furosemide-d<sub>5</sub> su bili iz Toronto Research Chemicals (Ontario, Canada). pripremljeni na osnovu težine u metanolu (u koncentraciji od 1000 mg/L), osim ofoxacin i ciprofloxacin, koji su rastvoreni u metanolu dodajući 100  $\mu$ L od NaOH 1M, kao što je opisano od strane (Ibanez et al., 2009) i cefalexin koji je razblažen u HPLC stepenu vode, što je nagoviješteno od strane (Kantiani et al. 2009) budući da su ove supstance slabo rastvorljive ili potpuno nerastvorljive u čistom metanolu. Nakon pripreme, standardi su čuvani na -20°C. Posebne mjere predostrožnosti su bile uzete u obzir za tetracycline, koji mora da se drži na tamnom mjestu, da bi se izbjegla njegova izloženost svjetlosti, zato što je demonstrirano da su tetracycline antibiotic podložni fotodegeneraciji (Eichhorn et al. 2009). Svježe zalihe antibiotskih rastvora pripremane su svakih tri mjeseca dok su za fluoroquinolone antibiotik pripremljeni mjesečno zbog svoje ograničene stabilnosti. Zalihe rastvora za ostale supstance su obnavljanje svakih 6 mjeseci. Radni standardni rastvori koji sadrže sve farmaceutike su takođe pripremljeni u metanolu/vodi (10:90, v/v) i obnovljeni prije svakog analitičkog izvršavanja miješanjem odgovarajućih količina intermediate rastvora. Odvojene smješe izotopski obilježenih internih standard, korišteni za internu kalibraciju, i surogati, su takođe pripremljeni u metanolu i dalja razblaživanja su takođe pripremana u smješi metanola/vode (10:90, v/v). Ketridži korišteni za čvrstu fazu ekstrakcije su bili Oasis HLB (60 mg, 3mL), Oasis HLB (200 mg, 6ml) i Oasis MCX (60 mg, 6ml), od Waters Corporation (Milford, MA, USA).

Poslije izvršene optimizacija ekstrakcije čvrste faze izvršena je UPLC-ESI-(QqLIT) MS/MS, opisani u dijelu za analizu farmaceutika iz riba. Svi rezultati procesuirani su korištenjem Analyst 1.5.1 software.

#### 4.4.6 TERENSKA MJERENJA POKAZATELJA KVALITETA

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

Elektrolitička provodljivost mjerena je laboratorijskim i terenskim konduktometrom.

- Elektrolitička provodljivost

Elektrolitička provodljivost predstavlja mjeru ukupne koncentracije jona u uzorku vode. Provodljivost uzorka se određuje na WTW multiparametarskom uređaju.

pH vrijednost

- pH se određuje metodom direktne potencijometrije.

Instrument za određivanje pH vrijednosti naziva se pH-metar. Za mjerenje pH vrijednosti koristi se par elektroda: indikatorska (staklena) i referentna (kalomelova ili srebro-srebro-hloridna) elektroda. Mjerenje potencijala indikatorske elektrode svodi se na mjerenje elektromotorne sile (EMS) sprega: indikatorska elektroda /ispitivan rastvor/ referentna elektroda.

Prilikom svakog mjerenja pH vrijednosti uzorka obavezno se vrši kalibracija instrumenta. Svaki pH-metar ima uputstvo koga se treba pridržavati.

- Određivanje rastvorenog kiseonika

Rastvoreni kiseonik se određuje primjenom jodometrijske metode (Winkler-ova metoda) i elektrometrijske metode (primjena membranske elektrode). Određivanje kiseonika membranskim elektrodama naročito je pogodno kada se radi o mjerenju na licu mjesta; u rijekama, jezerima, rezervoarima, izlivnim kanalima iz industrije, itd. Rezultat mjerenja rastvorenog kiseonika se izražava kao sadržaj  $\text{O}_2$  u  $\text{mg/dm}^3$ .

Rastvoreni kiseonik u vodi Winkler-ovom metodom veže se (fiksira) u obliku viših oksid hidrata mangana. Zatim se u kisjeloj sredini pomoću dobijenih oksid-hidrata mangana oksiduje ekvivalentna količina jodidnog jona u jod koji se određuje titracijom sa natrijum-tiosulfatom.

Saturacija kiseonikom se računa kao procenat koncentracije rastvorenog kiseonika i odnosi se na potpunu saturaciju na temperaturi na kojoj je izvedeno mjerenje. Ukoliko temperatura raste, koncentracija 100% saturacije opada. Barometarski pritisak i salinitet imaju uticaj na saturaciju, ali u manjoj mjeri.



- Biološka potrošnja kiseonika poslije 5 dana-  $BPK_5$

Biološka potrošnja kiseonika-  $BPK_5$ , podrazumijeva količinu kiseonika u (mg) koja je potrebna mikroorganizmima za oksidaciju organske materije u 1 dm<sup>3</sup> vode pod anaerobnim uslovima.

Određivanje se vrši pod standardnim uslovima u toku pet dana, na temperaturi od 20<sup>0</sup> C, bez prisustva vazduha i svjetlosti. Na terenu se po uzimanju uzorka kiseonik može vezati dodatkom po 1 dm<sup>3</sup> MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O 40% i alkalnog rastvora KJ. Ovaj postupak (jodnodiferencijalni) se koristi za vode u kojima je smanjena koncentracija kiseonika.

Za uzimanje uzoraka se koriste staklene Vinklerove boce sa brušenim zapušačima, koso zatesanim na donjem kraju čija je zapremina poznata. Uzorci se ne smiju konzervirati. Nakon pet dana od uzorkovanja izvrši se fiksacija uzorka po Vinklerovom postupku. Uzorak iz vinklerice se prespe u erlenmajer od 500 cm<sup>3</sup>, boca sa uzorkom se ispere sa malo (oko 5 cm<sup>3</sup> HCl (1:1)) dok se ne rastvori i to se doda u erlenmajer, zatim se dodaje skrob 0,5 do 1 cm<sup>3</sup> do prelaska u crnu boju i titriše sa 0,01 N Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> do obezbojenja.

- Određivanje utroška kalijum permaganata (KMnO<sub>4</sub>)

Određivanje ukupnih organskih materija u vodi ovom metodom, vrši se oksidacijom organskih materija kalijum permaganata u kisjeloj sredini (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Potrošnja KMnO<sub>4</sub> pri standardnim uslovima predstavlja mjerilo sadržaja organskih materija u vodi. Voda koja sadrži organske materije potrošiće određenu količinu KMnO<sub>4</sub> za njihovu oksidaciju. Količina utrošenog KMnO<sub>4</sub> zavisi od količine organskih materija u vodi ali i njihove hemijske strukture. Međutim i neke neorganske supstance na primjer: nitriti, Fe<sup>2+</sup>, H<sub>2</sub>S i drugi, mogu pod određenim uslovima oksidovati KMnO<sub>4</sub>, zato se potrošnja KMnO<sub>4</sub> može uslovno smatrati mjerilom sadržaja organske materije u vodi.

U Erlenmajerovu tikvicu od 300 cm<sup>3</sup>, odmjeri se 100 cm<sup>3</sup> uzorka vode za analizu, 5 cm<sup>3</sup> H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1:3) i nekoliko staklenih perli. Zagrijava se do ključanja. U ključali rastvor se dodaje iz birete 15,00 cm<sup>3</sup> 0,002 mol/dm<sup>3</sup> KMnO<sub>4</sub> i nastavi sa zagrijevanjem još 10 minuta. Ako postoji ružičasta boja, u vruć rastvor se dodaje iz birete 15,00 cm<sup>3</sup> 0,005 mol/dm<sup>3</sup> oksalne kiseline i dalje zagrijava do potpunog obezbojavanja. Zatim se rastvor titrira sa 0,002 mol/dm<sup>3</sup> KMnO<sub>4</sub> do pojave svijetlo-ružičaste boje, postojane 30 sekundi.

- Nitriti

Zapremina 100 ml uzorka vode se sipa u erlenmajer, sa dodatkom 2 cm<sup>3</sup> sulfanilne kiseline i 2 cm<sup>3</sup> alfa-naftil-amina. Promiješati i ostaviti da odstoji 10 minuta. Očitavati na Hellige-ovom komparatoru.

- Nitrati

Kvantitativno i kvalitativno određivanje se vrši pomoću nove metode, spektrofotometrijski.

Naime, u 50 ml uzorka vode doda se 1 cm<sup>3</sup>, 1 M HCl, promiješa i očitavanje vrši na talasnoj dužini od 220 nm.

- Hloridi

Ako ispitivana voda ne sadrži mnogo hlorida, što se može utvrditi kvantitativnim određivanjem, uzeti 100 cm<sup>3</sup> uzorka, a za veće koncentracije srazmjerno manje i dopuniti destilovanom vodom do 100 cm<sup>3</sup>. Ako su količine hlorida pak neznatne, potrebno je upariti 250 cm<sup>3</sup> uzorka ili više, do 100 cm<sup>3</sup> uz energično povremeno miješanje tečnosti.

Sama titracija se vrši u erlenmajeru od 300 cm<sup>3</sup> u kojem se uzorku od 100 cm<sup>3</sup> ispitivane vode dodaje 1 cm<sup>3</sup> indikatora (K<sub>2</sub>CrO<sub>4</sub>) i titriše rastvorom AgNO<sub>3</sub>. Kraj titracije označava prelazak boje indikatora u slabo crvenkastu.

Sadržaj hlorida u (mg/dm<sup>3</sup>) u ispitivanom uzorku se računa na sledeći način:

$$\text{mgCl/ dm}^3 = n(\text{cm}^3) \text{ AgNO}_3 \times 10 \times 2$$

- Fluoridi

Koncentracija fluorid jona u vodi određuju se pomoću jon selektivne elektrode sa kristalom lantan-fluorida, pri čemu se obrazuje:

Ag/AgCl, Cl<sup>-</sup>(0,3 mol/dm<sup>3</sup>),

F<sup>-</sup>(0,001 mol/dm<sup>3</sup>)/ La F<sub>3</sub>/ ispitivani rastvor/2KE

## 4.6 MIKROBIOLOŠKE ANALIZE

Mikrobiološke analize ispitivane vode vršene su standardnim bakteriološkim metodama (Pravilnik o uzimanju uzoraka i metodama za laboratorijsku analizu vode, Sl. list RCG 16/96).

### 4.6.1 HRANLJIVE PODLOGE, REAGENSI, BOJE I RASTVORI

Gotove podloge i sastojci za podloge, korišćene u ovom radu, proizvod su Merck Germany. Korišćene su gotove i podloge koje je potrebno pripremiti. Podloge koje je bilo potrebno pripremiti, su pripremane po specifikaciji proizvođača i sterilisane u autoklavu 15-20 minuta na 120°C pod pritiskom od 1,5 atmosfere.

### 4.6.2 METODE ZA BOJENJE MIKROORGANIZAMA

- Bojenje po Gram-u (Knežević-Vukčević i Simić, 1997)

Razmaz mikroorganizama na mikroskopskoj pločici je osušen i fiksiran na plamenu. Poslije osušenog razmaza dodat je kristal violet. Poslije 60 sekundi dodat je Lugolov rastvor, koji je nakon 30 sekundi ispran etanolom, pa destilovanom vodom. Zatim je dodat safranin i

nakon 60 sekundi preparat ispran vodom i osušen. Preparati su posmatrani pod svjetlosnim mikroskopom.

#### 4.6.3 ODREĐIVANJE SANITARNE GRUPE MIKROORGANIZAMA

Pod sanitarnom grupom mikroorganizama podrazumijevaju se mikroorganizmi čije prisustvo ukazuje na organska opterećenja uzoraka vode, koji mogu nastati prirodnim djelovanjem npr. percipitacijom, ili djelovanjem čovjeka na neki akvatični ekosistem ili dio ekosistema. Identifikacija mikroorganizama je izvršena uz korištenje aparata i softvera za identifikaciju BIOLOG <https://www.biolog.com/>. Ovim istraživanjem urađeno je:

- Određivanje ukupnog broja heterotrofnih bakterija u uzorku (Petrović et al., 1998)
- Određivanje ukupnog broja fakultativnih oligotrofnih bakterija (Petrović et al., 1998)
- Određivanje najvjerovanijeg broja koliformnih bakterija (Knežević – Vukčević i Simić, 1997)
- Određivanje broja *Proteus* vrsta (Sl. list RCG 16/96)
- Određivanje broja *Streptococcus faecalis* (Sl. list RCG 16/96)
- Određivanje broja sulfido redukujućih klostridija Sl. list RCG 16/96)

Jedan cm<sup>3</sup> uzorka ispitivane vode ostavlja se u vodenom kupatilu na 80°C i inaktiviše 15 minuta, zatim se do kraja epruvete dosipa sulfitni agar, kako bi se onemogućio kontak sa vazduhom i spriječio razvoj aerobnih bakterija na vrhu epruvete i epruveta se zatvori čepom. Nakon 48 časovne inkubacije izrasle kolonije sa crnim pigmentom se broje, a kao potvrda da se radi o sulfidoredukujućim klostridijama prave se mikroskopski preparati.

#### 4.6.4 ODREĐIVANJE FIZIOLOŠKE GRUPE MIKROORGANIZAMA

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

- proteolizne bakterije,
- lipolizne bakterije,
- amilolizne bakterije.

## 4.7 UTVRĐIVANJE BIOLOŠKIH PARAMETARA

Tokom ovog istraživanja utvrđeni su fenotip i fenotipske promjene fizioloških grupa mikroorganizama uz korišćenje (MicroLog and MicroPlateare trademarks of Biolog, Inc., Hayward, CA, 2007). Način izolovanja fizioloških grupa predstavljen je u dijelu Mikrobiološki parametri 4.6 adirektnom ekstrakcijom i tačnim biohemijskim reakcijama koje su ustanovili Garland and Mills (1991) određen je fenotip.

Fenotipske karakteristike mikrobioloških zajednica (CLPP) uveli su u nauku (Lehman et al., 1995), a sa namjerom da ukažu na karakteristike mikrobioloških zajednica, dok je pojam produbio i tehniku detaljno opisao Winding A. (1994).

Biolog<sup>TM</sup> Ecolog daje odgovore u funkcionisanju mikrobioloških zajednica raznolikošću, sveukupnom vrijednošću i tačnim protokolom. Upravo sveukupna vrijednost može biti i najčešće je procijenjena, ukupnom brojem ili srednjom vrijednošću obojenih kupola AMR, ili izmjerenom OD izražena vrijednošću CDM Garland (1996). Kasnih osamdesetih godina prošlog vijeka razvijen je i unaprijeđen BIOLOG sstem, u cilju identifikacije mikroorganizama na nivou fenotipa i izuzetno je značajan zato što svaka životna zajednica ima mogućnost reagovanja sa 95 različitih izvora ugljenika na mikrotitar ploči. BIOLOG sistem je u početku razvijen u farmaceutskoj, biotehničkoj, kozmetičkoj a poslije i medicinskoj i prehrambenoj industriji (Garland 1996).

Potencijalna identifikacija fenotipskih karakteristika voda ispitivanih lokacija, započinje ukapavanje 150 $\mu$ L napravljene suspenzije u svaku od 96 kupola EcoPlate (Preston-Mafham et al., 2002; Winding, 1994). Uzorci su inkubirani 5 dana na 22°C.

Uzorci su analizirani BIOLOG<sup>TM</sup> EcoPlate (Slika 6) Mikrobiološkoj laboratoriji Hemomont d.o.o.

- CLPP je ekskluzivno uveden termin kako bi se mogle sistematizovati podaci dobijeni korištenjem BIOLOG<sup>TM</sup> mikroploča. BIOLOG<sup>TM</sup> EcoPlate sadrži 31 (Slika 5) različit izvor ugljenika koji je u tripletu. Pozicija 1. A je destilovana voda i služi kao negativna kontrola.

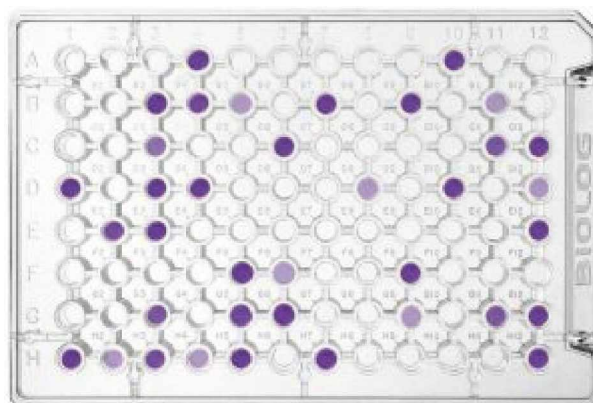
| Biolog EcoPlate | 1                         | 2                                 | 3                                   | 4                      |
|-----------------|---------------------------|-----------------------------------|-------------------------------------|------------------------|
| A               | Water                     | $\beta$ -methyl-D-glucoside       | D-galactonic acid $\gamma$ -lactone | L-arginine             |
| B               | Pyruvic acid methyl ester | D-xylose                          | D-galacturonic acid                 | L-asparagine           |
| C               | Tween 40                  | D-erythritol                      | 2-hydroxy benzoic acid              | L-phenylalanine        |
| D               | Tween 80                  | D-mannitol                        | 4-hydroxy benzoic acid              | L-serine               |
| E               | $\alpha$ -cyclodextrin    | N-acetyl-D-glucosamine            | $\gamma$ -hydroxy butyric acid      | L-threonine            |
| F               | Glycogen                  | D-glucosaminic acid               | Itaconic acid                       | Glycyl-L-glutamic acid |
| G               | D-cellobiose              | Glucose-1-phosphate               | $\alpha$ -ketobutyric acid          | Phenylethyl-amine      |
| H               | $\alpha$ -D-lactose       | D,L- $\alpha$ -glycerol phosphate | D-malic Acid                        | Putrescine             |

|  |  |
|--|--|
|  Amines                  |  Carboxylic acids  |
|  Carbohydrates          |  Amino acids      |
|  Complex carbon sources |  Phosphate-carbon |

Slika 5: Prikaz jedinjenja koji se ispituju na BIOLOG™ EcoPlate

<https://biolog.com/products-portfolio-overview/microbial-community-analysis-with-ecoplates/>

Očitavanja se bilježe na osnovu promjene boje u određenim vremenskim intervalima i tj. reakcije koja se manifestuje promjenama u OD koje očitavamo kao brojnu vrijednost.



Slika 6: Mikroploča BIOLOG™

<https://biolog.com/products-portfolio-overview/microbial-community-analysis-with-ecoplates>

Prokariotske zajednice predstavljaju funkcionalne jedinice u koje su sumirane metaboličke

karakteristike bakterijskih individua, pa CLPP se u tom cilju koristi kao osjetljiva i brza metoda za prepoznavanje potencijalnih metaboličkog diverziteta mikrobioloških zajednica. Na osnovu ove metode moguće je da se prepozna prisustvo ostataka ugljovodonika, pesticida ili metala kao i ostataka emergentno uznemiravajućih supstanci. Razgradnjom izvora ugljenika, redukuje se i mikrobiološki medijum koji se nalazi u jednoj od 95 kupola, (ne i na poziciji (1,1) je je ta pozicija negativna kontrola); dešavaju se promjene boje u nijansama narandžate. Odnosno te promjene boje, reakcije manifestuju se kroz izmjene i mjerenja svjetlosne dužine (OD), a sama promjena u boj može da nam opiše mikrobiološku zajednicu kroz dva parametra a to su:

- Prosječan metaboločki odgovor (AMR) je po definiciji srednja respiracija C-ničnih izvora koje koriste mikrobiološke zajednice. Predvidljiv je i mjerljiv a među zajednicama može biti upoređivan.

$$AMR = \Sigma(O.D.well - O.D.neg) / 95;$$

gdje je (O.D.well-O.D.neg)-odnos između izmjerene vrijednosti optičke gustine i negativne kontrole.

- Diverzitet metabolizma zajednice mikroorganizama (CMD) predstavlja ukupan broj promijenjenih medijuma na mikrotitar ploči, i analogan je sastavu i funkciji mikrobiološke zajednice. Mikrobiološki diverzitet zajednice se izračunava prostim brojanjem pozitivnih odgovora manifestovanih promjenom boje u narandžasto, (Slika 6) tokom inkubacije i mjerenja aktivnosti.

#### **4.8 PROCJENA RIZIKA KOJI MOŽE NASTATI DJELOVANJEM PHACS NA ORGANIZME U VODI IZRAČUNAVANJEM HQ HAZARD QUOTIENT-KOLIČNIKA ŠTETE SANCHEZ-BAYO (2002).**

U ekološkoj proceni rizika PhACs, rizik se karakteriše koeficijentom hazarda (HQ) koji formalno predstavlja odnos maksimalno izmjerena enviromentalna koncentracija (MEC) i predviđene ne efektne koncentracije ekološkog (biološkog) efekta (PNEC).

$$HQ = MEC / PNEC \times 1;$$

gdje je:

MEC (maximum measured environmental concentration-maksimalno izmjerena enviromentalna koncentracija)

PNEC (predicted no effect concentration in water-predviđena koncentracija koja nema efekta).

Vrijednosti PNEC-a za PhAC za nektonske organizme (drugi trofički nivo, potrošači), uzeti su NORMAN network.

Ukoliko je vrednost koeficijenta hazarda manja od 1, odnosno, ako su maksimalno izmjerena enviromentalna koncentracija hemikalije niže od koncentracija bez efekta, smatra se da je ekološki rizik od primjene predmetne supstance prihvatljiv. Obrnuto, ukoliko je vrednost HQ viša od 1, odnosno, ako su maksimalno izmjerene enviromentalne koncentracije više od koncentracija bez efekta, smatra se da rizik nije prihvatljiv, što obično implicira planiranje i primenu niza mjera za umanjeње ekološkog rizika od predmetne supstance (PhACs).

## **4.9 STATISTIČKA OBRADA PODATAKA**

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

## 5. REZULTATI

### 5.1 FIZIČKO-HEMIJSKE KARAKTERISTIKE VODA ISTRAŽIVANIH LOKALITETA

Rezultati fizičko-hemijskih parametara voda istraživanih lokacija prikazane su prema vođenim režimima na "zimsko" i na "ljetnje" uzorkovanje Tabelama: 2, 3, 4 i 5.

*Tabela 2: Rezultati fizičko-hemijskih analiza vode istraživanih lokaliteta za 2017-2018 godinu "zimski režim"*

| Ispitivani<br>parametri<br>Jedinica mjere         |                                       |               |               |             |             |               |               |             |                                    |               |               |             |                                   |               |               |             |
|---|---------------------------------------|---------------|---------------|-------------|-------------|---------------|---------------|-------------|------------------------------------|---------------|---------------|-------------|-----------------------------------|---------------|---------------|-------------|
|   | Rijeka Morača<br>Zlatica/Smokovac (1) |               |               |             | Vukovci (2) |               |               |             | "Lijevi krak rijeke<br>Morače" (3) |               |               |             | "Desni krak rijeke<br>Morače" (4) |               |               |             |
|   | Januar 2017                           | Novembar 2017 | Decembar 2017 | Januar 2018 | Januar 2017 | Novembar 2017 | Decembar 2017 | Januar 2018 | Januar 2017                        | Novembar 2017 | Decembar 2017 | Januar 2018 | Januar 2017                       | Novembar 2017 | Decembar 2017 | Januar 2018 |
| Utvrđene vrijednosti                              |                                       |               |               |             |             |               |               |             |                                    |               |               |             |                                   |               |               |             |
| Temp. vode<br>°C                                  | 3,0                                   | 13,0          | 7,0           | 4,0         | 5,0         | 18,0          | 11,0          | 7,0         | 5,2                                | 18,0          | 12,0          | 7,2         | 5,1                               | 18,1          | 12,0          | 7,1         |
| Temp.<br>vazduha<br>°C                            | 5,0                                   | 18,3          | 12,0          | 9,0         | 12,0        | 21,0          | 15,0          | 14,0        | 12,2                               | 21,0          | 15,0          | 14,0        | 12,2                              | 21,1          | 15,0          | 14,1        |
| pH  | 7,36                                  | 7,91          | 7,32          | 7,59        | 7,42        | 7,96          | 8,03          | 7,56        | 7,20                               | 7,98          | 8,09          | 7,36        | 7,41                              | 7,95          | 7,78          | 7,32        |
| Nitriti<br>mg/dm <sup>3</sup>                     | 0,0                                   | 0,05          | 0,0           | 0,0         | 0,05        | 0,15          | 0,15          | 0,0         | 0,05                               | 0,15          | 0,15          | 0,05        | 0,01                              | 0,15          | 0,15          | 0,15        |
| Nitrati<br>mg/dm <sup>3</sup>                     | 1,0                                   | 0,5           | 1,0           | 1,0         | 1,5         | 2,5           | 1,5           | 1,5         | 1,5                                | 1,5           | 1,5           | 1,5         | 1,5                               | 2,0           | 2,0           | 1,5         |
| Utroš.<br>KMnO <sub>4</sub><br>mg/dm <sup>3</sup> | 2,69                                  | 5,9           | 5,9           | 2,94        | 5,2         | 7,25          | 7,52          | 5,32        | 5,96                               | 8,0           | 7,14          | 5,60        | 5,86                              | 8,02          | 7,09          | 5,54        |
| O <sub>2</sub><br>mg/dm <sup>3</sup>              | 14,2                                  | 10,1          | 11,7          | 14,4        | 12,4        | 14,7          | 10,1          | 11,2        | -                                  | 14,6          | 9,86          | 12,5        | 12,8                              | 13,2          | 11,7          | 12,03       |



|   |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
|---|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| BPK <sub>5</sub><br>mg/dm <sup>3</sup>  | 0,91 | 2,02 | 1,39 | 0,46 | 2,77 | 2,72 | 0,99 | 1,25 | 2,43 | 2,86 | 1,15 | 2,51 | 2,36 | 2,71 | 1,91 | 2,02 |
| Zasićenost vode<br>kiseonikom<br>%      | 125  | 125  | 102  | 127  | 99   | 115  | 125  | 101  | 100  | 109  | 102  | 125  | 104  | 102  | 111  | 98   |
| hloridi<br>mg/dm <sup>3</sup>           | 4,06 | -    | 4,0  | 4,09 | 4,09 | 4,0  | 4,0  | 4,0  | 4,0  | 4,02 | 4,0  | 4,0  | 4,0  | 4,0  | 4,0  | 4,0  |
| fluoridi<br>mg/dm <sup>3</sup>          | 0,43 | 0,05 | 0,43 | 0,43 | 0,05 | 0,43 | 0,60 | 0,05 | 0,43 | 0,43 | 0,60 | 0,05 | 0,05 | 0,43 | 0,43 | 0,05 |
| Elekrolitička<br>provodljivost<br>mS/cm | 216  | 225  | 221  | 217  | 262  | 242  | 218  | 228  | 261  | 238  | 225  | 233  | 238  | 283  | 235  | 217  |

*Tabela 3: Rezultati fizičko-hemijskih analiza vode istraživanih lokaliteta za 2017-2018 godinu "zimski režim"*

| Ispitivani<br>parametri<br>Jedinica mjere         |                                 |                  |                  |                |                      |                  |                  |                |
|---|---------------------------------|------------------|------------------|----------------|----------------------|------------------|------------------|----------------|
|   | "Kraljeva glavica"-Vranjina (5) |                  |                  |                | "Tanki rt"-Jezero(6) |                  |                  |                |
|   | Januar<br>2017                  | Novembar<br>2017 | Decembar<br>2017 | Januar<br>2018 | Januar<br>2017       | Novembar<br>2017 | Decembar<br>2017 | Januar<br>2018 |
| Temp. vode<br>°C                                  | 5,2                             | 18,2             | 12,1             | 7,3            | 5,3                  | 18,3             | 11,9             | 7,1            |
| Temp.<br>Vazd.<br>°C                              | 12,3                            | 21,3             | 15,2             | 14,7           | 12,2                 | 21,1             | 15,0             | 14,1           |
| pH  | 7,45                            | 7,98             | 7,8              | 7,5            | 7,43                 | 7,99             | 8,05             | 7,8            |
| Nitriti<br>mg/dm <sup>3</sup>                     | 0,01                            | 0,15             | 0,15             | 0,15           | 0,05                 | 0,15             | 0,15             | 0,15           |
| Nitrati<br>mg/dm <sup>3</sup>                     | 1,5                             | 2,0              | 2,0              | 1,5            | 1,5                  | 2,0              | 2,0              | 1,5            |
| Utroš.<br>KMnO <sub>4</sub><br>mg/dm <sup>3</sup> | 5,9                             | 8,5              | 7,5              | 5,8            | 5,9                  | 7,9              | 7,9              | 5,53           |
| O <sub>2</sub><br>mg/dm <sup>3</sup>              | 11,5                            | 12,2             | 12,7             | 12,1           | 12,5                 | 13,2             | 10,0             | 10,2           |
| BPK <sub>5</sub><br>mg/dm <sup>3</sup>            | 2,15                            | 2,90             | 1,16             | 1,58           | 2,33                 | 2,75             | 1,99             | 1,25           |

|   |      |      |      |      |      |      |      |      |
|---|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Zasićenost vode<br>kiseonikom<br>%      | 100  | 105  | 100  | 95   | 98   | 100  | 100  | 102  |
| hloridi<br>mg/dm <sup>3</sup>           | 4,0  | 4,0  | 4,0  | 4,0  | 4,0  | 4,0  | 4,0  | 4,0  |
| fluoridi<br>mg/dm <sup>3</sup>          | 0,05 | 0,43 | 0,43 | 0,05 | 0,05 | 0,43 | 0,43 | 0,05 |
| Elekrolitička<br>provodljivost<br>mS/cm | 213  | 233  | 236  | 263  | 260  | 222  | 220  | 236  |

U januaru, novembru, decembru 2017. godine i januaru 2018. godine, odnosno za vrijeme zimskog uzorkovanja, temperatura vazduha za lokalitet Zlatica/ Smokovac je varirala u rasponu od 5°C do 18,3°C, dok se temperatura vode kretala od 3°C do 13°C. Izmjerene vrijednosti za fluoride, nitrare i nitrite nalazile su se u dozvoljenim granicama i odgovaraju A1 klasi voda (Uredba o klasifikaciji i kategorizaciji voda "Sl list RCG 15/97"). Utrošak KMnO<sub>4</sub>, tokom januara 2017. Godine je izosio 2,69 dok je u januaru sledeće godine izmjereno 2,94.

Na svim istraživanim lokalitetima utvrđene su relativno povoljne koncentracije kiseonika za zimski period. Utvrđene vrijednosti kretale su se uglavnom iznad 10,0 mg/dm<sup>3</sup>. Maksimalna vrijednost za zimski period registrovana je na lokalitetu Vukovci 14,4 mg/dm<sup>3</sup> (tab.2) odnosno 14,9 mg/dm<sup>3</sup> za ljetnji period ( tab.3).

Minimalna vrijednost za koncentraciju kiseonika u vodi utvrđena je sa 9,86 mg/dm<sup>3</sup>, na lokalitetu "Lijevi krak rijeke Morače". U zimskom periodu voda rijeke Morače bila je zasićena kiseonikom, odnosno prikazano u procentima uglavnom preko 100%. Vode Jezera i rijeke Morače na svim istraživanim lokalitetima dokazano su slabobaznog karaktera sa vrijednostima pH od 7,20-8,09.

*Tabela 4: Rezultati fizičko-hemijskih analiza vode istraživanih lokaliteta za 2017. godinu "ljetnji režim"*

| Ispitivani<br>parametri<br>Jedinica mjere |                                       |          |             |                |             |          |             |                |                                   |          |             |                |                                |          |             |                |
|---|---------------------------------------|----------|-------------|----------------|-------------|----------|-------------|----------------|-----------------------------------|----------|-------------|----------------|--------------------------------|----------|-------------|----------------|
|   | Rijeka Morača<br>Zlatica/Smokovac (1) |          |             |                | Vukovci (2) |          |             |                | "Lijevi krak rijeke<br>Morače"(3) |          |             |                | "Desni krak rijeke Morače" (4) |          |             |                |
|   | Maj 2017                              | Jun 2017 | Avgust 2017 | Septembar 2017 | Maj 2017    | Jun 2017 | Avgust 2017 | Septembar 2017 | Maj 2017                          | Jun 2017 | Avgust 2017 | Septembar 2017 | Maj 2017                       | Jun 2017 | Avgust 2017 | Septembar 2017 |
| Temp. Vode<br>°C                          | 8,9                                   | 10,0     | 11,0        | 12,2           | 9,5         | 13,8     | 20,0        | 20,0           | 10,9                              | 13,0     | 20,0        | 19,4           | 10,5                           | 12,3     | 20,0        | 18,9           |

|   |      |      |      |      |      |      |      |      |      |       |       |      |      |       |       |      |
|---|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-------|-------|------|------|-------|-------|------|
| Temp.<br>vazduha<br>°C                            | 22,5 | 23,2 | 30,0 | 29,0 | 28,9 | 28,2 | 30,0 | 31,0 | 28,9 | 28,4  | 30,05 | 30,1 | 28,9 | 28,6  | 30,4  | 30,2 |
| pH  | 8,09 | 8,02 | 8,24 | 7,96 | 8,26 | 7,99 | 8,04 | 7,75 | 8,39 | 8,06  | 8,08  | 7,75 | 8,06 | 7,98  | 8,05  | 7,99 |
| Nitriti<br>mg/dm <sup>3</sup>                     | 0,05 | 0,05 | 0,05 | 0,05 | 0,06 | 0,15 | 0,07 | 0,01 | 0,09 | 0,005 | 0,01  | 0,01 | 0,09 | 0,005 | 0,005 | 0,02 |
| Nitrati<br>mg/dm <sup>3</sup>                     | 1,0  | 0,5  | 1,0  | 1,0  | 1,6  | 1,5  | 1,5  | 1,5  | 1,0  | 2,0   | 1,5   | 1,5  | 2,0  | 2,0   | 1,5   | 1,5  |
| Utroš.<br>KMnO <sub>4</sub><br>mg/dm <sup>3</sup> | 2,89 | 1,29 | 1,86 | 3,2  | 4,38 | 4,56 | 4,20 | 5,10 | 4,23 | 4,85  | 4,2   | 5,82 | 4,09 | 4,20  | 4,16  | 4,06 |
| O <sub>2</sub><br>mg/dm <sup>3</sup>              | 14,9 | 14,2 | 13,2 | -    | -    | 12,7 | 13,8 | 15,1 | 14,0 | 12,7  | 12,1  | 13,2 | 14,3 | 13,6  | 13,3  | 14,6 |
| BPK <sub>5</sub><br>mg/dm <sup>3</sup>            | 1,0  | 1,13 | 2,36 | 4,2  | 3,39 | 3,34 | 5,43 | 4,77 | 2,45 | 3,66  | 3,23  | 5,99 | 2,43 | 3,72  | 3,02  | 5,54 |
| Zasićenost vode<br>kiseonikom<br>%                | 132  | 123  | 116  | 111  | 120  | 112  | 140  | 143  | 123  | 106   | 122   | 141  | 132  | 107   | 108   | 121  |
| Hloridi<br>mg/dm <sup>3</sup>                     | 4,3  | 4,2  | 4,6  | 4,6  | 4,3  | 3,5  | 3,2  | 4,7  | 4,5  | 3,5   | 3,5   | 3,5  | 4,5  | 3,5   | 3,5   | 3,5  |
| Fluoridi<br>mg/dm <sup>3</sup>                    | 0,03 | 0,05 | 0,05 | 0,04 | 0,03 | 0,05 | 0,05 | 0,05 | 0,05 | 0,03  | 0,05  | 0,05 | 0,05 | 0,5   | 0,05  | 0,06 |
| Električna<br>provodljivost<br>mS/cm              | 208  | 323  | 323  | 239  | 248  | 310  | 310  | 244  | 289  | 284   | 275   | 281  | 300  | 265   | 285   | 295  |

Tabela 5: Rezultati fizičko-hemijskih analiza vode istraživanih lokaliteta za 2017. godinu "ljetnji režim"

| Ispitivani<br>parametri<br>Jedinica mjere |                                   |             |                |                   |                      |             |                |                   |
|---|-----------------------------------|-------------|----------------|-------------------|----------------------|-------------|----------------|-------------------|
|   | "Kraljeva glavica"- "Vranjina (5) |             |                |                   | "Tanki rt"-Jezero(6) |             |                |                   |
|   | Maj<br>2017                       | Jun<br>2017 | Avgust<br>2017 | Septembar<br>2017 | Maj<br>2017          | Jun<br>2017 | Avgust<br>2017 | Septembar<br>2017 |
| Temp. vode<br>°C                          | 10,5                              | 12,2        | 19,0           | 20,0              | 10,5                 | 12,3        | 19,0           | 19,0              |
| Temp.<br>Vazd.<br>°C                      | 29,0                              | 28,3        | 29,9           | 31,0              | 28,9                 | 28,5        | 29,4           | 30,2              |
| pH  | 7,96                              | 7,96        | 8,03           | 8,06              | 7,78                 | 7,98        | 8,03           | 8,02              |

|   |      |      |       |      |      |       |      |      |
|---|------|------|-------|------|------|-------|------|------|
| Nitriti<br>mg/dm <sup>3</sup>                     | 0,05 | 0,05 | 0,005 | 0,01 | 0,05 | 0,005 | 0,05 | 0,02 |
| Nitrati<br>mg/dm <sup>3</sup>                     | 1,0  | 1,5  | 2,0   | 2,0  | 2,0  | 2,0   | 2,0  | 2,0  |
| Utroš.<br>KMnO <sub>4</sub><br>mg/dm <sup>3</sup> | 5,04 | 3,54 | 5,14  | 4,89 | 5,09 | 3,20  | 4,16 | 4,63 |
| O <sub>2</sub><br>mg/dm <sup>3</sup>              | 12,9 | 12,6 | 13,3  | 13,1 | 12,6 | 12,3  | 13,2 | 13,2 |
| BPK <sub>5</sub><br>mg/dm <sup>3</sup>            | 3,15 | 4,73 | 3,73  | 5,03 | 3,13 | 2,72  | 3,73 | 5,04 |
| Zasićenost vode kiseoni-<br>kom %                 | 100  | 119  | 122   | 143  | 102  | 107   | 108  | 121  |
| hloridi<br>mg/dm <sup>3</sup>                     | 4,5  | 3,5  | 3,5   | 3,5  | 4,5  | 3,2   | 3,2  | 3,5  |
| fluoridi<br>mg/dm <sup>3</sup>                    | 0,05 | 0,5  | 0,05  | 0,06 | 0,05 | 0,5   | 0,05 | 0,06 |
| Elekrolitička<br>provodljivost<br>mS/cm           | 301  | 264  | 232   | 298  | 320  | 310   | 314  | 298  |

Temperatura vode, lokaliteta "Lijevi krak rijeke Morače", za mjesec maj bila je 10,9°C, jun 13°C, a za avgust 2017. godine je iznosila 20,0°C. Temperatura vazduha izmjerena u maju 2017. godine bila je 28,9°C, u junu 28,4°C, dok je u avgustu iste godine bila 30,05°C (tab. 4).

Koncentracija fluorida, hlorida, nitrita i nitrata u vodi istraživnog lokaliteta, tokom 2017. godine, nije bila veća od MDK, pa se ista može svrstati u A1 klasu (Uredba o klasifikaciji i kategorizaciji voda, "Sl list RCG 15/97"). U vodi istraživnog lokaliteta izmjerene pH vrijednosti, su se kretale od 7,75 do 8,39. Utvrđene vrijednosti za utrošeni KMnO<sub>4</sub>, na lokalitetu „Lijevi krak rijeke Morače“, kretale su se od 4,2 mg/dm<sup>3</sup> do 5,82 mg/dm<sup>3</sup>.

Na lokalitetu "Kraljeva glavica" Vranjina tokom ljetnjeg izučavanja zabilježeno da je maksimalna temperatura vazduha za 2017. godinu bila 31,0°C, dok je minimalna temperatura iznosila 28,3°C (Tabela 5). Temperatura vode kretala se od 10,5 do 20,0°C. Elekrolitička provodljivost vode datog lokaliteta bila je od 232 μS/cm do 301 μS/cm. U toku ovog istraživanja izmjerene vrijednosti nitrita kretale su se u opsegu (0,005 mg/dm<sup>3</sup> -0,01 mg/dm<sup>3</sup>), vrijednosti nitrata kretale su se (1,0 mg/dm<sup>3</sup> -2,0 mg/dm<sup>3</sup>), dok su se vrijednosti fluorida i hlorida kretale: za fluorida (0,05 mg/dm<sup>3</sup> -0,5 mg/dm<sup>3</sup>) i hloride (3,5 mg/dm<sup>3</sup> -4,5 mg/dm<sup>3</sup>). Ovim rezultatima voda lokaliteta "Kraljeva glavica" - Vranjina, nalazile su se u dozvoljenim granicama, pa se ista može svrstati u A1 klasu (Uredba o klasifikaciji i kategorizaciji voda "Sl list RCG 15/97").

U toku „ljetnjeg režima“ vode istraživanih lokacija bile su saturisane kiseonikom i uglavnom su se vrijednosti kretale preko 100% zasićenosti sa kiseonikom.

## **5.2. MIKROBIOLOŠKI KVALITET VODE ISTRAŽIVANIH LOKALITETA (U ODNOSU NA EKOLOŠKE PARAMETRE)**

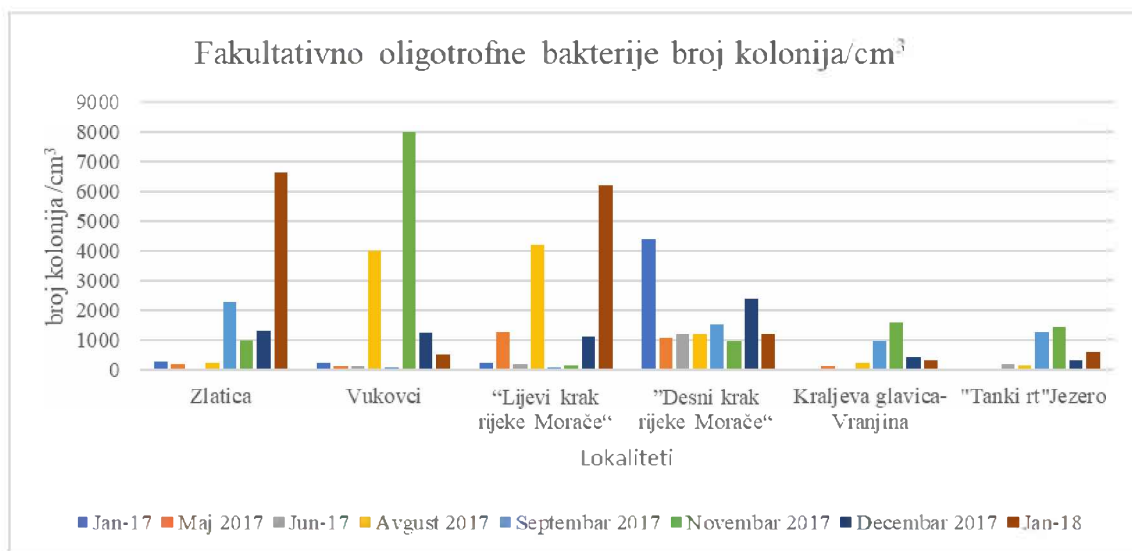
Mikrobiološki kvalitet vode istraživanih lokaliteta, predstavljen je najprije iz ugla ekoloških parametara, na osnovu kvantitativnih vrijednosti fakultativno oligotrofnih bakterija.

Fakultativno oligotrofne bile su zastupljene u svim analiziranim uzorcima vode i njihov broj je varirao od 12 do 8 000. Ova grupa bakterija bila je brojnija od heterotrofnih bakterija čiji je broj varirao od 11 do 6,650 kolonije u  $\text{cm}^3$  vode (tab. 6). Iz iste tabele vidimo da srednja vrijednost amiloliznih bakterija, u vodi lokaliteta Smokovac/Zlatica bila je 597, a proteoliznih 562,75. Vrijednost za lipolitske bakterije na lokalitetu Smokovac/Zlatica u toku istraživanja spovedenih za karakteristične periode (zimsko i ljetnje uzorkovanje) kretala u intervalu od 12 do 1570 bakterija u  $1\text{cm}^3$  uzorka vode. Minimalna vrijednost MPN u zimskom period bila je 400 bakterija u  $\text{cm}^3$ , a za ljetnji 96. Maksimalna vrijednost za “ljetnje” uzorkovanje bila je 96,000 u odnosu na “zimsko” 240,000. Srednja vrijednost koliformnih bakterija u ljetnjem period veća je pet puta u odnosu na zimski period.

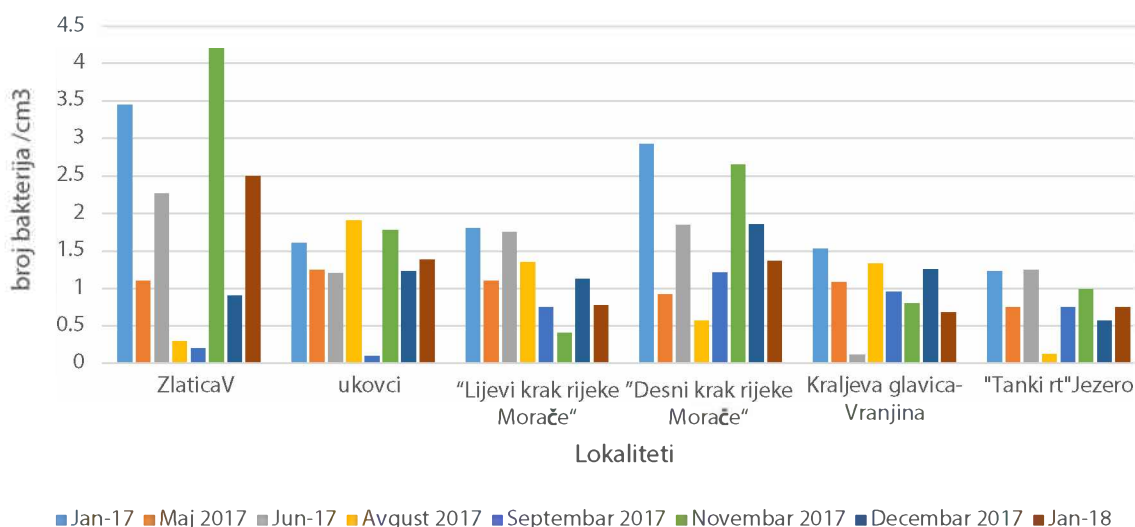
Ustanovljena je distribucija i sezonska dinamika fakultativno oligotrofnih bakterija u svim uzorcima vode istraživanih lokaliteta a prikazana je grafikom (Slika 7). Ova grupa bakterija je uglavnom bila brojnija od heterotrofnih bakterija na svim lokalitetima, što možemo vidjeti na osnovu grafika (Slika 9), što ukazuje na dominaciju autohtonih populacija mikroorganizama u vodi.

Upravo odnos broja fakultativnih oligotrofa i heterotrofa (indeks FO/H) predstavlja jedan od parametara za procjenu ekološkog stanja voda (Slika 8) jer ukazuje na njene sposobnosti samoprečišćavanja.

Slika 7: Fakultativno-oligotrofne bakterije - broj bakterija/cm<sup>3</sup> po mjesecima i po lokacijama



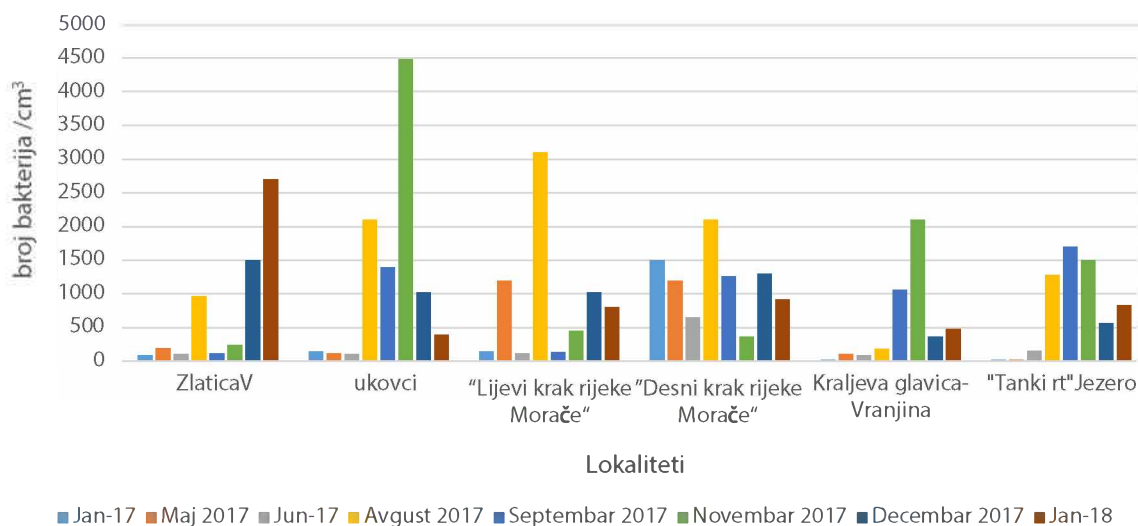
Slika 8: Odnos Fakultativno-oligotrofnih bakterija/heterotrofnih bakterija po mjesecima i po lokacijama



Na osnovu prikazanih rezultata možemo da kažemo da su se vrijednosti za sposobnost autopurifikacije na lokalitetima kretala od slabog do zadovoljavajućeg (Slika 8), te da su najbolji rezultati autopurifikacije zabilježeni su na lokalitetu Zlatica/Smokovac. Maksimalne vrijednosti zabilježene su u toku zimskog perioda i kretale su se od 3,5 za januar 2017. godine, pa do 4,2 u toku novembra 2017godine. Slaba autopurifikacija za lokalitet Zlatica/Smokovac zabilježena je u toku avgusta, septembra i decembra 2017.godine. Lokalitet Vukovci je samo u toku septembra 2017. godine zabilježio slabu sposobnost samoprečišćavanja. Na osnovu Slike 8. vidimo da je za ostale mjesece pokazao zadovoljavajuću autopurifikaciju. Lijevi i Desni krak rijeke Morače imali šest puta zadovoljavajuću, a dva puta (septembar i novembar 2017. godine ) za Lijevi krak rijeke Morače, odnosno, (maj, avgust) za Desni krak rijeke Morače slabu autopurifikaciju. Na osnovu Slike 7 vidimo da se za lokalitete Kraljeva

glavica-Vranjina i Ttanks rt“-jezero vrijednost samoprečišćavanja kretala oko vrijednosti 1.

*Slika 9: Heterotrofne bakterije - broj bakterija/cm<sup>3</sup> po mjesecima i po lokacijama*



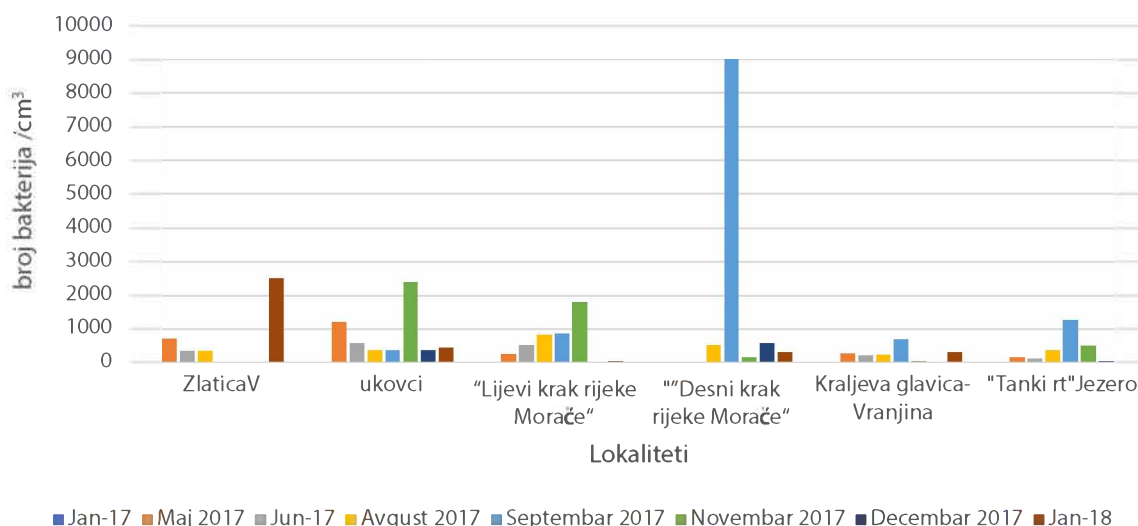
Brojnost heterotrofni bakterija (Slika 9) najupečatljivija je za lokaciju Vukovci u toku novembra 2017. godine sa 4,500 bakterija. U toku avgusta (Slika 9) iste godine zabilježen je "pik" od preko 3000 za lokalitet "Lijevi krak rijeke Morače". Vrijednosti 4,500 i 3000 su ujedno maksimalno izračunate vrijednosti za ispitivane lokalitete, a minimalne vrijednosti heterotrofni bakterija iznosile su 15 bakterija za "zimsko", odnosno, 11 za "ljetnje" ispitivanje.

Izuzetno značajan parametar mikrobiološko-ekološkog pregleda voda je svakako ispitivanje fizioloških grupa bakterija u vodi istraživanih lokaliteta, jer ukazuju na opterećenost vode specifičnim materijama, a njihova kvantitativnost na moguću razgradnju tih materija, odnosno ukazuju nam na prirodu mikrobioloških procesa.

Lokalitet Zlatica/Smokovac (Slika 10) u januaru 2017. godine, pa u novembru iste godine bilježi svom minimum vrijednosti za amilolitske bakterije od 2 bakterija, a u novembru 8 bakterija u cm<sup>3</sup>. Na istom lokalitetu u januaru 2018. godine amilolitske bakterije, su brojčano upečatljivo dominirale nad ostalom grupom fizioloških mikroorganizama sa 2500 bakterija. Pik amilolitske bakterije su zabilježile na lokalitetu Desni krak rijeke Morače u toku septembarskog uzorkovanja sa 9000 bakterija.



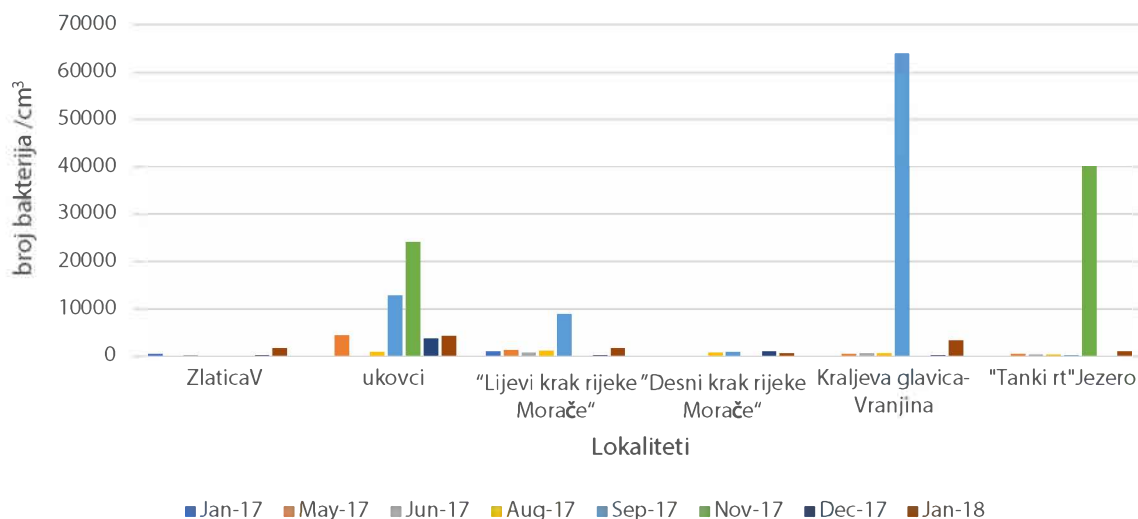
Slika 10: Amilolitske bakterije - broj bakterija/cm<sup>3</sup> po mjesecima i po lokacijama



Na osnovu Slike 10 na svim lokalitetima zabilježena je distribucija amilolitskih bakterije kroz istraživanje. Amilolitske bakterije (Slike 10) zabilježile su apstinenciju na lokaciji "Lijevi krak rijeke Morače" tokom decembra 2017. godine. Upečatljiva je dominacija amilolitskih bakterija na lokaciji "Desni krak rijeke Morače" u toku septembra 2017. godine sa 9000 bakterija, opisana je kao "pik" na grafikonu: Amilolitske bakterije - broj bakterija/cm<sup>3</sup> po mjesecima i po lokacijama. Smatra se da je vrijednost trenutno izazvana antropogenim zagađenjem.

Sa (Slike 11) za proteolitske bakterije 24,000 bakterija su izbrojane u novembru 2017, i to je njihova najveća brojnost, a 10 kolonije je najniža izbrojana vrijednost (Slike 11). Ovako odstupanje se može protumačiti samo trenutnim zagađenjem nastalim antropogenim uticajem koje je zabilježeno uzorkovajem, odnosno istraživanjem.

Slika 11: Proteolitske bakterije - broj bakterija/cm<sup>3</sup> po mjesecima i po lokacijama

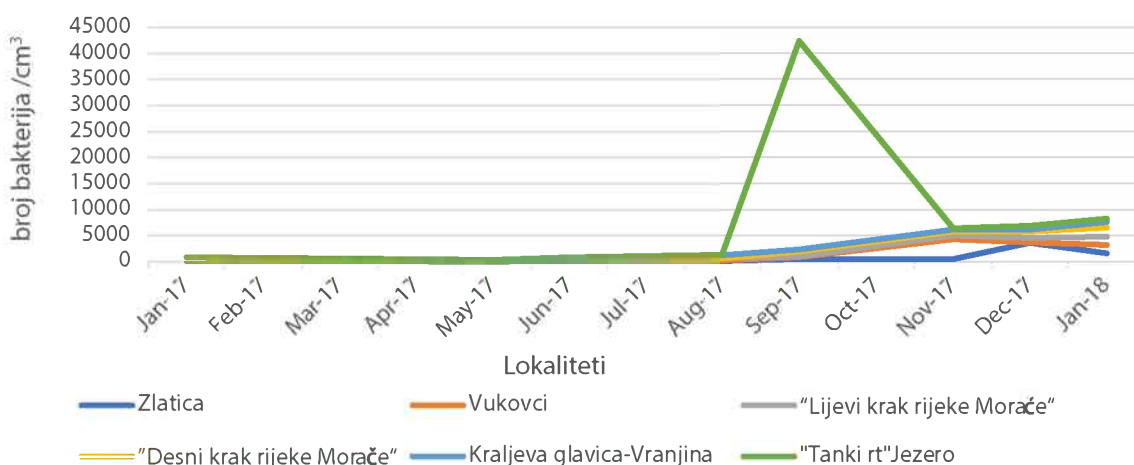


Na osnovu Slike 11 očitavaju se tri dominantna “pika”: “Kraljeva glavica” Vranjina preko 60000 proteolitskih bakterija, u septembru 2017. godine, drugi “pik” je na lokalitetu “Tanki rt” u decembru 2018. godine 40000 proteolitskih bakterija, i treći pik je na lokalitetu Vukovci u toku novembraskog istraživanja sa 24000 bakterija/cm<sup>3</sup>. Kako je zagađenje tačkasto i trenutno, jasno je da se radi o trenutnom antropološkom zagađenju, sporadično na lokalitetima u različitim vremenskim intervalima

Koristeći se Slikom 12, konstatujemo da su lipolitske bakterije bile najbrojnije u toku septembarskog istraživanja sa 40000, a minimalno brojne tokom majskog istraživanja sa 20 bakterija. Slika 12 nam prikazuje da su lipolitske bakterije konstantno identifikovane na svim lokacijama. Ujedinjenost abudance na istaživanim lokacijama, samo je u toku septembra 2017. godine promijenilo odstupanje na lokaciji “Tanki rt-ispod mosta Jezero, kada je brojnost lipolitskih bakterija dostigla vrijednost od 40000 bakterija/ cm<sup>3</sup>.

Takođe, iz Slike 102 vidimo da su zabilježena dva manja “pika” u novembru 2017. godine sa vrijednostima od 5000 bakterija/cm<sup>3</sup> na lokalitetu Vukovci i isto toliko na lokaciji Zlatica/ Smokovac u decembru 2017. godine.

*Slika 12: Lipolitske bakterije - broj bakterija/cm<sup>3</sup> po mjesecima i po lokacijama*



## 5.2.1 STATISTIČKA OBRADA PODATAKA MIKROBIOLOŠKOG KVALITETA VODE ISTRAŽIVANIH LOKACIJA

Za ocjenu razlike u fiziološkom i sanitarnom aspektu sliva rijeke Morače između zimskog i ljetnjeg perioda za ukupan nivo kao i po lokacijama, kao i za ocjenu razlike u sanitarnom i fiziološkom aspektu između vode na lokaciji Zlatica, kao glavne tačke, i vode na drugim lokacijama (Vukovci, lijevi i desni krak Morače, Kraljeva glavica-Vranjina, Tanki rt-ispod mosta), korišten je Mann Whitney U test.

Statističkom analizom, korišćenjem Mann Whitney U testa (Tabela 6) prikazane su maks-

malne i minimalne vrijednosti tokom istraživanja, srednja vrijednost i standardna devijacija za sve grupe mikroorganizama na istraživanim lokacijama u toku 2017-2018. godine. Ukazano je na razlikama dobijenih rezultata za u toku "zimskog" i "ljetnjeg" uzorkovanja. Ocijenjene su razlike mikrobiološkog kvaliteta vode na istraživanim lokacijama kako u pogledu rezultata dobijenih opservacijom fizioloških grupa mikroorganizama, tako i u sanitarnom aspektu mikrobiološkog kvaliteta vode istraživanih lokacija, gdje je kao "nulta tačka" bila lokacija Zlatica/Smokovac, hipotetički zamišljena kao tačka bez ili sa smanjenim antropogenim uticajem, jer se geografski nalazi izvan uticaja grada Podgorice.

Broj bakterija fakultativno-oligotrofnih bakterija kretao se zimi od 18 do 8000 bakterija po m<sup>3</sup>, a ljeti od 12 do 4200. 50% izmjerenih vrijednosti zimi bilo je više od 507 bakterija po m<sup>3</sup>, a ljeti više od 609 bakterija/m<sup>3</sup> što se statistički značajno ne razlikuje ( $p = .529$ ). Najviše bakterija po cm<sup>3</sup> izmjereno je u novembru za lokaciju Vukovci (8000), a najmanje u maju, svega 1. (Slika 13).

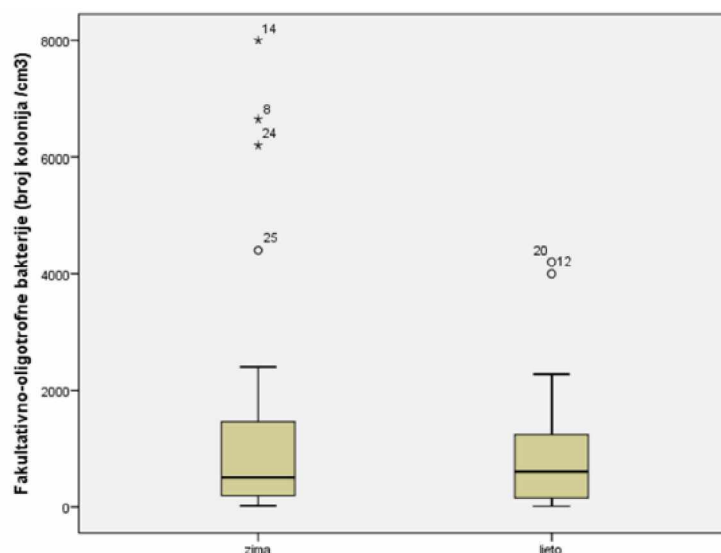
Na osnovu Tabele 6, vidimo da se broj bakterija heterotrofnih bakterija kretao se zimi od 15 do 4480 (lokacija Vukovci u novembru) bakterija po m<sup>3</sup>, a ljeti od 11 (lokacija Zlatica u junu) do 3100. 50% izmjerenih vrijednosti zimi bilo je više od 678.50 bakterija po cm<sup>3</sup>, a ljeti više od 808.50 bakterija/m<sup>3</sup> što se statistički značajno ne razlikuje ( $p = .665$ ) 2 bakterija/cm<sup>3</sup>, na lokaciji Tanki rt-ispod mosta (Slika 14).

Broj bakterija amilolitskih bakterija kretao se zimi od 0 (lokacije Tanki rt ispod mosta, Kraljeva glavica i lijevi krak Morače u januaru i decembru) do 2500 bakterija po cm<sup>3</sup>, a ljeti od 7 do 9000 (izmjereno na lokaciji desni krak rijeke Morače). 50% izmjerenih vrijednosti zimi bilo je više od 37.5 bakterija po cm<sup>3</sup>, a ljeti više od 370 bakterijac/m<sup>3</sup>. Značajno veći broj bakterija /cm<sup>3</sup> amilolitskih bakterija na ovoj lokaciji nađen je ljeti je ( $p = 0.014$ ), te postoji statistički značajna korelacija.

Tabela 6: Rezultati statistički utvrđenih razlika u fiziološkom i sanitarnom aspektu sliva Morače za 2017/18. god. u zimskom i ljetnjem periodu

|     | Zima      |                |           |         |         | Ljeto     |                |          |         |         | p      |
|-----|-----------|----------------|-----------|---------|---------|-----------|----------------|----------|---------|---------|--------|
|     | Mean      | Std. Deviation | Median    | Minimum | Maximum | Mean      | Std. Deviation | Median   | Minimum | Maximum |        |
| FO  | 1569.63   | 2309.594       | 507.00    | 18      | 8000    | 954.58    | 1143.309       | 609.00   | 12      | 4200    | 0.52 9 |
| H   | 951.00    | 1012.857       | 678.50    | 15      | 4480    | 844.88    | 831.546        | 808.50   | 11      | 3100    | 0.66 5 |
| A   | 400.42    | 739.098        | 37.50     | 0       | 2500    | 807.96    | 1778.367       | 370.00   | 7       | 9000    | 0.01 4 |
| P   | 6645.71   | 15456.24 2     | 400.00    | 24      | 64800   | 4200.92   | 13093.27 4     | 558.00   | 20      | 64000   | 0.99 2 |
| L   | 930.46    | 1011.400       | 675.00    | 13      | 3800    | 1869.96   | 8125.081       | 126.00   | 7       | 40000   | 0.00 1 |
| MPN | 37047.5 0 | 78863.04 8     | 3800.00   | 440     | 240000  | 9945.25   | 20479.50 8     | 3800.0 0 | 96      | 96000   | 0.25 6 |
| KB  | 53861.8 8 | 92907.04 0     | 14000.0 0 | 150     | 240000  | 25478.5 0 | 62180.38 9     | 3800.0 0 | 20      | 240000  | 0.19 6 |
| FOH | 1.5708    | .95548         | 1.3100    | .40     | 4.20    | 1.0063    | .59142         | 1.0900   | .10     | 2.27    | 0.03 8 |

FO- Fakultativno-oligotrofne bakterije (broj kolonija /cm<sup>3</sup>); H-Heterotrofne bakterije (broj kolonija /cm<sup>3</sup>); A- Amilolitske bakterije (broj kolonija /cm<sup>3</sup>) P- Proteolitske bakterije (broj kolonija /cm<sup>3</sup>); L- Lipolitske bakterije (broj kolonija /cm<sup>3</sup>); MPN- Najvjerojatniji broj koliformnih bakterija (broj kolonija /cm<sup>3</sup>); KB- Koliformne bakterije fekalnog porijekla (broj kolonija /cm<sup>3</sup>) FO/H-Odnos fakultativno-oligotrofne bakterije/heterotrofne bakterije.

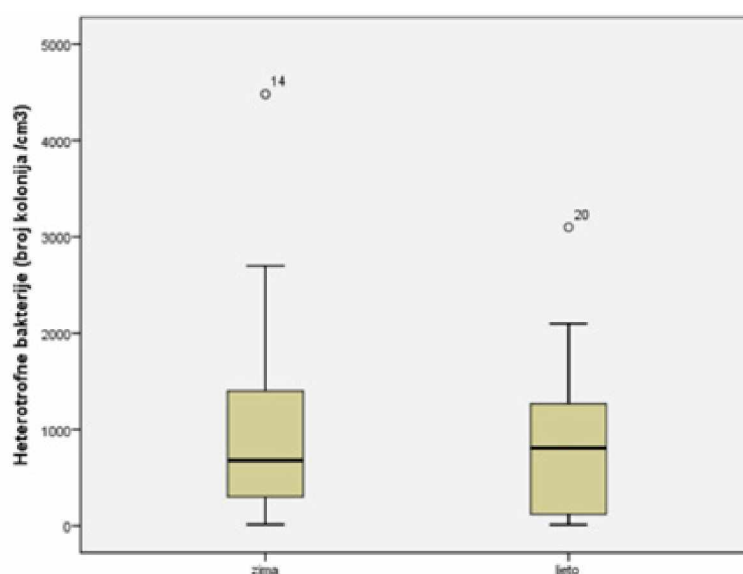


Slika 13: Fakultativno-oligotrofne bakterije mjerene na 6 lokacija: Zlatica, Vukovci, Lijevi krak rijeke Morače, Desni krak rijeke Morače, Kraljeva glavica-Vranjina, Tanki rt - ispod mosta

Ljetnji mjeseci: maj, jun, avgust, septembar 2017; zimski mjeseci: januar, novembar, decembar 2017. g i januar 2018.g.

Broj fakultativno-oligotrofnih bakterija kretao se zimi od 18 do 8000 bakterija po  $\text{cm}^3$ , a ljeti od 12 do 4200. 50% izmjerenih vrijednosti zimi bilo je više od 507 bakterija po  $\text{cm}^3$ , a ljeti više od 609 bakterija/ $\text{cm}^3$  što se statistički značajno ne razlikuje ( $p = .529$ )

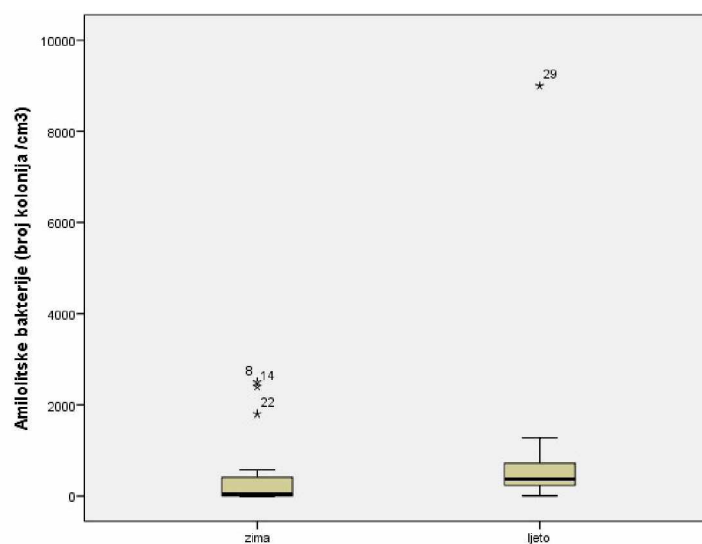
Najviše bakterija po  $\text{cm}^3$  izmjereno je u novembru za lokaciju Vukovci (8000), a najmanje u maju, svega 12 bakterija/ $\text{cm}^3$ , na lokaciji Tanki rt-ispod mosta.



Slika 14: Heterotrofne bakterije mjerene na 6 lokacija: Zlatica, Vukovci, Lijevi krak rijeke Morače, Desni krak rijeke Morače, Kraljeva glavica-Vranjina, Tanki rt - ispod mosta.

Ljetnji mjeseci: maj, jun, avgust, septembar 2017; zimski mjeseci: januar, novembar, decembar 2017. g i januar 2018.

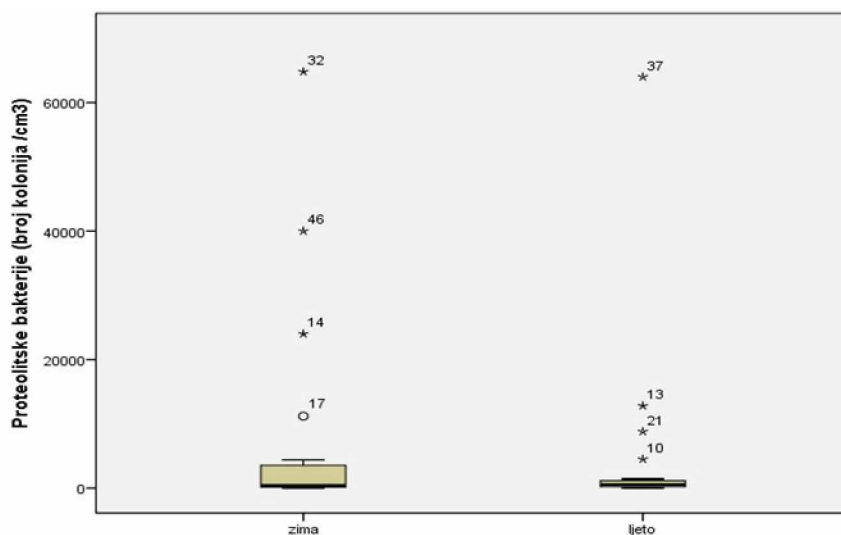
Broj heterotrofnih bakterija kretao se zimi od 15 do 4480 (lokacija Vukovci u novembru) bakterija po  $\text{cm}^3$ , a ljeti od 11 (lokacija Zlatica u junu) do 3100. 50% izmjerenih vrijednosti zimi bilo je više od 678.50 bakterija po  $\text{cm}^3$ , a ljeti više od 808.50 bakterija/ $\text{cm}^3$  što se statistički značajno ne razlikuje ( $p = .665$ ).



Slika 15: Amilolitske bakterije mjerene na 6 lokacija: Zlatica, Vukovci, Lijevi krak rijeke Morače, Desni krak rijeke Morače, Kraljeva glavica-Vranjina, Tanki rt - ispod mosta.

Ljetnji mjeseci: maj, jun, avgust, septembar 2017; zimski mjeseci: januar, novembar, decembar 2017. g i januar 2018.

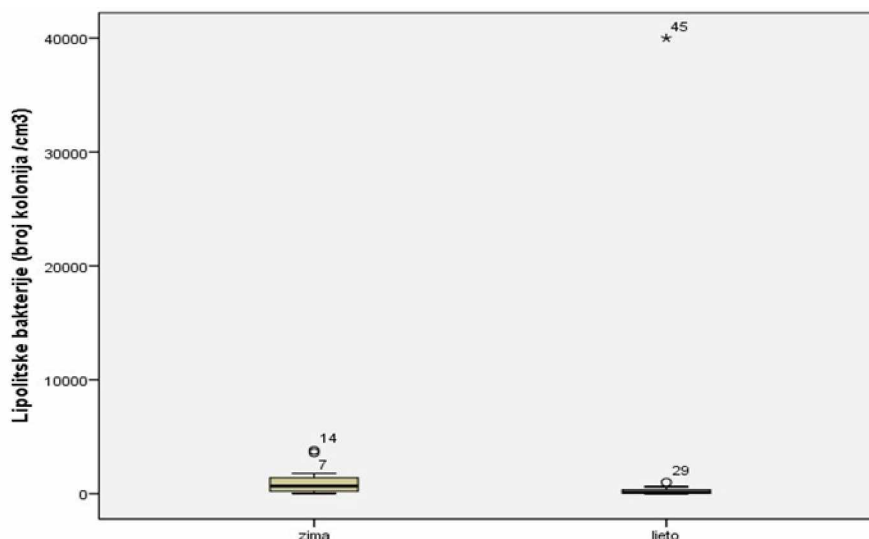
Brojnost amilolitskih bakterija za lokalitet “Kraljeva glavica”-Vranjina se tokom uzorkovanja mijenjala pa je u novembru 2017. godina broj amilolitskih bakterija bio je 0, dok je recimo u toku maja, juna, avgusta i septembra 2017. godine i u toku januarskog uzorkovanja 2018. godina brojnost prelazila 200 bakterija/ $\text{cm}^3$ . 50% izmjerenih vrijednosti zimi bilo je više od 37.5 bakterija po  $\text{cm}^3$ , a ljeti više od 370 bakterija/ $\text{cm}^3$ . Značajno veći broj bakterija / $\text{cm}^3$  na ovoj lokaciji nađen je ljeti je ( $p = 0.014$ ). Variranje u brojnosti ovih fizioloških grupa bakterija nije sezonskog karaktera, što ukazuje na antropogeni uticaj na istraživane ekosisteme.



Slika 16: Proteolitske bakterije mjerene na 6 lokacija: Zlatica, Vukovci, Lijevi krak rijeke Morače, Desni krak rijeke Morače, Kraljeva glavica-Vranjina, Tanki rt - ispod mosta

Ljetnji mjeseci: maj, jun, avgust, septembar 2017; zimski mjeseci: januar, novembar, decembar 2017. g i januar 2018.

Proteolitske i lipolitske grupe bakterija konstantno su se kretale od 10-1000 bakterija /cm<sup>3</sup>. Sa grafika (Slika 16) uočavamo da je 50% izmjerenih vrijednosti "zimskog" uzorkovanje bilo brojčano više od 400 bakterija po cm<sup>3</sup>, a za vrijeme „ljetnjeg“ više od 558 bakterija/cm<sup>3</sup> što se tumači kao statistički neznačajno, tj. prikazano kao zaključak ( $p = 0.992$ ) za sve ispitivane lokacije u toku oba uzorkovanja. Proteolitska grupa mikroorganizama u toku ovog istraživanja bila je najabundantnija, te da je maksimalna vrijednost zabilježena u toku septembra 64,000 a najmanja sa 120 u toku novembra 2017. godine.



Slika 17: Lipolitske bakterije mjerene na 6 lokacija: Zlatica, Vukovci, Lijevi krak rijeke Morače, Desni krak rijeke Morače, Kraljeva glavica-Vranjina, Tanki rt - ispod mosta



Ljetnji mjeseci: maj, jun, avgust, septembar 2017; zimski mjeseci: januar, novembar, decembar 2017. g i januar 2018.,  $P = 0.001$

Broj bakterija lipolitskih bakterija (Slika 17u toku "zimskog" uzorkovanja kretao se od 13 do 3800 bakterija po  $\text{cm}^3$ , a u toku "ljetnjeg" od 7 do 40000. 50% izmjerenih vrijednosti dobijenih statističkom obradom podataka, pokazuje da je za „zimsko“ uzorkovanje bilo je više od 675 bakterija po  $\text{cm}^3$ , a za „ljetnje“ manje od 126 bakterija/ $\text{cm}^3$ , što je statistički manje značajno ( $p = 0.001$ ).

### 5.3 MIKROBIOLOŠKI KVALITET VODE ISTRAŽIVANIH LOKALITETA I STATISTIČKA OBRADA PODATAKA MIKROBIOLOŠKOG KVALITETA VODE ISTRAŽIVANIH LOKACIJA U ODNOSU NASANITARNI ASPEKT

Sanitarni pokazatelji koji se primjenjuju u ocjeni prisustva patogenih mikroorganizama u vodi, su mikroorganizmi za koje su stalna životna sredina crijeva čovjeka i životinja. Prisutnost ovih mikroorganizama, njihova distribucija i populaciona dinamika indikatori su zagađenja i omogućavaju preciznu ocjenu stepena bakterijskog zagađenja vode.

Tokom ovih istraživanja registrovano je prisustvo koliformnih bakterija fekalnog porijekla. Za izračunavanje ukupnog broja bakterija bakterija (MPN), sadržanih u 100 ml vode, korištene su specijalne tablica po Swaroopu. Urađena je identifikacija *Streptococcus faecalis*-a, *Enterococcus sp.*, *Proteus* vrsta, *Clostridium perfringens* (Sulfidoredukujuće klostridije), *Pseudomonas aeruginosa*, kao i ostalih vrsta *Enterobacteria*.

*Streptococcus faecalis* rijetko se nalazi sam u vodi. Obično je "udružen" sa drugom vrstom bakterija kao npr. sa *E. coli*, ili *C. perfringens*. Njegovo prisustvo sa ma kojom od navedenih vrsta bakterija pokazatelj je skorijeg ili starijeg fekalnog zagađenja. Kao isključivi indikator fekalnog zagađenja enterokok je "manje osjetljiv" nego *Escherichia coli*, tj. nalazi se u manjem broju od nje, otprilike za sto puta.

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

*Clostridium perfringens*-sulfidoredukujuće klostridije čest je parazit u crijevima čovjeka i životinja. Njegove spore su otpornije od koliformnih bakterija i enterokoka u spoljašnjoj sredini, pa se njihovo prisustvo u vodama, posebno udruženo sa nekim drugim enterobakterijama, smatra kao potvrda fekalnog zagađenja skorijeg datuma.

Pisustvo sulfidoredukujućih klostridija u vodi ima sličan značaj kao i prisustvo enterokoka.

Prisustvo *Pseudomonas aeruginosa* u vodi dokaz je fekalnog zagađenja. Nalaz *Pseudomonas aeruginosa* sa nekom drugom bakterijom indikatorom fekalnog zagađenja, ukazuje na skorašnje zagađenje fekalijama i takva voda je nesumljivo opasna.

Ako se u ispitivanom uzorku vode nađe *Escherichia coli* "usamljena", tj. bez drugih bakterija, indikatora fekalnog zagađenja, mora se smatrati kao znak vremenski neodređenog, ali sigurnog fekalnog zagađenja, mada se može takođe protumačiti i kao pokazatelj "starih mikrobnih gnijezda", pa takvu vodu treba smatrati epidemiološki sumnjom. Ako se *Escherichia coli* u vodi nađe zajedno sa bilo kojom drugom bakterijom, ili sa bilo kojom drugom enterobakterijom, takav nalaz ukazuje na skorašnje zagađenje fekalijama i takva je voda epidemiološki opasna.

Istraživanja voda pomenutih lokaliteta Zlatica/Smokovac (1), Vukovci (2), "Lijevi krak rijeke Morače" (3), "Desni krak rijeke Morače" (4), "Kraljeva glavica"-Vranjina (5), "Tanki rt"-Jezero (6), sa sanitarnog aspekta prikazana su tabelarno (Tabele: 7-12).

*Tabela 7: Mikrobiološka analiza kvaliteta vode lokaliteta Zlatica u toku 2017/2018.godine*

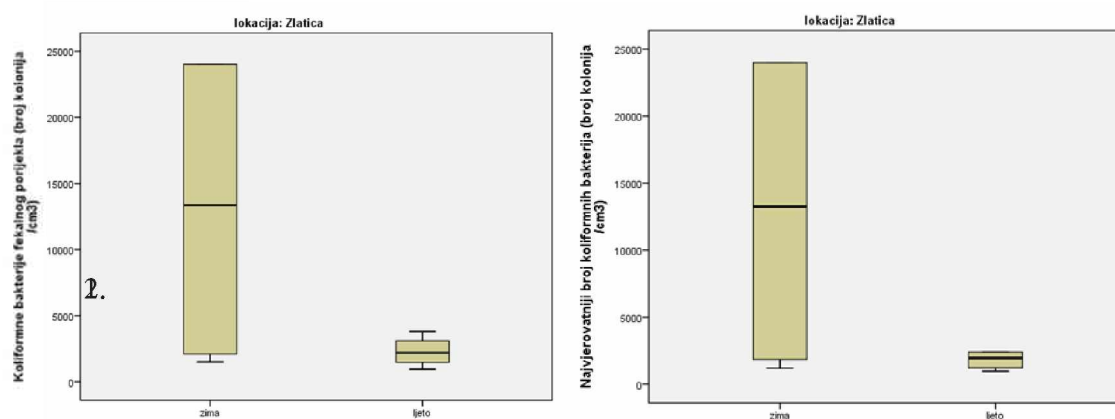
|  | Rijeka Morača<br>Zlatica-Smokovac (1)   |  |  |  |   |   |   |  |
|--|---|--|--|--|---|---|---|--|
| Ispitivani parametri                       | Januar<br>2017  | Maj<br>2017  | Jun<br>2017  | Avgust<br>2017   | Septembar<br>2017   | Novembar<br>2017  | Decembar<br>2017  | Januar<br>2018   |
| Koliformne bakterije fekalnog porijekla    | 24000   | 3800   | 2400   | 2000   | 960   | 24000   | 1500  | 2700   |
| Najvjerovatniji broj koliformnih bakterija | 24000   | 2400   | 2400   | 1500   | 960   | 24000   | 1200  | 2500   |
| <i>Streptococcus faecalis</i>              | -   | -  | -  | 2  | -   | 2   | -   | -  |
| <i>Proteus</i> vrste                       | -   | -  | -  | -  | -   | -   | -   | -  |
| Sulfidoredukujuće klostridije              | -   | -  | -  | -  | -   | -   | -   | -  |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i>              | -   | -  | -  | -  | +   | -   | -   | -  |
| IDENTIFIKACIJA BAKTERIJA                   | <i>Enterobacter cloacae</i> ,<br><i>Klebsiella oxytoca</i> ,<br><i>Citrobacter freundii</i> ,<br><i>Citrobacter diversus</i> ,<br><i>Serratia sp.</i> | <i>Citrobacter sp.</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i> ,<br><i>Citrobacter aerogenus</i> , | <i>Escherichia coli</i> ,<br><i>Citrobacter sp.</i> ,<br><i>Serratia sp.</i> | <i>Klebsiella oxytoca</i> ,<br><i>Streptococcus faecalis</i> , | <i>Citrobacter sp.</i> ,<br><i>Pseudomonas aeruginosa</i> | <i>Streptococcus faecalis</i> ,<br><i>Escherichia coli</i> ,<br><i>Klebsiella oxytoca</i> | <i>Klebsiella pneumoniae</i> ,<br><i>Enterobacter aerogenes</i> ,<br><i>Citrobacter sp.</i> | <i>Citrobacter freundii</i> ,<br><i>Escherichia coli</i> |

Iz Tabele 7, vidimo da su koliformne bakterije fekalnog porijekla bile prisutne u vodi lokaliteta Zlatica/Smokovac tokom cijelogodišnjeg istraživanja. Njihova brojnost se kretala od 960 bakterija/ cm<sup>3</sup> vode u avgustu pa do 24 000 u januaru i novembru 2017. Zabilježeno je

prisustvo vrste *Streptococcus faecalis* tokom juna i novembra. Na osnovu Tabele 7, uočavamo da je zabilježeno prisustvo bakterije *Pseudomonas aeruginosa*, u septembru 2017. godine. Identifikovane su sledeće bakterije fekalnog porijekla: *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter diversus*, *Serratia sp.*, *Citrobacter aerogenus*, *Streptococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii* identifikovani su na lokalitetu. Sulfidoredukujuće klostridije i *Proteus* vrste nisu identifikovane.

Sa Slike 18, uočavamo da se najvjerovatniji broj koliformnih bakterija /cm<sup>3</sup> na lokaciji Zlatica se kretao od 1200 do 24000 u zimskom periodu, a od 960 do 2400 u ljetnjem periodu.

50% zimskih vrijednosti bilo je iznad 13250 bakterija/cm<sup>3</sup>, a ljetnjih iznad 1950 bakterija/cm<sup>3</sup>. Nema statistički značajne razlike ( $p = 0.144$ ). Slika 18, nam je omogućila da vidimo da se broj koliformnih bakterija /m<sup>3</sup> na lokaciji Zlatica se kretao od 1500 do 24000 u zimskom periodu, a od 960 do 3800 u ljetnjem periodu. 50% zimskih vrijednosti bilo je iznad 13350 bakterija/cm<sup>3</sup>, a ljetnjih iznad 2200 bakterija/cm<sup>3</sup>, pa samim tim nema značajne razlike u koliformnim bakterijama na lokaciji zlatica između ljeta i zime ( $p = 0.245$ ).



Slika 18: Najvjerovatniji broj koliformnih bakterija (1) i Koliformne bakterije fekalnog porijekla (2) za lokalitet Zlatica

Na osnovu Tabela 7, imamo predstavu o sanitarnom aspektu mikrobiološkog kvaliteta voda na lokalitetu Vukovci. Koliformne bakterije najveću brojnost su imale tokom januarskog uzorkovanja 24,000 bakterija/cm<sup>3</sup>, a najmanju vrijednost 440 bakterija/cm<sup>3</sup>. Prisustvo *Streptococcus faecalis* zabilježeno je tokom majskog i novembarskog uzorkovanja, a *Proteus vulgaris* u toku januara 2018. godine.

*Pseudomonas aeruginosa* je identifikovan u avgustovskom, septembarskom i decembarskom istraživanju. Sulfidoredukujuće klostridije (1 bakterija/cm<sup>3</sup>) dokazane su u maju 2017. godine. Najčešće identifikovana koliforma bakterija fekalnog porijekla je *Escherichia coli*.

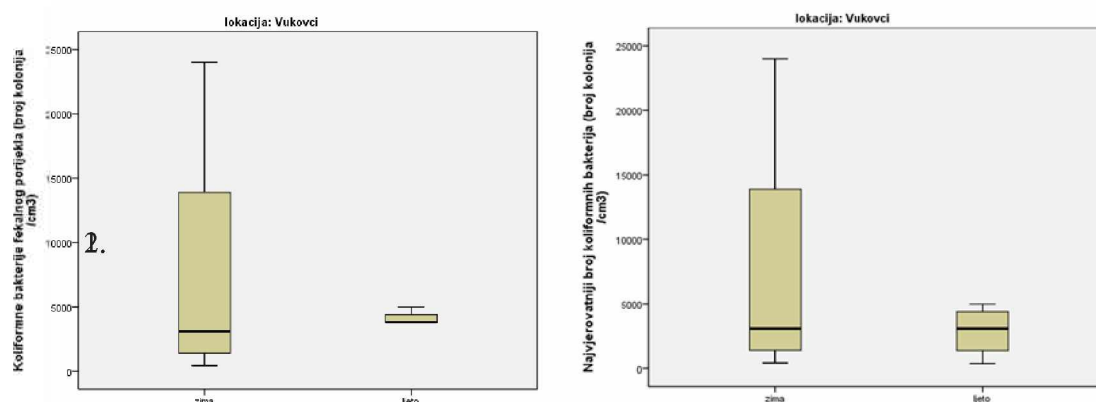
Najvjerovatniji broj koliformnih bakterija /cm<sup>3</sup> na lokaciji Vukovci se kretao od 440 do

24000 bakterija/ cm<sup>3</sup> u zimskom periodu, a od 380 do 5000 bakterije/cm<sup>3</sup> u ljetnjem periodu. 50% zimskih vrijednosti bilo je iznad 3100 bakterija/cm<sup>3</sup>, kao i ljetnjih (p = 0.770).

Tabela 8: Mikrobiološki kvalitet vode lokaliteta Vukovci u toku 2017/2018. godine

|  | Vukovci (2)  |  |   |   |  |   |   |   |
|--|--|--|---|---|--|---|---|---|
| Ispitivani parametri                       | Januar 2017  | Maj 2017   | Jun 2017  | Avgust 2017   | Septembar 2017   | Novembar 2017   | Decembar 2017   | Januar 2018   |
| Koliformne bakterije fekalnog porijekla    | 24000  | 3800   | 3800  | 3800  | 5000   | 2400  | 3800  | 440   |
| Najvjerovatniji broj koliformnih bakterija | 2400   | 380  | 2400  | 3800  | 5000   | 24000   | 3800  | 440   |
| <i>Streptococcus faecalis</i>              | -  | 2  | -   | -   | -  | 38  | -   | -   |
| <i>Proteus</i> vrste                       | -  | -  | -   | -   | -  | -   | -   | +   |
| Sulfidoredukujuće klostridije              | -  | + 1 kolonija   | -   | -   | -  | -   | -   | -   |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i>              | -  | -  | -   | +   | +  | -   | +   | -   |
| IDENTIFIKACIJA BAKTERIJA                   | <i>Escherichia coli</i> , <i>Enterobacter</i> sp., | <i>Escherichia coli</i> , <i>Streptococcus faecalis</i> , <i>Citrobacter</i> sp. | <i>Escherichia coli</i> , <i>Citrobacter</i> sp | <i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> | <i>Streptococcus faecalis</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i> | <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella ascorbata</i> , <i>Citrobacter freundii</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>Proteus vulgaris</i> |

Slika 19: Najvjerovatniji broj koliformnih bakterija (1) i Koliformne bakterije fekalnog porijekla (2) za lokalitet Vukovci



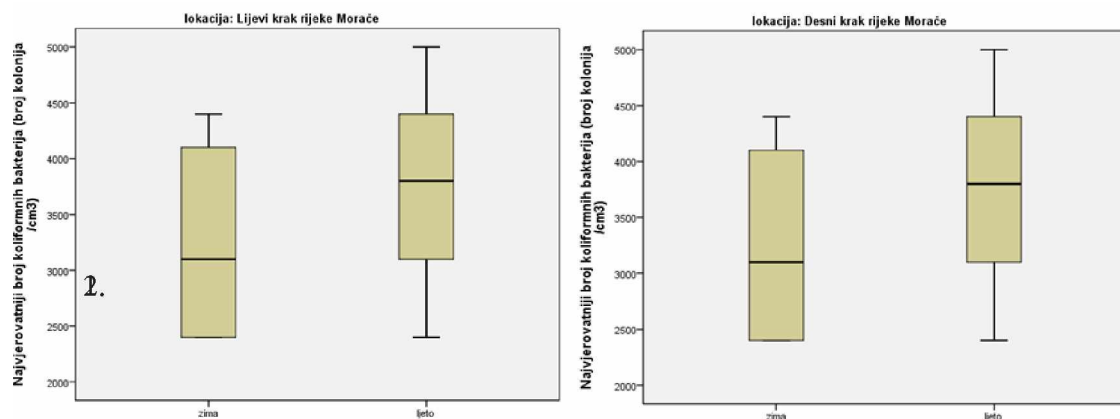
Na osnovu Slike 19, vidimo da se broj koliformnih bakterija fekalnog porijekla /cm<sup>3</sup> na lokaciji Vukovci se kretao od 440 do 24000 bakterija/ cm<sup>3</sup> u zimskom periodu, a od 3800 do 5000 bakterije/cm<sup>3</sup> u ljetnjem periodu. 50% zimskih vrijednosti bilo je iznad 3100 bakterija/cm<sup>3</sup>, a ljetnjih 3800 što ne prestavlja značajnu statističku razliku (p = 0.442).

Najvjerojatniji broj koliformnih bakterija/cm<sup>3</sup> na lokaciji Vukovci se kretao od 440 do 24000 bakterija/ cm<sup>3</sup> u zimskom periodu, a od 380 do 5000 kolonije/cm<sup>3</sup> u ljetnjem periodu. 50% zimskih vrijednosti bilo je iznad 3100 bakterija/cm<sup>3</sup>, kao i ljetnjih (p = 0.770), što se ne može smatrati kao statistički značajna razlika.

*Tabela 9: Mikrobiološka analiza kvaliteta vode lokaliteta "Lijevi krak rijeke Morače" u toku 2017/2018. godine*

|  | "Desni krak rijeke Morače" (4)                     |  |   |                           |  |   |                         |   |
|--|--|--|---|---------------------------|--|---|-------------------------|---|
| Ispitivani parametri                       | Januar 2017  | Maj 2017   | Jun 2017  | Avgust 2017               | Septembar 2017   | Novembar 2017   | Decembar 2017           | Januar 2018   |
| Najvjerojatniji broj koliformnih bakterija | 2400   | 3800   | 2400  | 3800                      | 5000   | 2400  | 3800                    | 4400  |
| <i>Streptococcus faecalis</i>              | -  | -  | 20  | -                         | -  | 23  | -                       | -   |
| <i>Proteus</i> vrste                       | -  | -  | -   | -                         | -  | -   | -                       | -   |
| Sulfidoredukujuće klostridije              | -  | -  | -   | -                         | -  | -   | -                       | -   |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i>              | -  | +  | -   | -                         | +  | -   | -                       | -   |
| IDENTIFIKACIJA BAKTERIJA                   | <i>Escherichia coli</i> , <i>Enterobacter</i> sp., | <i>Escherichia coli</i> , <i>Streptococcus faecalis</i> , <i>Citrobacter</i> sp. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | <i>Escherichia coli</i> , <i>Streptococcus faecalis</i> , <i>Citrobacter</i> sp | <i>Klebsiella oxytoca</i> | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> | <i>Streptococcus faecalis</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i> | <i>Escherichia coli</i> | <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella ascorbata</i> , <i>Citrobacter freundii</i> |

*Slika 19: Najvjerojatniji broj koliformnih bakterija (1) i Koliforme bakterije fekalnog porijekla (2) za lokalitet Vukovci*



Sa Slike 19, vidimo da se najvjerojatniji broj koliformnih bakterija /cm<sup>3</sup> na lokaciji Lijevi krak rijeke Morače se kretao od 2400 do 4400 bakterija po cm<sup>3</sup> u zimskom periodu, odno-

sno, 2400 do 5000 bakterija/cm<sup>3</sup> u ljetnjem periodu. 50% zimskih vrijednosti bilo je iznad 3100 bakterija/cm<sup>3</sup>, a ljetnjih iznad 3800 bakterija/cm<sup>3</sup>. Najvjerovatniji broj koliformnih bakterija /cm<sup>3</sup> na lokaciji Ljevi krak rijeke Morače se značajno ne razlikuje između ljetnjeg i zimskog perioda (p = 0.544).

Najvjerovatniji broj koliformnih bakterija /cm<sup>3</sup> na lokaciji Desni krak rijeke Morače se kretao od 2400 do 4400 u zimskom periodu, a od 2400 do 5000 u ljetnjem periodu. 50% zimskih vrijednosti bilo je iznad 3100, a ljetnjih iznad 3800 bakterija/cm<sup>3</sup> što ne predstavlja značajnu razliku (p = 0.544).

*Tabela 10: Mikrobiološka analiza kvaliteta vode lokaliteta "Desni krak rijeke Morače" u toku 2017/2018. godine*

|  | "Desni krak rijeke Morače" (4)                        |  |   |                           |   |  |                         |   |
|--|---|--|---|---------------------------|---|--|-------------------------|---|
| Ispitivani parametri                       | Januar 2017   | Maj 2017   | Jun 2017  | Avgust 2017               | Septembar 2017  | Novembar 2017  | Decembar 2017           | Januar 2018   |
| Najvjerovatniji broj koliformnih bakterija | 2400  | 3800   | 2400  | 3800                      | 5000  | 2400   | 3800                    | 4400  |
| <i>Streptococcus faecalis</i>              | -   | -  | 20  | -                         | -   | 23   | -                       | -   |
| <i>Proteus</i> vrste                       | -   | -  | -   | -                         | -   | -  | -                       | -   |
| Sulfidoredukujuće klostrijde               | -   | -  | -   | -                         | -   | -  | -                       | -   |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i>              | -   | +  | -   | -                         | +   | -  | -                       | -   |
| IDENTIFIKACIJA BAKTERIJA                   | <i>Escherichia coli</i> ,<br><i>Enterobacter</i> sp., | <i>Escherichia coli</i> ,<br><i>Streptococcus faecalis</i> ,<br><i>Citrobacter</i> sp.,<br><i>Pseudomonas aeruginosa</i> | <i>Escherichia coli</i> ,<br><i>Streptococcus faecalis</i> ,<br><i>Citrobacter</i> sp | <i>Klebsiella oxytoca</i> | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ,<br><i>Klebsiella pneumoniae</i> | <i>Streptococcus faecalis</i> ,<br><i>Klebsiella oxytoca</i> | <i>Escherichia coli</i> | <i>Escherichia coli</i> ,<br><i>Klebsiella ascorbata</i> ,<br><i>Citrobacter freundii</i> |

Na osnovu (tab.10) vidimo da je u toku ovog istraživanja na lokalitetu "Desni krak rijeke Morače" identifikovano prisustvo koliformnih bakterija fekalnog porijekla kroz vrste: *Escherichia coli*, *Enterobacter* sp., *Streptococcus faecalis*, *Citrobacter* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella ascorbata*, *Citrobacter freundii*, što ukazuje na stalno prisustvo organske materije uzrokovano antropogenim uticajem. Prisustvo sulfidoredukujućih klostrijda i *Proteus* vrsta nije zabilježeno.

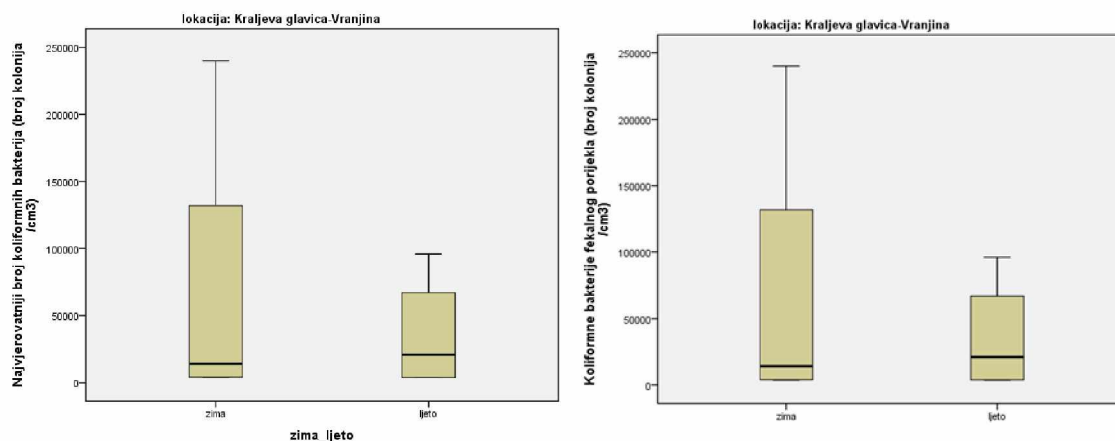
Na osnovu (tab. 11) uočava se da je na lokaciji "Kraljeva glavica-Vranjina" u junu 2017. godine izbrojano 38 bakterija *Streptococcus faecalis*, 15 bakterija sulfidoredukujućih klostrijda u toku septembarskog ispitivanja, a jedna bakterija u maju 2017.godine. Prisustvo *Escherichia coli* dokaz je konstantnog zagađenja, dok je prisustvo truleži (*Proteus* vrste) dokazano je

u septembru 2017. godine. “rojenjem u /kroz podlogu“. Identifikovana je bakterija *Proteus vulgaris*. U januaru 2018. godine dokazano je prisustvo *Proteus mirabilis*. *Pseudomonas aeruginosa* konstatovan je u toku juna i avgusta 2017.godine.

Tabela 11: Mikrobiološka analiza kvaliteta vode lokaliteta - “Kraljeva glavica“-Vranjina u toku 2017/2018. godine

|  | "Kraljeva glavica"-Vranjina (5)                           |   |   |  |  |                              |   |   |
|--|---|---|---|--|--|------------------------------|---|---|
| Ispitivani parametri                       | Januar 2017   | Maj 2017  | Jun 2017  | Avgust 2017  | Septembar 2017   | Novembar 2017                | Decembar 2017   | Januar 2018   |
| Koliformne bakterije fekalnog porijekla    | 240000  | 3800  | 38000   | 3800   | 96000  | 4000                         | 3800  | 24000   |
| Najvjerovatniji broj koliformnih bakterija | 240000  | 3800  | 38000   | 3800   | 96000  | 4000                         | 3800  | 24000   |
| <i>Streptococcus faecalis</i>              | -   | -   | 38  | -  | -  | -                            | -   | -   |
| <i>Proteus</i> vrste                       | -   | -   | -   | -  | +  | -                            | -   | +   |
| Sulfidoredukujuće klostridije              |   | + 1 kolonija  | -   | -  | + 15 kolonija  | -                            |   | -   |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i>              | -   | -   | +   | +  | -  | -                            | -   | -   |
| IDENTIFIKACIJA BAKTERIJA                   | <i>Klebsiella pneumoniae</i> ,<br><i>Escherichia coli</i> | <i>Citrobacter</i> sp.,<br><i>Klebsiella pneumoniae</i> , | <i>Escherichia coli</i> ,<br><i>Streptococcus faecalis</i> ,<br><i>Pseudomonas aeruginosa</i> | <i>Escherichia coli</i> ,<br><i>Pseudomonas aeruginosa</i> | <i>Proteus vulgaris</i> ,<br><i>Citrobacter freundii</i> | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | <i>Citrobacter divergens</i> ,<br><i>Klebsiella oxytoca</i> | <i>Proteus mirabilis</i> ,<br><i>Klebsiella pneumoniae</i> ,<br><i>Providentia stuartii</i> |

Slika 20 nam omogućava vidimo da se najvjerovatniji broj koliformnih bakterija /m<sup>3</sup> na lokaciji Kraljeva glavica- Vranjina kretao od 3800 do 240000 u zimskom periodu, a od 3800 do 96000 u ljetnjem periodu. 50% zimskih vrijednosti bilo je iznad 14000 bakterija/m<sup>3</sup>, a ljetnjih 20900 što ne prestavlja statistički značajnu razliku (p = 0.767).





Slika 20: Najvjerojatniji broj koliformnih bakterija (1) i Koliforme bakterije fekalnog porijekla (2) za lokalitet "Kraljeva glavica"-Vranjina

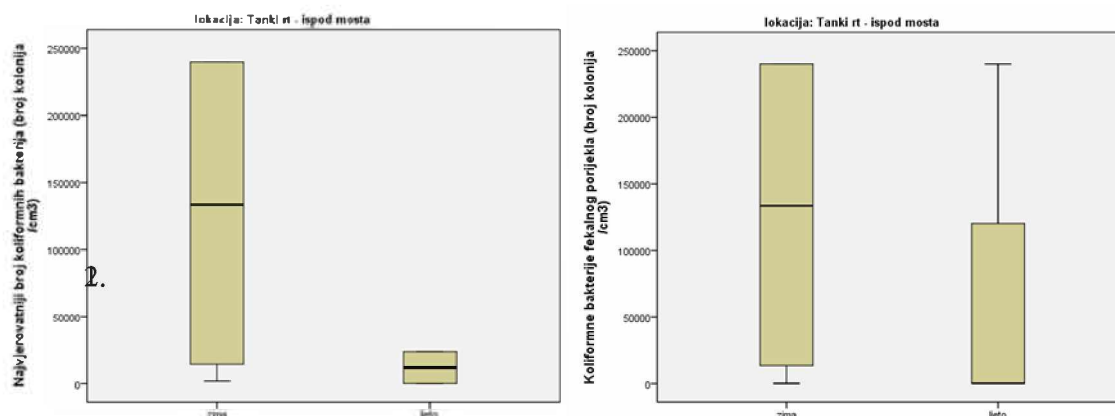
Na osnovu Slike 20, uočavamo da se broj koliformnih bakterija fekalnog porijekla/cm<sup>3</sup> na lokaciji Kraljeva glavica-Vranjina kretao od 3800 do 240000 u zimskom periodu, a od 3800 do 96000 u ljetnjem periodu. 50% zimskih vrijednosti bilo je iznad 14000 bakterija/cm<sup>3</sup>, a ljetnjih 20900 što ne prestavlja značajnu razliku (p = 0.767).

Tabela 12: Mikrobiološka analiza kvaliteta vode "Tanki rt"- ispod mosta u toku 2017/2018. godine

|  | "Tanki rt"- ispod mosta (6)   |   |  |  |  |  |   |  |
|--|---|---|--|--|--|--|---|--|
| Ispitivani parametri                       | Januar 2017   | Maj 2017  | Jun 2017   | Avgust 2017  | Septembar 2017   | Novembar 2017  | Decembar 2017   | Januar 2018  |
| Koliformne bakterije fekalnog porijekla    | 240000  | 380   | 240000   | 20   | 96   | 240000   | 150   | 27000  |
| Najvjerojatniji broj koliformnih bakterija | 240000  | 24000   | 24000  | 150  | 96   | 240000   | 2000  | 27000  |
| <i>Streptococcus faecalis</i>              | -   | -   | -  | 10   | -  | 20   | -   | -  |
| <i>Proteus</i> vrste                       | -   | -   | -  | -  | -  | -  | -   | -  |
| Sulfidoredukujuće klostridije              |   | + 1 kolonija  |  | -  | + 5 kolonije   | -  | -   | -  |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i>              | -   | +   | -  | -  | -  | +  | -   | -  |
| IDENTIFIKACIJA BAKTERIJA                   | <i>Enterobacter cloacae</i> ,<br><i>Klebsiella oxytoca</i> ,<br><i>Citrobacter freundii</i> , | <i>Citrobacter</i> sp.,<br><i>Klebsiella oxytoca</i> , -<br><i>Citrobacter aerogenus</i> ,<br><i>Pseudomonas aeruginosa</i> | <i>Escherichia coli</i> ,<br><i>Citrobacter</i> sp,<br><i>Serratia</i> sp. | <i>Klebsiella oxytoca</i> ,<br><i>Streptococcus faecalis</i> | <i>Citrobacter</i> sp.,<br><i>Citrobacter amalonatiens</i> | <i>Streptococcus faecalis</i> ,<br><i>Escherichia coli</i> ,<br><i>Klebsiella oxytoca</i> ,<br><i>Pseudomonas aeruginosa</i> | <i>Klebsiella pneumoniae</i> ,<br><i>Enterobacter aerogenes</i> ,<br><i>Citrobacter</i> sp. | <i>Citrobacter freundii</i> ,<br><i>Escherichia coli</i> |

Iz (tab. 12) vidimo da se u toku ovog istraživanja, na lokalitetu "Tanki rt" brojna poklapanja u brojnostima za koliformne bakterije fekalnog porijekla i najvjerojatnijeg broja koliformnih bakterija. To se desilo u toku januraj novembra 2017. godine, odnosno januara 2018. godine. Prisustvo *Streptococcus faecalis*, dokazano je dva puta u toku ovog istraživanja: u agustu i novembru 2017. godine.

Klostridije su bile zabilježene u maju i septembru 2017.godine. Identifikacija bakterija dokazala je prisustvo: *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter aerogenus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Citrobacter amalonatiens*, *Enterobacter aerogenes*, *Citrobacter freundii*.



Slika 21: Najvjerojatniji broj koliformnih bakterija (1) i Koliformne bakterije fekalnog porijekla (2) za lokalitet "Kraljeva glavica"-Vranjina

Na osnovu Slike 21 vidimo da se najvjerojatniji broj koliformnih bakterija /cm<sup>3</sup> na lokaciji Tanki rt-ispod mosta Jezero kretao od 2000 do 240000 u zimskom periodu, a od 96 do 24000 u ljetnjem periodu. 50% zimskih vrijednosti bilo je iznad 133500 bakterije/cm<sup>3</sup>, a ljetnjih iznad 12075 bakterija/cm<sup>3</sup> što ne prestavlja statistički značajnu razliku ( $p = 0.080$ ). Broj koliformnih bakterija fekalnog porijekla/cm<sup>3</sup> na lokaciji Tanki rt-ispod mosta Jezero se kretao od 150 do 240000 u zimskom periodu, a od 20 do 24000 u ljetnjem periodu. 50% zimskih vrijednosti bilo je iznad 133500 kolonije/cm<sup>3</sup>, a ljetnjih iznad 238 bakterija/cm<sup>3</sup> što ne prestavlja statistički značajnu razliku ( $p = 0.237$ ).

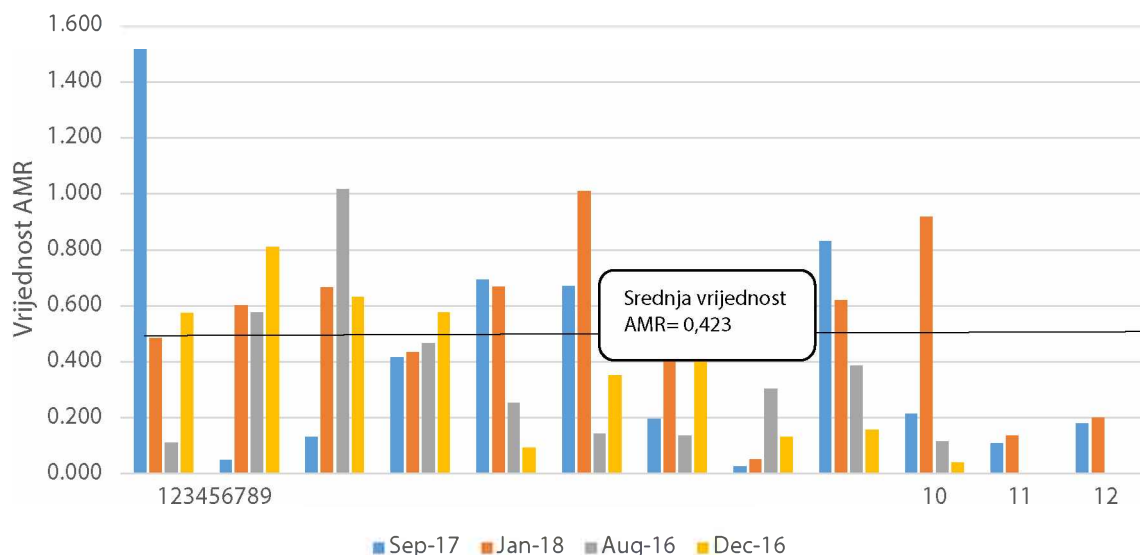
## 5.4 FENOTIPSKU KARAKTERISTIKE MIKROORGANIZAMA U TOKU 2016-2018. GODINE

Mikrobiološke zajednice imaju veliku adaptivnu sposobnost promjenama, u prostoru i vremenu, i na taj način predstavljaju sredstvo dovoljno jako da uspostavi dinamiku primjenjivu u ekološkim kontekstima.

Svoje osnovne karakteristike mikroskopsku vidljivost i brz rast koriste za brze odgovore na prirodne sukcesije i eksperimentalnu manipulaciju koja se može generacijski pratiti. U prirodnim akvatičnim uslovima njihov glavni zadatak je razgradnja, reciklaža organske materije, te stoga imaju veliki uticaj na akvatične ekosisteme, predstavljaju glavni izazov u ekologiji, i moćan forum za razumijevanje ciklusa kruženja materije i energije u prirodi.

Razumijevanje ciklusa standardnim metodama ne daje odgovor na mnoga pitanja, zato je pristup u ovom radu akcenat stavljen na izučavanju fenotipskih karakteristika mikroorganizama na nivou fizioloških grupa ili zajednica (CLPP) a rezultati AMR, i CDM u ovom radu prikazani su poslije 48 sata inkubacije, kada je postignut maksimalni razvoj koloritosti.

Dobijeni rezultati prikazani su grafički, a predstavljaju dvogodišnju opservaciju fenotipskih karakteristika sa posebnim osvrtom na razlike između “ljetnjeg” i “zimskog” režima voda. Nakog “monitoringa” voda na prisustvo EmS u vodama ispitivanih lokacija obavljenih u “zimskom” režimu 2013. godine, i “ljetnjem” režimu 2014. godine, dobijenih u maju 2015. godine, sprovedeno je dvogodišnje posmatranje fiziološke grupe mikroorganizama sa osvrtom na CLPP tj. na metabolički diverzitet fizioloških zajednica mikroorganizama.



Slika 22: AMR istraživanih lokacija tokom 2016-2018.godiine

Legenda za Sliku 22:

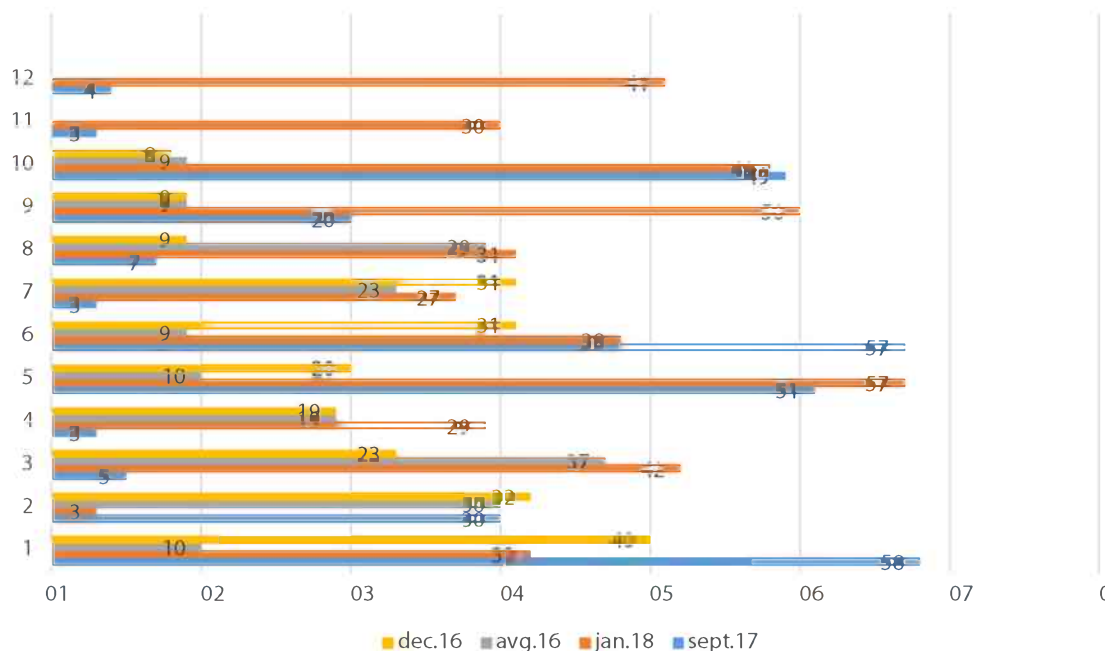
1-Vranjina-“Kraljeva glavica”-Jezero-lipolitske, 2-Vranjina-“Kraljeva glavica”-Jezero-proteolitske, 3-“Tanki rt”-lipolitske, 4-“Tanki rt”-proteolitske, 5-Vukovci-lipolitske, 6-Vukovci-proteolitske, 7-“Desni krak rijeke Morace”-lipolitske, 8-“Desni krak rijeke Morace”-proteolitske, 9-“Lijevi krak rijeke Morače”-lipolitske, 10-“Lijevi krak rijeke Morače”-proteolitske, 11- Zlatica-“Smokovac” -lipolitske, 12- Zlatica-“Smokovac” -proteolitske

Sa Slike 22, uočavamo da su se vrijednosti AMR kretale od 1,517 na lokaciji “Kraljeva glavica” Vranjina-Jezero, u toku “ljetnjeg” režima voda 2017. godine za lipolitsku grupu mikroorganizama, dok je najniža vrijednost zabilježena na lokaciji “Desni krak rijeke Morače” za proteolitsku grupu mikroorganizama sa vrijednošću 0,026. Koristeći se Slikom 22, vidimo da je tokom “ljetnjeg” uzorkovanja 2016. godine najveća vrijednost za AMR bila 1, a utvrđena je na lokaciji “Tanki rt” za lipolitsku grupu bakterije.

Pomoću Slike 22, možemo da vidimo da je tokom januarskog istraživanja 2018. godine na lokalitetu Vukovci proteolitska grupa mikroorganizama zabilježila maksimalna vrijednost AMR-od 1,009; a minimalnu vrijednost AMR u toku tog januarskog ispitivanja bila je 0,053 na “Desnom kraku rijeke Morače” za proteolitske bakterije.

Prema rezultatima sa Slike 22, minimalna vrijednost AMR-a u toku “zimskog” aspekta voda

za 2016. godinu, dokazana je na lokaciji "Lijevi krak rijeke Morače" za proteolitsku grupu mikroorganizama, dok je maksimalna vrijednost AMR-a, izračunata na lokaciji "Kraljeva glavica"-Vranjina-Jezero za protrolitsku grupu mikroorganizama. Prema rezultatima za srednju vrijednost AMR-a, najveća srednja vrijednost je izračunata na lokalitetu 0,672 Vranjina-"Kraljeva glavica"-Jezero-lipolitske, slijedi sa 0,611 Tanki rt"-lipolitske. Treća po veličini srednja vrijednost od 0,544 je izračunata za lokalitet Vukovci-proteolitske, dok je najmanja srednja vrijednos AMR iznosila 0,123 za lokalitet Zlatica-"Smokovac" -lipolitske. Ukupna srednja vrijednost za AMR je iznosila 0,423.



*Slika 23: Vrijednost CMD za ispitivane lokacije tokom 2016-2018.godine.*

Legenda za Sliku 23: 1-Vranjina-"Kraljeva glavica"-Jezero-lipolitske, 2-Vranjina-"Kraljeva glavica"-Jezero-protrolitske, 3-"Tanki rt"-lipolitske, 4-"Tanki rt" -proteolitske, 5-Vukovci-lipolitske, 6-Vukovci-proteolitske, 7-"Desni krak rijeke Morace"-lipolitske, 8-"Desni krak rijeke Morace"-proteolitske, 9-"Lijevi krak rijeke Morače"-lipolitske, 10-"Lijevi krak rijeke Morače"-proteolitske, 11- Zlatica-"Smokovac" -lipolitske, 12-Zlatica-"Smokovac" -proteolitske

Na osnovu (Slike 23) uočavamo da je vrijednost CMD bila najveća na lokalitetu "Kraljeva glavica"-Vranjina-Jezero za lipolitske bakterije u toku „ljetnjeg“ uzorkovanja 2017. godine sa vrijednošću 58. Vrijednosti CDM su bile za jedan manja na lokalitetu "Vukovci" za proteolitsku grupu bakterija. Koristeći se (Slikom 23) možemo da vidimo da se u toku septembra 2017. godine vrijednost za CDM nalazila u opsegu od 3 na lokacijama "Tanki rt" -proteolitske, Desni krak rijeke Morace"-lipolitske i Zlatica-"Smokovac" -lipolitske pa do maksimalne vrijednosti od 58 na lokalitetu "Kraljeva glavica"-Vranjina-Jezero.

Januarsko uzorkovanje u toku 2018. godine, prikazuje sasvim drugačiji metabolički odgovor fizioloških grupa mikroorganizama. Najveća vrijednost CDM zabilježeno je na lokaciji

Vukovci za lipolitsku grupu bakterija 57; zatim slijedi neznatno niža vrijednost CDM za lokaciju "Lijevi krak rijeke Morače", takođe za lipolitsku grupu bakterija 50; pa 48 na lokaciji Lijevi krak rijeke Morače" za proteolitsku grupu mikroorganizama.

U toku 2016. godine fenotipski odgovor je bio znatno slabiji i manji i u toku „zimskog“ ali i u toku "ljetnjeg" uzorkovanja. To dokazuju i dobijene vrijednosti. Na osnovu Slike 23, vidimo da je maksimalna zabilježena vrijednost CMD za istraživane lokacije bila za "Kraljeva glavica" Vranjina-Jezero za lipolitsku grupu mikroorganizama 40, da sa vrijednošću slijedi lokalitet "Tanki rt"-ispod mosta-Jezero-lipolitska grupa mikroorganizama, pa 30 za lokalitet "Kraljeva glavica"-Vranjina -Jezero-proteolitsku grupu mikroorganizama.

Evidentno je da se promjene dešavaju i da se fenotipski mikroorganizmi mijenjaju, ali za to je potrebno vrijeme i generacijske promjene mikroorganizama, što je prikazano tabelom 5.4.a za ljeto 2017. godine kada su evidentirane i najveće promjene u AMR i CMD. Najveća srednja vrijednost CDM je bila na lokalitetu Vranjina-"Kraljeva glavica"-Jezero-lipolitske 35, a najmanja je zabilježena na Zlatica-"Smokovac" -lipolitske 16,5. Srednja vrijednost CDM za sve lokalitete se kretala između najmanje i najveće izračunate vrijednosti po lokalitetima i iznosila je 26.

*Tabela 13: Fenotipske karakteristike mikroorganizama tokom 2017. godine*

| Izvori C /Ugljeni-hidrati           | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|-------------------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|
| D-Celiobioza                        | * |   |   |   |   | * |   |   | * |    |    |    |
| $\alpha$ -D-Lactoza                 | * |   |   |   | * | * |   |   | * |    |    |    |
| $\beta$ -Metil-D-Glukozid           | * |   |   |   | * | * |   |   | * |    |    |    |
| D-Ksiloza                           | * | * |   | * | * | * | * | * | * | *  | *  | *  |
| i-Eritritol                         |   |   |   |   |   | * |   |   | * |    |    |    |
| D-Manitol                           | * | * | * |   | * | * | * |   | * |    |    | *  |
| N-Acetil-D-Glkozamid                | * | * | * |   | * | * |   |   | * |    |    | *  |
| $\alpha$ -Ciklodekstrin             |   |   |   |   | * |   |   |   |   |    |    |    |
| Izvori C /Karboksilne kiseline      | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
| D-Glukozaminska kiseline            | * | * | * |   | * |   |   |   |   |    |    | *  |
| D-Galaktoninozna kisjelina          |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |
| $\gamma$ -lakton                    | * | * | * |   | * | * |   |   | * |    |    |    |
| D-Galakturozna kisjelina            | * | * | * |   | * | * |   |   | * |    |    |    |
| 2-Hidroksi benzoična kisjelina      |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |
| 4- Hidroksi benzoična kisjelina     | * |   | * | * | * |   |   |   |   |    |    |    |
| $\gamma$ -Hidrobutirinska kisjelina |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |
| Itakonična kisjelina                |   | * | * |   |   |   |   |   |   |    |    |    |
| $\alpha$ -Ketobutirična kisjelina   |   |   |   |   |   |   |   |   |   | *  | *  | *  |
| D-Maleinna kisjelina                | * |   |   |   | * |   |   |   |   |    |    |    |
| Glicil-L- Glutaminska kisjelina     | * | * | * |   | * | * |   |   | * |    |    |    |

| Izvori C /Fosforilati              | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|------------------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|
| Glukoza-1 Fosforilat               | * |   |   |   | * | * |   |   | * |    |    |    |
| D,L- $\alpha$ -Glicerol Fosforilat | * |   |   |   | * | * | * |   | * |    | *  | *  |
| Izvori C / Esteri                  | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
| Metil Estar Piruvatne kiseline     | * |   | * |   | * | * |   |   | * | *  |    |    |
| Izvori C/ Amino kiseline           | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
| L-Arginin                          | * | * | * |   |   | * | * |   |   |    |    | *  |
| L-Asparagin                        |   |   | * |   | * | * | * |   | * |    |    |    |
| L- Fenilalanin                     |   |   |   |   |   |   |   |   | * | *  |    |    |
| L-Serin                            | * | * | * |   | * | * | * |   |   |    |    | *  |
| L-Treonin                          | * |   |   |   | * | * |   |   |   |    |    |    |
| Izvori C/ Amini                    | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
| Fenilenetil amin                   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |
| Putrescin                          | * |   |   |   | * | * |   |   |   |    |    |    |
| Izvori C/ Polimeri                 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
| Tween 40                           | * | * | * |   |   | * |   |   |   | *  |    |    |
| Tween 80                           | * | * | * |   | * | * | * | * | * | *  |    |    |
| Glikogen                           |   |   |   |   |   | * |   |   |   |    |    |    |

*Legenda za Tabelu 13: 1-Vranjina- "Kraljeva glavica"-Jezero-lipolitske, 2-Vranjina- "Kraljeva glavica"-Jezero-protolitske, 3-"Tanki rt"-lipolitske, 4-"Tanki rt"-proteolitske, 5-Vukovci-lipolitske,6-Vukovci-proteolitske, 7-"Desni krak rijeke Morace"-lipolitske, 8-"Desni krak rijeke Morace"-proteolitske, 9-"Lijevi krak rijeke Morače"-lipolitske, 10-"Lijevi krak rijeke Morače"-proteolitske, 11- Zlatica-"Smokovac"-lipolitske,12-Zlatica-"Smokovac"-proteolitske.*

Na osnovu (tab. 13) vidimo da je D-ksiloza registrovana na svim lokacijacijama izuzetak je lokalitet "Tanki rt" lipolitske bakterija. Putrescin je registrovan na lokaciji Vukovci za obje fiziološke grupe mikroorganizama. Grupa polimernih jedinjenja nije evidentirana na lokacijama ("Tanki rt"-proteolitske, Zlatica-"Smokovac"-lipolitske, Zlatica-"Smokovac"-proteolitske).

Iz tabele 13 vidimo daamino kiseline kao izvor C nisu korištene tokom našeg istraživanja na lokalitetima ("Tanki rt"-proteolitske, Zlatica-"Smokovac"-lipolitske). Na lokalitetima ("Desni krak rijeke Morace"- lipolitske, "Desni krak rijeke Morace"- proteolitske i Zlatica-"Smokovac"-lipolitske) nisu uopšte dokazane ugljene kiseline.

Tabelom (13) je prikazano da je lokalitet Vranjina-"Kraljeva glavica"-Jezero-lipolitske,pokazao 22 promjene, Vukovci lipolitske i proteolitske 21 promjenu, "Lijevi krak rijeke Morače"-lipolitske 16 promjena., dok su najmanje promjena pokazali lokaliteti: "Tanki rt"-proteolitske, "Desni krak rijeke Morace"-proteolitske i Zlatica-"Smokovac"-lipolitske sa samo 2 promjene.

## 5.5 REZULTATI „SKRINING“ ISPITIVANJA ZA EMS TOKOM 2013-2014. GODINE

U toku 2013-2014. godine na lokalitetima obilježenim ovim redom: 1. 1.Vukovci; 2.“Lijevi krak” rijeke Morače; 3.“Desni krak” rijeke Morače; 4.“Kraljeva glavica”-Vranjina; 5.“Tanki rt” Jezero, vršeno je “Skrining” ispitivanje uzoraka vode, sa ciljem utvrđivanja prisustva Em supstanci.

*Tabela 14: Detektovane i identifikovane EmS*

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

Iz Tabele (tab. 14) vidimo da na lokalitetima “Desni krak rijeke Morače”, “Kraljeva glavica”-Vranjina-Jezero, Vukovci za “zimski skrining” ukupno je detektovano 272 hemikalije, a 78 identifikovano. Na lokacijama “Lijevi krak rijeke Morače”, “Tanki rt”-ispod mosta-Jezero, detektovano 187 hemikalije a identifikovano 34.

Tabela 14 pokazuje da je na svim lokacijama za vrijeme „ljetnjeg skrininga“ detektovano je ukupno 69, a identifikovano 7 hemikalija.

*Tabela 15: Rezultati „skrining“ ispitivanja EmS u toku novembra 2013. godine za istraživane lokacije*

| RT (min) | Komponente   | Podudaranje | Biblioteka | Lokaliteti |
|----------|--|-------------|------------|------------|
| 90,331   | Hexadecanoic acid (CAS); Palmitic acid                       | 99          | WILEY      | 2          |
| 96,817   | 9-Octadecenoic acid (Z)- (CAS); Oleic acid;                  | 99          | WILEY      | 3          |
| 99,507   | 9-Octadecenoic acid (Z)- (CAS); Oleic acid;                  | 99          | WILEY      | 1,2,4      |
| 92,81    | Hexadecanoic acid (CAS); Palmitic acid;                      | 99          | WILEY      | 1,3,5      |
| 91,167   | Octadecanoic acid  | 99          | WILEY      | 1,2,3,4,5  |
| 22,613   | dl-Limonene; Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-      | 98          | WILEY      | 1          |
| 81,201   | Hexadecanoic acid, methyl ester (CAS); Methyl palmitate      | 97          | WILEY      | 1          |
| 90,911   | 9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester (CAS); Methyl oleate; | 97          | WILEY      | 1          |
| 97,66    | Oleic Acid; 9-Octadecenoic acid (Z)-                         | 97          | WILEY      | 2          |
| 102,855  | 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)- (CAS); Linoleic acid;       | 97          | WILEY      | 2,3        |
| 14,369   | Disulfide, dimethyl  | 95          | WILEY      | 1          |
| 95,673   | Octadecanoic acid (CAS); Stearic acid;                       | 91          | WILEY      | 1          |



|         |  |    |       |           |
|---------|--|----|-------|-----------|
| 83,963  | Benzoic acid, 2-hydroxy-, phenylmethyl ester (CAS); Benzyl salicylate; | 90 | WILEY | 1,2,3,4,5 |
| 97,129  | 9-Octadecenoic acid, (E)-  | 89 | NIST  | 3         |
| 46,969  | 1-Octanol  | 87 | NIST  | 1,2,3,4,5 |
| 100,73  | Dibutyl phthalate  | 85 | NIST  | 1,2,3,4,5 |
| 26,647  | 1-Pentanol (CAS); Amylol   | 83 | WILEY | 1         |
| 44,716  | Undecane, 3-methyl-  | 82 | NIST  | 1,2,3,4,5 |
| 22,607  | Bicyclo [4.1.0]heptane, 7-(1-methylethylidene)-;                       | 81 | PBM   | 2,5       |
| 38,266  | Decane, 2-methyl-  | 81 | NIST  | 2,3,4,5   |
| 23,548  | 1-Butanol, 3-methyl- (impure)  | 80 | WILEY | 1         |
| 53,488  | Nonane, 1-chloro-  | 80 | NIST  | 1         |
| 60,926  | Dodecane, 2,6,10-trimethyl-  | 79 | NIST  | 1,2,3,4,5 |
| 93,869  | Hexadecenoic acid, Z-11-;  | 78 | WILEY | 2         |
| 81,9    | 3-Ethylthiophene;  | 78 | WILEY | 1,2       |
| 20,915  | trans-3-Penten-2-ol  | 78 | NIST  | 1,2,3     |
| 87,389  | Cyclohexane, nonadecyl-  | 78 | NIST  | 1,2,3,4,5 |
|         |  |    |       |           |
| 30,065  | 2-Pentanol, 4-methyl-  | 76 | NIST  | 1         |
| 53,331  | 2-Furanmethanol  | 75 | NIST  | 3         |
| 43,798  | n-Caproic acid vinyl ester   | 75 | NIST  | 2,3,5     |
| 41,142  | dihexylsulfide   | 74 | WILEY | 2,4       |
| 17,101  | 2-Butanol, 3-methyl-   | 74 | NIST  | 4,5       |
| 88,203  | Heneicosane, 11-(1-ethylpropyl)-                                       | 74 | NIST  | 1,2,3,4,5 |
| 30,264  | 2-Propanone, 1-hydroxy-  | 72 | NIST  | 3         |
| 60,735  | 2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, (Z)- ; (Nerol)                       | 72 | NIST  | 1,3,4,5   |
| 78,332  | 2,6-Diisopropyl-naphthalene  | 72 | NIST  | 1,2,3,4,5 |
| 101,884 | Sulfurous acid, butyl dodecyl ester                                    | 71 | NIST  | 2,3,4,5   |
| 73,997  | Disulfide, di-tert-dodecyl   | 71 | NIST  | 1,2,3,4,5 |
| 104,383 | Diisooctyl adipate   | 71 | NIST  | 1,2,3,4,5 |
| 50,169  | Cyclohexane, octyl-  | 70 | NIST  | 2         |
| 74,823  | 1-Octanol, 2-butyl-  | 70 | NIST  | 5         |
| 93,365  | Allopregnane; Pregnane, (5.alpha.)-                                    | 70 | WILEY | 2,4,5     |
| 82,792  | 1-Heneicosyl formate   | 70 | NIST  | 1,2,3,4,5 |
| 41,669  | 3-Furaldehyde  | 69 | NIST  | 3         |
| 82,815  | Tridecane, 6-cyclohexyl-   | 69 | NIST  | 1,4       |
| 54,069  | 3,3,5,5-Tetramethylcyclohexanol  | 69 | NIST  | 2,3       |
| 81,116  | 7,7-Diethylheptadecane   | 69 | NIST  | 2,3,5,1   |
| 23,043  | 2-Oxabicyclo[2.2.2]octane, 1,3,3-trimethyl-;Eucalyptol                 | 67 | NIST  | 1         |
| 46,421  | 1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-                                       | 67 | NIST  | 4,5       |

|         |  |    |       |           |
|---------|--|----|-------|-----------|
| 103,74  | 17-Octadecynoic acid   | 66 | NIST  | 3         |
| 96,316  | Sulfurous acid, butyl pentadecyl ester   | 66 | NIST  | 4         |
| 58,105  | 1-Decanol  | 66 | NIST  | 1,2,3     |
| 65,481  | Octadecane, 3-methyl-  | 66 | NIST  | 2,3,4     |
| 79,368  | Hydroxylamine, O-decyl-  | 66 | NIST  | 1,2,3,4,5 |
| 31,664  | Acetic acid, (1,2-dimethyl-1-propenyl) ester   | 65 | NIST  | 2         |
| 65,136  | 2-Bromotetradecane   | 65 | NIST  | 2,3,4     |
| 72,967  | Isopropyl myristate  | 64 | NIST  | 1         |
| 97,762  | Bicyclo[3.1.1]heptan-3-one, 2,6,6-trimethyl-, (1.alpha.,2.alpha.,5.alpha.)-; Pinocamphone; | 64 | WILEY | 1         |
| 13,09   | Methane, dichloro- (CAS); Dichloromethane; R 30; Freon 30; Narkotil;                       | 64 | WILEY | 2         |
| 72,921  | Cyclohexane, tetradecyl-   | 64 | NIST  | 2         |
| 49,205  | 2-Propanol, 1-hydrazino-   | 64 | NIST  | 1,3       |
| 59,371  | 1-Chloroundecane   | 64 | NIST  | 1,3       |
| 61,381  | 1-Tridecyne  | 64 | NIST  | 1,3       |
| 104,062 | 17-Octadecynoic acid   | 64 | NIST  | 2,4       |
| 78,66   | 1-Tricosanol   | 64 | NIST  | 1,2,3,4,5 |
| 68,95   | Phytol   | 62 | NIST  | 2         |
| 103,822 | Octadecanoic acid, 2,3-dihydroxypropyl ester   | 62 | NIST  | 2         |
| 45,182  | 1,3-Dioxan-4-one, 2-(1,1-dimethylethyl)-6-methyl-  | 62 | NIST  | 2,3       |
| 58,919  | 7-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl-, (S)-  | 62 | NIST  | 1,4,5     |
| 63,287  | Trifluoroacetyl-lavandulol   | 62 | NIST  | 2,4,5     |
| 72,951  | 8-Azabicyclo[3.2.1]octan-3-amine, 8-methyl-  | 62 | NIST  | 3,4,5     |
| 28,949  | 2,4-Dithiapentane; Formaldehyde dimethyl mercaptal   | 61 | NIST  | 1         |
| 104,534 | Octadecanoic acid, 3-oxo-, methyl ester  | 61 | NIST  | 1         |
| 59,669  | 2-Methyl-1-undecanol   | 61 | NIST  | 1,2,3     |
| 85,038  | Oxalic acid, cyclohexylmethyl tetradecyl ester   | 61 | NIST  | 1,3,4,5   |
| 66,51   | Benzeneethanol (CAS); Phenethyl alcohol  | 60 | NIST  | 1         |
| 83,477  | Phenol, 2,6-dimethoxy-   | 60 | NIST  | 1         |
| 98,516  | Myristoyl chloride   | 60 | NIST  | 1         |
| 72,528  | Octadecane, 1-(ethenyloxy)-  | 60 | NIST  | 2         |
| 45,569  | 2-Heptanol, acetate  | 60 | NIST  | 2,3       |
| 56,085  | 4-Pyridinol-1-oxide  | 60 | NIST  | 2,3       |
| 103,78  | Hexanedioic acid, dioctyl ester  | 60 | NIST  | 4,5       |
| 92,915  | 1-Decanol, 2-octyl-  | 60 | NIST  | 2,4,5     |
| 83,162  | 1-Tricosanol   | 60 | NIST  | 1,2,3,4,5 |

*Legenda za Tabelu 15: 1. Vukovci; 2. "Lijevi krak" rijeke Morače; 3. "Desni krak" rijeke Morače; 4. "Kra-ljeva glavica"-Vranjina ; 5. "Tanki rt"-ispod mosta.*

Tokom analiza korištena je NIST i WILEY datoteka podataka. Svaka hemikalija ima svoje retenciono vrijeme za odvajanje komponenti (Rt) koje se mjeri u minutima. Podudaranje koje je prihvatljivo za komponente "Skrining" je prihvatljivo do 60. Iz tabele Tabela 5.5. b zabilježeno je prisustvo EmS u vodi svih lokaliteta, ali i ostataka EmS, sa posebnim osvrtom na prisustvo jedne od najznačajnije klase EmS- farmaceutika (PhACs). Ukupno je identifikovano 12 hemikalija sa CAS brojem,

Iz tabele 15 vidimo da je su na svim lokalitetima identifikovane hemikalije ili njihove solabilne komponente: Benzyl salicylate, Hydroxylamine, 1-Tricosanol, Octadecanoic acid, 1-Octanol, Dibutyl phthalate, Undecane, 3-methyl-Dodecane, 2,6,10-trimethyl-, Cyclohexane, Heneicosane, 11-(1-ethylpropyl), 2,6-Diisopropyl naphthalene, Disulfide, di-tert-dodecyl, 1-Tricosanol, Acetic acid, (1,2-dimethyl-1-propenyl) ester. Ove komponente se koriste u industriji sapuna, šampona, hemijskoj industriji, ostaci iz industrije farbi i boja, industriji parfema i krema. Zapaženo je i prisustvo ostataka farmaceutika, pesticida, anestetika, plastifikanata. Zajedničko je da im prirodno stanište nisu prirodne i čiste vode, takođe, da se ne mogu ukloniti poznatim načinima prečišćavanja ispusnih komunalnih i otpadnih voda.

*Tabela 16: Rezultati "Skrining" ispitivanja EmS u toku avgusta 2014. godine za istraživane lokalitete*

| RT(min) | Komponente  | Podudaranje | Formula | n.Scan | Lokaliteti |
|---------|---|-------------|---------|--------|------------|
| 12,215  | unknown   |             |         | 39     | 3,5        |
| 14,208  | unknown chloric compound                                    |             |         | 647    | 1,2,5      |
| 14,605  | Propane, 1-iodo-2,2-dimethyl-                               | 80          | C5H11I  | 768    | 1,2,3,5    |
| 15,596  | Butane, 1-iodo-2-methyl-                                    | 83          | C5H11I  | 1107   | 1,2,3,5    |
| 17,54   | 1-Butanol, 3-methyl-, acetate                               | 90          | C7H14O2 | 1663   | 1,2,3,5    |
| 18,16   | Benzene, 1,3-dimethyl- (CAS); m-Xylene;                     | 93          | C8H10   | 1852   | 1,2,3,5    |
| 18,508  | Benzene, 1,2-dimethyl- (CAS); o-Xylene;                     | 80          | C8H10   | 1958   | 1,2        |
| 20,81   | 3-Penten-2-ol   | 86          | C5H10O  | 2660   | 1,2,3,4,5  |
| 21,557  | Benzene, ethyl-   | 90          | C8H10   | 2888   | 1,2        |
| 23,391  | Isoamylalcohol  | 72          | C5H12O  | 3447   | 1,2        |
| 23,482  | 1-Butanol, 3-methyl- (impure)                               | 72          | C5H12O  | 3475   | 3          |
| 24,483  | unknown benzene compound                                    |             |         | 3780   | 2          |
| 25,82   | unknown   |             |         | 4188   | 2,3        |
| 27,067  | Styrene; benzene, ethenyl-                                  | 83          | C8H8    | 4568   | 2,3        |
| 28,529  | Benzene, 1-ethyl-3-methyl- (CAS); Toluene                   | 80          | C9H12   | 5014   | 1,2,3      |
| 29,074  | unknown nitrogen compound                                   |             |         | 5180   | 1,2,3,4,5  |
| 30,553  | 2-pentanol, 4-methyl- (MAOH)                                | 78          | C6H14O  | 5631   | 1,2,3,4,5  |
| 31,609  | 2-Buten-1-ol, 2-methyl-                                     | 86          | C5H10O  | 5953   | 2,3,4,5    |
| 32,392  | Benzene, 1,2,4-trimethyl- (CAS); Pseudo-cumol; Pseudocumene | 91          | C9H12   | 6192   | 1,2,3      |
| 33,199  | Ethanol, 2-methoxy-   | 72          | C3H8O2  | 6438   | 1,2,3      |

|         |  |    |          |       |            |
|---------|--|----|----------|-------|------------|
| 34,468  | unknown benzene compound                       |    |          | 6825  | 2,3        |
| 36,806  | unknown  |    |          | 7538  | 3          |
| 37,961  | Pyridine, 2-ethenyl- (CAS); 2-Vinylpyridine    | 91 | C7H7N    | 7890  | 1,2,3      |
| 38,019  | unknown  |    |          | 7908  | 4,5        |
| 40,8    | unknown phenolic compound                      |    |          | 8756  | 3          |
| 42,725  | 1-Hexanol, 2-ethyl- (CAS); 2-Ethylhexanol      | 59 | C8H18O   | 9343  | 4          |
| 44,444  | unknown nitrogen compound                      |    |          | 9867  | 3          |
| 44,975  | unknown benzene compound                       |    |          | 10029 | 3          |
| 46,024  | unknown  |    |          | 10349 | 2,3        |
| 53,367  | Benzene, (2,2-dimethylpropoxy)-                | 83 | C11H16O  | 12588 | 2,3        |
| 66,543  | Phenol, 4,6-di(1,1-dimethylethyl)/2/<br>methyl | 83 | C15H24O  | 16606 | 1          |
| 71,2    | unknown  |    |          | 18026 | 3          |
| 76,6    | Hexadecane                                     | 78 | C16H34   | 19673 | 5          |
| 80,788  | unknown  |    |          | 20950 | 5          |
| 81,211  | Isohexadecene                                  | 78 | C16H34   | 21079 | 2,4,5      |
| 82,507  | unknown  |    |          | 21474 | 5          |
| 83,533  | unknown  |    |          | 21787 | 5          |
| 84,212  | unknown  |    |          | 21994 | 5          |
| 84,74   | unknown  |    |          | 22155 | 5          |
| 85,32   | unknown  |    |          | 22332 | 4          |
| 85,327  | unknown  |    |          | 22334 | 1          |
| 85,33   | unknown  |    |          | 22335 | 2          |
| 85,346  | unknown phenolic compound                      |    |          | 22340 | 5          |
| 85,605  | Nonadecane                                     | 86 | C19H40   | 22419 | 2,4,5      |
| 85,779  | unknown  |    |          | 22472 | 2          |
| 86,691  | unknown  |    |          | 22750 | 5          |
| 87,16   | unknown  |    |          | 22893 | 5          |
| 87,868  | unknown  |    |          | 23109 | 5          |
| 88,488  | unknown  |    |          | 23298 | 5          |
| 89,813  | Heneicosane                                    | 90 | C21H44   | 23702 | 2,4,5      |
| 90,941  | unknown amine compound                         |    |          | 24046 | 5          |
| 91,554  | unknown  |    |          | 24233 | 5          |
| 93,843  | unknown  |    |          | 24931 | 2          |
| 93,889  | unknown alkane                                 |    |          | 24945 | 2,5        |
| 94,656  | unknown phthalate compound                     |    |          | 25179 | 2          |
| 95,919  | unknown  |    |          | 25564 | 5          |
| 97,808  | unknown alkane                                 |    |          | 26140 | 2,5        |
| 99,241  | unknown  |    |          | 26577 | 5          |
| 99,91   | unknown  |    |          | 26781 | 5          |
| 100,674 | Dibutyl phthalate                              | 78 | C16H22O4 | 27014 | 1, 2,3,4,5 |

|         |         |  |  |       |   |
|---------|---------|--|--|-------|---|
| 101,645 | unknown |  |  | 27310 | 5 |
| 102,274 | unknown |  |  | 27502 | 5 |

*Legenda za Tabelu 16: 1. Vukovci; 2. "Lijevi krak" rijeke Morače; 3. "Desni krak" rijeke Morače; 4. "Kraljeva glavica" - Vranjina ; 5. "Tanki rt" - ispod mosta.*

U toku ljeta 2014. godine ([www.mrt.gov.me](http://www.mrt.gov.me)), u Crnoj Gori zabilježeno je 50 tropskih dana sa temperaturom iznad 30°C. Nizak vodostaj na ispitivanim lokacijama uslovio je migriranje emergenata u sediment i malu brojnost hemikalija, a veliki i znatan broj nepoznatih djelova hemikalija koji su rastvorljivi u vodi Na osnovu (tab.16) možemo da konstatujemo da su za vrijeme "ljetnjeg skrininga" na svim lokacijama identifikovane hemikalije: 3-Penten-2-ol, Dibuthyl phthalate, 2-pentanol, 4-methyl- (MAOH), koje se koriste u različite svrhe kao npr. kao plastifikanti, farmaceutici, a neke je moguće koristiti u industriji sapuna, krema i dezinficijensa. Iz tabele (tab.16) brojima 62 komponente kojima je mjereno RT (min), samo je ustanovljena podudaranje bilo kod 24 komponente, a određene su 6 komponenti sa Cas brojeem.

To su: Hexanol, 2-ethyl- (CAS); 2-Ethylhexanol, Pyridine, 2-ethenyl- (CAS); 2-Vinylpyridine, Benzene, 1,2,4-trimethyl- (CAS); Pseudocumol; Pseudocumene, Benzene, 1-ethyl-3-methyl- (CAS); Toluene, Benzene, 1,2-dimethyl- (CAS); o-Xylene; Benzene, 1,3-dimethyl- (CAS); m-Xylene.

## 5.6 REZULTATI ANALIZE KONCENTRACIJE EDCS I PHACS U TKIVU RIBA

Tkivo vrsta: *Rutilus prespensis*, *Squalius platyceps*, *Sardinius knezevici*, *Chondrostoma ohridanum*, *Alburnus alburnus* i *Ciprinus carpio* ispitane su na prisustvo EDCs i PhACs a njihove koncentracije date tabelarno.

Rezultati analize koncentracije EDCs i PhACs u tkivu riba prikazani su tabelarno tabelama Tabela 17 i Tabela 18.

Tabela 17, odnosi se na rezultate EDCs u tkivima riba, dok je tabelom 18 dati rezultati 20 vrste farmaceutika na koje su ispitivani uzorci tkiva riba. Zastupljeni su različite grupe lijekova: lijekovi za kardiovaskularna oboljenja i hipertenziju, različiti neurološki lijekovi i lijekovi za epilepsiju, antianksiozitivi, antidepresivi, lijekovi koji se koriste za opuštanje mišića, antikoagulant, antihelmintici, lijekovi za inhaliranje, za bolove i temperaturu kao i diuretici

Iz tabele 17 vidimo da je analizirano više različitih grupa EDCs kao i prioriternih supstanci prvenstveno plastifikanata, toksikanata, prirodnih i vještačkih hormona, prisustvo anti baktericida i anti fungicida, raznih komercijalnih deterdženata i hemikalija koje se

koriste u kozmetičkoj industriji, antikorozi i kofeina. Na osnovu Tabele 17, vidimo da 1-H-benzotrizol nije bio mjerljiv. Sa iste tabele možemo utrditi da u tkivima riba koncentracija kofeina, progesterona, levonogestrala, tolitriazola, TCEP-a, TBEP-a, TCCP-a, estona, estradiola estriola, etinil-stradiola, estron sulfata, bifenil A., metilparena, metilparena, propilparena i benzilparena se nalazila ispod minimum koncentracije analita koji može biti identifikovan. Utvrđeno je prisustvo “Triclosan”-a u koncentraciji  $14,1 \pm 1,3 \mu\text{g/L}$  i to samo u tkivu *Alburnus alburnus*.

Nađena hemikalija se najčešće koristi u kozmetičkoj industriji (za pravljenje sapuna koji su antibakterijski i antimikotični), ali i u farmaceutskoj industriji kao komponenta antibiotika. Međutim, upravo ova karakteristična osobina “Triclosana”, omogućava često korporiranje sa drugim elementima, te da služi i kao baza za spravljanje insekticida.

*Tabela 17: Rezultati ispitivanja tkiva riba na prisustvo EDCs tokom 2016.godine*

| Sample name                    | Rutilus<br>prespensis | Squalius<br>platyceps | Sardinus<br>Knezevici | Chondro-<br>stoma<br>ohridanum | Ciprinus<br>carpio | Alburnus<br>alburnus | LOD    | LOQ    |
|--------------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|--------------------------------|--------------------|----------------------|--------|--------|
| EDCs                           |                       |                       |                       |                                |                    |                      |        |        |
| 1-H-benzotriazoles             | NM                    | NM                    | NM                    | NM                             | NM                 | NM                   |        |        |
| Caffeine                       | < LOD                 | < LOD                 | < LOD                 | < LOD                          | < LOD              | < LOD                | 0,3255 | 1,0849 |
| Progesterone                   | < LOD                 | < LOD                 | < LOD                 | < LOD                          | < LOD              | < LOD                | 0,0158 | 0,0526 |
| Levonorgestrel                 | < LOD                 | < LOD                 | < LOD                 | < LOD                          | < LOD              | < LOD                | 0,0002 | 0,0006 |
| Tolytriazole                   | NM                    | NM                    | NM                    | NM                             | NM                 | NM                   |        |        |
| TCEP                           | < LOD                 | < LOD                 | < LOD                 | < LOD                          | < LOD              | < LOD                | 0,25   | 0,84   |
| TBEP                           | < LOQ                 | < LOQ                 | < LOQ                 | < LOQ                          | < LOQ              | < LOQ                | 0,07   | 0,27   |
| TCCP                           | < LOQ                 | < LOQ                 | < LOQ                 | < LOQ                          | < LOQ              | < LOQ                | 25,40  | 84,80  |
| Estrone                        | < LOD                 | < LOD                 | < LOD                 | < LOD                          | < LOD              | < LOD                | 0,0030 | 0,0099 |
| 17 $\beta$ -Estradiol          | < LOD                 | < LOD                 | < LOD                 | < LOD                          | < LOD              | < LOD                | 0,01   | 0,05   |
| Estriol                        | < LOD                 | < LOD                 | < LOD                 | < LOD                          | < LOD              | < LOD                | 0,0002 | 0,0007 |
| 17- $\alpha$ -Ethinylestradiol | < LOD                 | < LOD                 | < LOD                 | < LOD                          | < LOD              | < LOD                | 0,0004 | 0,0014 |
| Estrone-3-sulfate              | < LOD                 | < LOD                 | < LOD                 | < LOD                          | < LOD              | < LOD                | 0,0007 | 0,0022 |
| Bisphenol A                    | < LOD                 | < LOQ                 | < LOQ                 | < LOQ                          | < LOQ              | < LOQ                | 0,02   | 0,07   |
| Triclosan                      | < LOQ                 | < LOQ                 | < LOQ                 | < LOQ                          | < LOQ              | 14,1 $\pm$ 1,3       | 0,0018 | 0,0061 |
| Methylparaben                  | < LOD                 | < LOQ                 | < LOQ                 | < LOQ                          | < LOQ              | < LOQ                | 0,01   | 0,03   |

|               |    |    |    |    |    |    |  |  |
|---------------|----|----|----|----|----|----|--|--|
| Ethylparaben  | NM | NM | NM | NM | NM | NM |  |  |
| Propylparaben | NM | NM | NM | NM | NM | NM |  |  |
| Benzylparaben | NM | NM | NM | NM | NM | NM |  |  |

Objašnjenje: NM-nije mjerljivo; < LOD je minimum koncentracije analita koji može biti identifikovan; < LOQ-Minimalni analitički kvantifikacioni nivo.

Iz tab. 17 vidimo da su dobijeni rezultati ispitivanja za Atenolola, Carazolola Nadolola, Propanolola, Sotalola, Carbamazepina, Citalopram, Diazepam, 10,11-EpoxyCBZ-a, Lorazepam, Sertraline, Venlafaxine, te za za Venlafaxine, Clopidrogel, Codeine, Levamisole, Salbutamol, Diclofenaka i Hydrochlorothiazida bili manji od LOD (< LOD) odnosno, od minimuma koncentracije analita koji može biti identifikovan, ili su bili manji od minimalnog kvalifikacionog nivoa (<LOQ). I to se odnosi na sve uzorke riba.

Na osnovu tabele 18, možemo ustanoviti da je samo za lijekove: Metropolola u slučaju *Chondrostoma ohridanum* i *Squalius platyceph*, odnosno i I2-HydroxyCBZ u slučaju *Sardinus knezevici* koncentracija bila ispod granice minimalne detekcije (MDL).

Tabela 18: Rezultati ispitivanja tkiva riba na prisustvo PhACs tokom 2016.godine

| Sample name    | Rutilus prespensis | Squalius platyceph | Sardinus Knezevici | Chondrostoma ohridanum | Ciprinus carpio | Alburnus alburnus | LOD  | LOQ  |
|----------------|--------------------|--------------------|--------------------|------------------------|-----------------|-------------------|------|------|
| PhACs          |                    |                    |                    |                        |                 |                   |      |      |
| Atenolol       | < LOD              | < LOD              | < LOD              | < LOD                  | < LOD           | < LOD             | 0,01 | 0,02 |
| Carazolol      | < LOD              | < LOD              | < LOD              | < LOD                  | < LOD           | < LOD             | 0,01 | 0,02 |
| Metropolol     | < LOQ              | <MDL               | < LOQ              | <MDL                   | < LOQ           | < LOQ             | 0,10 | 0,35 |
| Nadolol        | < LOQ              | < LOQ              | < LOQ              | < LOQ                  | < LOQ           | < LOQ             | 0,31 | 1,04 |
| Propanolol     | < LOD              | < LOD              | < LOQ              | < LOQ                  | < LOQ           | < LOQ             | 0,09 | 0,29 |
| Sotalol        | < LOD              | < LOD              | < LOD              | < LOD                  | < LOD           | < LOD             | 0,08 | 0,26 |
| Carbamazepine  | < LOD              | < LOD              | < LOD              | < LOD                  | < LOD           | < LOD             | 0,05 | 0,17 |
| Citalopram     | < LOD              | < LOD              | < LOD              | < LOD                  | < LOD           | < LOD             | 0,12 | 0,40 |
| Diazepam       | < LOD              | < LOD              | < LOQ              | < LOD                  | < LOD           | < LOD             | 0,03 | 0,10 |
| 10,11-EpoxyCBZ | < LOD              | < LOD              | < LOQ              | < LOD                  | < LOQ           | < LOD             | 0,02 | 0,05 |
| 2-HydroxyCBZ   | < LOD              | < LOD              | <MDL               | < LOD                  | < LOD           | < LOD             | 0,01 | 0,03 |
| Lorazepam      | < LOD              | < LOD              | < LOD              | < LOD                  | < LOD           | < LOD             | 0,06 | 0,20 |
| Sertraline     | < LOD              | < LOD              | < LOD              | < LOD                  | < LOD           | < LOD             | 0,25 | 0,83 |
| Venlafaxine    | < LOD              | < LOD              | < LOD              | < LOD                  | < LOD           | < LOD             | 0,01 | 0,03 |
| Clopidrogel    | < LOD              | < LOD              | < LOD              | < LOD                  | < LOD           | < LOD             | 0,01 | 0,04 |



|                     |       |       |       |       |       |       |      |      |
|---------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------|------|
| Codeine             | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD | 0,02 | 0,06 |
| Levamisole          | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD | 0,02 | 0,05 |
| Salbutamol          | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD | 0,01 | 0,04 |
| Diclofenac          | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD | 1,73 | 5,77 |
| Hydrochlorothiazide | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD | 0,01 | 0,02 |

Objašnjenje: < LOD je minimum koncentracije analita koji može biti identifikovan; < LOQ-Minimalni analitički kvantifikacioni nivo. <MDL granica detekcije metode

## 5.7 REZULTATI ANALIZE KONCENTRACIJE PHACS U UZORCIMA VODA ISTRAŽIVANIH LOKALITETA TOKOM 2017-2018.GODINE

Tokom istraživanja 2017.-2018. godine dodata je i šesta tačka istraživanja tkz. “nulta tačka”; Smokovac-Zlatica, iznad grada Podgorice, kako bi se ukazalo na uticaj otpadnih, komunalnih i ocjednih voda grada Podgorice na rijeku Moraču, i implicidno na Skadarsko jezero, odnosno, izvršila komparacija ispitivanih uzoraka vode istraživanih lokacija u odnosu na prisustvo PhACs.

Rezultati istraživanja prikazani su tabelarno a odnose se na prisustvo/odsustvo 79 moguća farmaceutika u vodama istraživanih lokacija. Uzorci su ispitivani u tripletu, a dobijeni rezultati sabrani i podijeljeni na 3. Rezultati su svrstani u tabele prema istim ili sličnim djelovanjima lijekova. Tabele su podijeljene prema “ljetnjem” i “zimskom” istraživanju. Mjerljivi rezultati interpretirani su ng/L, ne mjerljivi su izraženi kao skraćena (n.a), LOD je minimum koncentracije analita koji može biti identifikovan, dok je manje od minimalnog kvalifikacionog nivoa LOQ.

Tabela 19: Rezultati ispitivanja koncentracije PhAC (analgetici, neuroleptici i alergeni) u vodama istraživanih lokacija tokom “ljetnjeg” i “zimskog” istraživanja a tokom 2017.-2018. godine.

| "ljetnje uzorkovanje"       | Oxycodone | Codeine | Carbamazepine | 10,11-epoxycarbamazepine | 2-hydroxycarbamazepine | Azaperoni | Azaperol | Loratadine | Desloratadine |
|-----------------------------|-----------|---------|---------------|--------------------------|------------------------|-----------|----------|------------|---------------|
| Zlatica/Smokovac            | < LOD     | < LOD   | < LOD         | < LOD                    | < LOD                  | < LOD     | < LOD    | < LOD      | < LOD         |
| Vukovci                     | < LOD     | < LOD   | 5,78          | < LOD                    | < LOD                  | < LOD     | < LOD    | < LOD      | < LOD         |
| Lijevi krak rijeke Morače   | < LOD     | < LOD   | 5,79          | < LOD                    | < LOD                  | < LOD     | < LOD    | < LOD      | < LOD         |
| Desni krak rijeke Morače    | < LOD     | < LOD   | 5,94          | < LOD                    | < LOD                  | < LOD     | < LOD    | < LOD      | < LOD         |
| "Kraljeva glavica"-Vranjina | < LOD     | < LOD   | < LOD         | < LOD                    | < LOD                  | < LOD     | < LOD    | < LOD      | < LOD         |
| "Tanka rt" – ispod mosta    | < LOD     | < LOD   | < LOD         | < LOD                    | < LOD                  | < LOD     | < LOD    | < LOD      | < LOD         |
| LOD                         | 3,04      | 3,30    | n.a.          | 2,44                     | 2,55                   | 8,96      | 4,40     | 1,11       | 0,62          |
| LOQ                         | 10,12     | 10,99   | n.a.          | 8,13                     | 8,51                   | 29,86     | 14,68    | 3,71       | 2,06          |
| "zimsko uzorkovanje"        | Oxycodone | Codeine | Carbamazepine | 10,11-epoxycarbamazepine | 2-hydroxycarbamazepine | Azaperoni | Azaperol | Loratadine | Desloratadine |
| Zlatica/Smokovac            | < LOD     | < LOD   | < LOD         | < LOD                    | < LOD                  | < LOD     | < LOD    | < LOD      | < LOD         |
| Vukovci                     | < LOD     | < LOD   | < LOD         | < LOD                    | < LOD                  | < LOD     | < LOD    | < LOD      | < LOD         |
| Lijevi krak rijeke Morače   | < LOD     | < LOD   | < LOD         | < LOD                    | < LOD                  | < LOD     | < LOD    | < LOD      | < LOD         |
| Desni krak rijeke Morače    | < LOD     | < LOD   | < LOD         | < LOD                    | < LOD                  | < LOD     | < LOD    | < LOD      | < LOD         |
| "Kraljeva glavica"-Vranjina | < LOD     | < LOD   | < LOD         | < LOD                    | < LOD                  | < LOD     | < LOD    | < LOD      | < LOD         |
| "Tanka rt" – ispod mosta    | < LOD     | < LOD   | < LOD         | < LOD                    | < LOD                  | < LOD     | < LOD    | < LOD      | < LOD         |

Tabelom 19, dat je uvid u rezultate koji se odnose na prisustvo analgetika, neuroleptika i alergena za vrijeme „ljetnjeg“ i „zimskog“ uzorkovanja. Uzorkovanjem, ispitano je prisustvo 5 analgetika (Oxycodon, Codein, Carbamazepin, 10,11-epoxycarbamazepin i 2-hydroxycarbamazepin); dva neuroleptika (Azaperon i Azaperol) i dva alergena (Loratadina i Desloratadina). Na osnovu Tabele 19, vidimo da se LOD kretao od 1,11 ng L<sup>-1</sup>, do 8,96 ng L<sup>-1</sup>.

Za lijek Carbamazepin, vrijednost za LOD i LOQ nijesu bile mjerljive. Izuzetak su rezultati sa lokacija: Vukovci, „Lijevi krak“ rijeke Morače i „Desni krak“ rijeke Morače, za vrijeme „ljetnjeg“ istraživanja. U toku ovog istraživanja (tab. 19) vrijednost lijeka Carbamazepina iznosila je 5,78 ng L<sup>-1</sup>, za lokalitet Vukovci, a za lokalitete „Lijevi“ i „Desni“ krak rijeke Morače 5,79 ng L<sup>-1</sup> odnosno 5,94 ng L<sup>-1</sup>. Iz pomenute tabela vidimo da su rezultati bili ispod limita detekcije, odnosno < LOD, za sva ostala mjerenja.

Tabela 20: Rezultati ispitivanja koncentracije PhAC (antiviretici, antihelmitici, lijekovi za stomachne i želudačne tjegebe, anestetici, kontrasti) u vodama istraživanih lokacija tokom „ljetnjeg“ i „zimskog“ istraživanja a tokom 2017.-2018. godine.

| „ljetnje uzorkovanje“       | Acridonea | Dimetridazole | Ronidazole | Albendazole | Levamisole | Ranitidine | Famotidin | Cimetidine | Diltiazem | Iopromide | Xylazine |
|-----------------------------|-----------|---------------|------------|-------------|------------|------------|-----------|------------|-----------|-----------|----------|
| Zlatica/Smokovac            | < LOD     | < LOD         | < LOD      | < LOD       | < LOD      | < LOD      | < LOD     | < LOD      | < LOD     | < LOD     | < LOD    |
| Vukovci                     | < LOD     | < LOD         | < LOD      | < LOD       | < LOD      | < LOD      | < LOD     | < LOD      | < LOD     | 119,2     | < LOD    |
| Lijevi krak rijeke Morače   | < LOD     | < LOD         | < LOD      | < LOQ       | < LOQ      | < LOD      | < LOD     | < LOD      | < LOD     | 209,68    | < LOD    |
| Desni krak rijeke Morače    | < LOD     | < LOD         | < LOD      | < LOQ       | < LOQ      | < LOD      | < LOD     | < LOD      | < LOD     | 177,93    | < LOD    |
| „Kraljeva glavica“-Vranjina | < LOD     | < LOD         | < LOD      | < LOQ       | < LOQ      | < LOD      | < LOD     | < LOD      | < LOD     | < LOD     | < LOD    |
| „Tanki rt“ – ispod mosta    | < LOD     | < LOD         | < LOD      | < LOD       | < LOD      | < LOD      | < LOD     | < LOD      | < LOD     | < LOD     | < LOD    |
| LOD                         | 1,68      | 3,27          | 1,44       | 0,72        | 3,42       | 0,62       | 0,15      | 0,42       | 0,31      | 4,26      | 1,41     |
| LOQ                         | 5,60      | 10,90         | 4,80       | 2,39        | 11,41      | 2,02       | 0,49      | 1,41       | 1,04      | 14,2      | 4,69     |
| „zimsko uzorkovanje“        | Acridonea | Dimetridazole | Ronidazole | Albendazole | Levamisole | Ranitidine | Famotidin | Cimetidine | Diltiazem | Iopromide | Xylazine |
| Zlatica/Smokovac            | < LOD     | < LOD         | < LOD      | < LOD       | < LOD      | < LOD      | < LOD     | < LOD      | < LOD     | < LOD     | < LOD    |
| Vukovci                     | < LOD     | < LOD         | < LOD      | < LOD       | < LOD      | < LOD      | < LOD     | < LOD      | < LOD     | < LOD     | < LOD    |
| Lijevi krak rijeke Morače   | < LOD     | < LOD         | < LOD      | < LOQ       | < LOQ      | < LOD      | < LOD     | < LOD      | < LOD     | < LOD     | < LOD    |
| Desni krak rijeke Morače    | < LOD     | < LOD         | < LOD      | < LOQ       | < LOQ      | < LOD      | < LOD     | < LOD      | < LOD     | < LOD     | < LOD    |
| „Kraljeva glavica“-Vranjina | < LOD     | < LOD         | < LOD      | < LOQ       | < LOQ      | < LOD      | < LOD     | < LOD      | < LOD     | < LOD     | < LOD    |
| „Tanki rt“ – ispod mosta    | < LOD     | < LOD         | < LOD      | < LOD       | < LOD      | < LOD      | < LOD     | < LOD      | < LOD     | < LOD     | < LOD    |

Tabelarnim prikazom vode istraživanih lokaliteta za vrijeme „ljetnjeg“ i „zimskog“ uzorkovanja (Tab. 20) uočava se da je na svim lokalitetima koncentracija: antiviretika, antihelmitika, lijekova za stomachne i želudačne tjegebe, anestetika i kontrasta bila ispod detektvanog limita. LOD za predstavnika antivirotika (Acridonea), iznosio je 1,68 ng L<sup>-1</sup>. LOD za grupu antihelmitika je bio različit, pa je za lijek (Albendazole) npr. bio 0,72 ng L<sup>-1</sup>.

Za lijek Iopromide, koji predstavlja lijek koji se kao kontrast ubrizgava tokom ispitivanja X-zracima LOD je bio 4,26 ng L<sup>-1</sup>. Ovaj lijek (tabela 20) je detektovan na lokalitetima Vukovci, „Lijevi krak“ rijeke Morače i „Desni krak“ rijeke Morače. Vrijednosti Iopromide na lokalitetu Vukovci iznosila 119,2 ng L<sup>-1</sup>, na lokalitetu „Lijevi krak“ rijeke Morače 209,68 ng L<sup>-1</sup>, dok je na lokalitetu „Desni krak“ rijeke Morače izmjerena vrijednost iznosila 177,93 ng L<sup>-1</sup>.

Prema (www.calims.me) najviše korišćeni lijek u Crnoj Gori je acetilsalicilna kiselina, prate je bromazepan-lijek za smirenje i eritromicin antibiotik.

*Tabela 21: Rezultati ispitivanja koncentracije PhAC (antidepresivi) u vodama istraživanih lokacija tokom "ljetnjeg" i "zimskog" istraživanja a tokom 2017.-2018. godine.*

| "ljetnje uzorkovanje"        | Sertraline | Citalopram | Venlafaxine | Olanzapine | Trazodon | Fluoxetine | Norfluoxetine | Paroxetine | Diazepam | Lorazepam | Aprazolam |
|------------------------------|------------|------------|-------------|------------|----------|------------|---------------|------------|----------|-----------|-----------|
| Zlatica/Smokovac             | < LOD      | < LOD      | < LOD       | n a        | < LOD    | < LOD      | < LOD         | < LOD      | < LOD    | < LOD     | < LOD     |
| Vukovci                      | < LOD      | < LOD      | < LOD       | n a        | < LOD    | < LOD      | < LOD         | < LOD      | < LOD    | < LOD     | < LOD     |
| Lijevi krak rijeke Morače    | < LOD      | < LOD      | < LOD       | n a        | < LOD    | < LOD      | < LOD         | < LOD      | < LOD    | < LOD     | < LOD     |
| Desni krak rijeke Morače     | < LOD      | < LOD      | < LOD       | n a        | < LOD    | < LOD      | < LOD         | < LOD      | < LOD    | < LOD     | < LOD     |
| " Kraljeva glavica"- Vranjin | < LOD      | < LOD      | < LOD       | n a        | < LOD    | < LOD      | < LOD         | < LOD      | < LOD    | < LOD     | < LOD     |
| „Tanki rt“ – ispod mosta     | < LOD      | < LOD      | < LOD       | n a        | < LOD    | < LOD      | < LOD         | < LOD      | < LOD    | < LOD     | < LOD     |
| LOD                          | 3,92       | 1,54       | n.a.        | n a        | 1,37     | 0,22       | 1,66          | 1,33       | 3,02     | 3,22      | 4,05      |
| LOQ                          | 13,07      | 5,14       | n a         | n a        | 4,46     | 0,22       | 5,53          | 4,43       | 10,06    | 10,72     | 13,48     |
| "zimsko uzorkovanje"         | Sertraline | Citalopram | Venlafaxine | Olanzapine | Trazodon | Fluoxetine | Norfluoxetine | Paroxetine | Diazepam | Lorazepam | Aprazolam |
| Zlatica/Smokovac             | < LOD      | < LOD      | < LOD       | n a        | < LOD    | < LOD      | < LOD         | < LOD      | < LOD    | < LOD     | < LOD     |
| Vukovci                      | < LOD      | < LOD      | < LOD       | n a        | < LOD    | < LOD      | < LOD         | < LOD      | < LOD    | < LOD     | < LOD     |
| Lijevi krak rijeke Morače    | < LOD      | < LOD      | < LOD       | n a        | < LOD    | < LOD      | < LOD         | < LOD      | < LOD    | < LOD     | < LOD     |
| Desni krak rijeke Morače     | < LOD      | < LOD      | < LOD       | n a        | < LOD    | < LOD      | < LOD         | < LOD      | < LOD    | < LOD     | < LOD     |
| " Kraljeva glavica"- Vranjin | < LOD      | < LOD      | < LOD       | n a        | < LOD    | < LOD      | < LOD         | < LOD      | < LOD    | < LOD     | < LOD     |
| „Tanki rt“ – ispod mosta     | < LOD      | < LOD      | < LOD       | n a        | < LOD    | < LOD      | < LOD         | < LOD      | < LOD    | < LOD     | < LOD     |

Tokom ovog istraživanja na ukupno 6 lokaliteta, u toku "ljetnjeg" i "zimskog" aspekta visine i hemizma vodenog stuba ispitano je prisustvo 11 vrsta antidepresiva, koji su analizirani u tripletu, što ukupno čini 396 ispitivanja. Na osnovu tabela 21 konstatujemo da u uzorcima voda ispitivani antidepresivi nisu dokazani, a da su vrijednosti bile ispod limita detekcije (<LOD), odnosno, za Olanzapine vrijednosti nisu primjenjive (n.a). Ustanovljene vrijednosti LOD-a kretale su se od 0,22 ng L<sup>-1</sup> do 4,05 ng L<sup>-1</sup>, dok se za lijekove Venlafaxina i Olanzapina nije mogao izračunati.

Pregledom tabele (tabela 22) vidimo da ni jedan od ispitivanih antibiotika (Cefaleksin, Eritromicin, Azitromicin, Tetraciklin, Ofloksacin, Ciprofloksacin, Sulfametoksazol, Trimetoprim, Metronidazol, Metronidazol-OH) nije identifikovan u uzorcima vode tokom istraživanja. Uzorci vode sa svih lokacija analizirani su i za uzorkovanja tokom vremena niskih i visokih voda, na ukupno 11 najčešće korišćenih antibiotika, počevši od cefaleksina antibiotika druge generacije, pa do ciprofloksacina antibiotika najnovije generacije. Svi dobijeni rezultati uzoraka voda nalazili su se ispod LOD-a, limita detekcije.

*Tabela 22: Rezultati ispitivanja koncentracije PhAC (antibiotici) u vodama istraživanih lokacija tokom "ljetnjeg" i "zimskog" istraživanja a tokom 2017.-2018. godine.*

| "ljetnje uzorkovanje"        | Cefalexin | Erythromycin | Azithromycin | Clarithromycin | Tetracycline | Ofloxacin | Ciprofloxacin | Sulfamethoxazole | Trimethoprim | Metronidazole | Metronidazole-OH |
|------------------------------|-----------|--------------|--------------|----------------|--------------|-----------|---------------|------------------|--------------|---------------|------------------|
| Zlatica/Smokovac             | < LOD     | < LOD        | < LOD        | < LOD          | < LOD        | < LOD     | < LOD         | < LOD            | < LOD        | < LOD         | < LOD            |
| Vukovci                      | < LOD     | < LOD        | < LOD        | < LOD          | < LOD        | < LOD     | < LOD         | < LOD            | < LOD        | < LOD         | < LOD            |
| Lijevi krak rijeke Morače    | < LOD     | < LOD        | < LOD        | < LOQ          | < LOQ        | < LOD     | < LOD         | < LOD            | < LOD        | < LOD         | < LOD            |
| Desni krak rijeke Morače     | < LOD     | < LOD        | < LOD        | < LOQ          | < LOQ        | < LOD     | < LOD         | < LOD            | < LOD        | < LOD         | < LOD            |
| " Kraljeva glavica"-Vranjina | < LOD     | < LOD        | < LOD        | < LOQ          | < LOQ        | < LOD     | < LOD         | < LOD            | < LOD        | < LOD         | < LOD            |
| „Tanki rt“ – ispod mosta     | < LOD     | < LOD        | < LOD        | < LOD          | < LOD        | < LOD     | < LOD         | < LOD            | < LOD        | < LOD         | < LOD            |
| LOD                          | 11,38     | 3,39         | 8,18         | 1,01           | n.a.         | 0,97      | 6,07          | 1,63             | 1,08         | 1,02          | 0,28             |
| LOQ                          | 37,93     | 11,30        | 27,28        | 3,38           | n.a.         | 3,23      | 20,25         | 5,45             | 3,61         | 3,41          | 0,92             |
| "zimsko uzorkovanje"         | Cefalexin | Erythromycin | Azithromycin | Clarithromycin | Tetracycline | Ofloxacin | Ciprofloxacin | Sulfamethoxazole | Trimethoprim | Metronidazole | Metronidazole-OH |
| Zlatica/Smokovac             | < LOD     | < LOD        | < LOD        | < LOD          | < LOD        | < LOD     | < LOD         | < LOD            | < LOD        | < LOD         | < LOD            |
| Vukovci                      | < LOD     | < LOD        | < LOD        | < LOD          | < LOD        | < LOD     | < LOD         | < LOD            | < LOD        | < LOD         | < LOD            |
| Lijevi krak rijeke Morače    | < LOD     | < LOD        | < LOD        | < LOQ          | < LOQ        | < LOD     | < LOD         | < LOD            | < LOD        | < LOD         | < LOD            |
| Desni krak rijeke Morače     | < LOD     | < LOD        | < LOD        | < LOQ          | < LOQ        | < LOD     | < LOD         | < LOD            | < LOD        | < LOD         | < LOD            |
| " Kraljeva glavica"-Vranjina | < LOD     | < LOD        | < LOD        | < LOQ          | < LOQ        | < LOD     | < LOD         | < LOD            | < LOD        | < LOD         | < LOD            |
| „Tanki rt“ – ispod mosta     | < LOD     | < LOD        | < LOD        | < LOD          | < LOD        | < LOD     | < LOD         | < LOD            | < LOD        | < LOD         | < LOD            |

Čovjek savremenog doba, najčešće je pod stresom, sa malo fizičke aktivnosti ali i nepravilnom ishranom. Sve navedeno su poznati činioci za kardiovaskularna oboljenja koja se mogu prepoznati npr. povećanim pritiskom, bolovima u srcu, hipertenzijom ili aritmijom. Upravu tu vrstu lijekova ovo istraživanje je imalo za cilj da utvrdi. Rezultati istraživanja prikazani su i za "ljetnji" i "zimski" aspekt tabelom 23.

Tabela 23: Rezultati ispitivanja koncentracije PhAC (lijekovi kardiovaskularnih oboljenja) u vodama istraživanih lokacija tokom "ljetnjeg" i "zimskog" istraživanja a tokom 2017.-2018. godine.

| "ljetnje uzorkovanje"        | Losartan | Valsartan | Atorvastatin | Fluvastatin | Ibuprofen | Pravastatin | Amlodipine | Verapamil | Norverapamil | Atenolol | Sotalol | Propranolol | Metoprolol | Nadolol | Carazolol |
|------------------------------|----------|-----------|--------------|-------------|-----------|-------------|------------|-----------|--------------|----------|---------|-------------|------------|---------|-----------|
| Zlatica/Smokovac             | < LOD    | < LOD     | < LOD        | < LOD       | < LOD     | < LOD       | < LOD      | < LOD     | < LOD        | < LOD    | < LOD   | < LOD       | < LOD      | < LOD   | < LOD     |
| Vukovci                      | < LOD    | < LOD     | < LOD        | < LOD       | < LOD     | < LOD       | < LOD      | < LOD     | < LOD        | < LOD    | < LOD   | < LOD       | < LOD      | < LOD   | < LOD     |
| Lijevi krak rijeke Morače    | < LOD    | < LOD     | < LOD        | < LOD       | < LOD     | < LOD       | < LOD      | < LOD     | < LOD        | < LOD    | < LOD   | < LOD       | < LOD      | < LOD   | < LOD     |
| Desni krak rijeke Morače     | < LOD    | < LOD     | < LOD        | < LOD       | < LOD     | < LOD       | < LOD      | < LOD     | < LOD        | < LOD    | < LOD   | < LOD       | < LOD      | < LOD   | < LOD     |
| " Kraljeva glavica"-Vranjina | < LOD    | < LOD     | < LOD        | < LOD       | < LOD     | < LOD       | < LOD      | < LOD     | < LOD        | < LOD    | < LOD   | < LOD       | < LOD      | < LOD   | < LOD     |
| „Tanki rt“ – ispod mosta     | < LOD    | < LOD     | < LOD        | < LOD       | < LOD     | < LOD       | < LOD      | < LOD     | < LOD        | < LOD    | < LOD   | < LOD       | < LOD      | < LOD   | < LOD     |
| LOD                          | 0,86     | 3,47      | 1,44         | 3,14        | 1,07      | 4,71        | 0,56       | 1,20      | 0,81         | 2,45     | 0,81    | 0,88        | 0,98       | 1,60    | 0,67      |
| LOQ                          | 2,89     | 11,57     | 4,81         | 10,47       | 3,58      | 15,70       | 1,87       | 4,01      | 2,70         | 8,17     | 2,71    | 2,95        | 3,27       | 5,32    | 2,22      |
| "zimsko uzorkovanje"         | Losartan | Valsartan | Atorvastatin | Fluvastatin | Ibuprofen | Pravastatin | Amlodipine | Verapamil | Norverapamil | Atenolol | Sotalol | Propranolol | Metoprolol | Nadolol | Carazolol |
| Zlatica/Smokovac             | < LOD    | < LOD     | < LOD        | < LOD       | < LOD     | < LOD       | < LOD      | < LOD     | < LOD        | < LOD    | < LOD   | < LOD       | < LOD      | < LOD   | < LOD     |
| Vukovci                      | < LOD    | < LOD     | < LOD        | < LOD       | < LOD     | < LOD       | < LOD      | < LOD     | < LOD        | < LOD    | < LOD   | < LOD       | < LOD      | < LOD   | < LOD     |
| Lijevi krak rijeke Morače    | < LOD    | < LOD     | < LOD        | < LOD       | < LOD     | < LOD       | < LOD      | < LOD     | < LOD        | < LOD    | < LOD   | < LOD       | < LOD      | < LOD   | < LOD     |
| Desni krak rijeke Morače     | < LOD    | < LOD     | < LOD        | < LOD       | < LOD     | < LOD       | < LOD      | < LOD     | < LOD        | < LOD    | < LOD   | < LOD       | < LOD      | < LOD   | < LOD     |
| " Kraljeva glavica"-Vranjina | < LOD    | < LOD     | < LOD        | < LOD       | < LOD     | < LOD       | < LOD      | < LOD     | < LOD        | < LOD    | < LOD   | < LOD       | < LOD      | < LOD   | < LOD     |
| „Tanki rt“ – ispod mosta     | < LOD    | < LOD     | < LOD        | < LOD       | < LOD     | < LOD       | < LOD      | < LOD     | < LOD        | < LOD    | < LOD   | < LOD       | < LOD      | < LOD   | < LOD     |

Na osnovu rezultata prikazanih u tabeli 23, možemo da konstatujemo da su se koncentracije svih ispitivanih lijekova u vodi nalazile ispod limita detekcije. Limiti detekcije kretali su se od 0,56 ngL<sup>-1</sup> do 3,47 ngL<sup>-1</sup>.

Sporadično i rijetno nalaženje lijekova u vodi istraživanih lokaliteta, u toku zimskog i ljetnjeg istraživanja potvrdila je grupa lijekova NSAID (Nesteroidni antiinflamatorni lekovi).

Na osnovu Tab. 24, možemo da konstatujemo da su i u toku "ljetnjeg" i u toku "zimskog" istraživanja na ispitivanim lokacijama dokazani lijekovi Acetaminofen i Salicylic acid (salicilne kisjeline). Iz tabele 5.7. n konstatujemo da se u ljeto 2017. godine na lokalitetima: Vukovci Acetaminophen (acetaminofen-paracetamol) nalazio u koncentraciji (6,02 ngL<sup>-1</sup>), na lokalitetu "Lijevi krak" rijeke Morače u koncentraciji (8,62 ngL<sup>-1</sup>) i na lokalitetu "Desni krak" rijeke Morače u koncentraciji (5,82 nL<sup>-1</sup>). LOD za Acetaminophen je izračunat i iznosio je (0,86 ngL<sup>-1</sup>).

U toku „ljetnjeg” ispitivanja za ostala tri lokaliteta su zabilježile vrijednosti ispod LOD-a, odnosno ispod ( $0,86 \text{ ngL}^{-1}$ ).

Na osnovu iste tabele (24) uočavamo da je prisustvo Salicylic acid (salicilne kiseline) dokazano na svim lokalitetima pa i na „nultoj tački”. LOD za ovaj lijek iznosio je ( $1,14 \text{ ngL}^{-1}$ ), dok se izračunata koncentracija lijeka u uzorcima vode na lokalitetima kretala od maksimalnih ( $21,15 \text{ ngL}^{-1}$ ) na lokalitetu „Lijevi krak” rijeke Morače, do minimalnih ( $8,3 \text{ ngL}^{-1}$ ) na lokalitetu „Kraljeva glavica”-Vranjina. Prisustvo ibuprofena, diklofena, naproksena i ostalih devet nesteroidnih antiinflamatornih lijekova u vodama ispitivanih lokaliteta nije dokazano.

Tabela 24: Rezultati ispitivanja koncentracije PhAC (NSAID) u vodama istraživanih lokacija tokom „ljetnjeg” i „zimskog” istraživanja a tokom 2017.-2018. godine.

|                             | Acetaminophen | Salicylic acid | Ibuprofen | Ketoprofen | Bezafibrate | Gemfibrozil | Naproxen | Diclofenac | Meloxicam | Piroxicam | Tenoxicam | Indomethacin | Phenazone | Propyphenazone |
|-----------------------------|---------------|----------------|-----------|------------|-------------|-------------|----------|------------|-----------|-----------|-----------|--------------|-----------|----------------|
| Zlatica/Smokovac            | < LOD         | 19,58          | < LOD     | < LOD      | < LOD       | < LOD       | < LOD    | < LOD      | < LOD     | < LOD     | < LOD     | < LOD        | < LOD     | < LOD          |
| Vukovci                     | 6,02          | 15,98          | < LOD     | < LOD      | < LOD       | < LOD       | < LOD    | < LOD      | < LOD     | < LOD     | < LOD     | < LOD        | < LOD     | < LOD          |
| Lijevi krak rijeke Morače   | 8,62          | 21,15          | < LOD     | < LOD      | < LOD       | < LOD       | < LOD    | < LOD      | < LOD     | < LOD     | < LOD     | < LOD        | < LOD     | < LOD          |
| Desni krak rijeke Morače    | 5,82          | 17,7           | < LOD     | < LOD      | < LOD       | < LOD       | < LOD    | < LOD      | < LOD     | < LOD     | < LOD     | < LOD        | < LOD     | < LOD          |
| „Kraljeva glavica”-Vranjina | < LOD         | 8,3            | < LOD     | < LOD      | < LOD       | < LOD       | < LOD    | < LOD      | < LOD     | < LOD     | < LOD     | < LOD        | < LOD     | < LOD          |
| „Tanki rt” – ispod mosta    | < LOD         | 14,23          | < LOD     | < LOD      | < LOD       | < LOD       | < LOD    | < LOD      | < LOD     | < LOD     | < LOD     | < LOD        | < LOD     | < LOD          |
| LOD                         | 0,95          | 1,14           | 10,27     | 23,55      | 2,03        | 4,72        | 13,27    | 4,55       | 2,76      | 1,45      | 0,59      | 5,55         | 3,66      | 1,51           |
| LOQ                         | 3,16          | 3,79           | 34,23     | 78,49      | 6,76        | 15,73       | 44,22    | 15,16      | 9,19      | 4,83      | 1,95      | 18,50        | 12,19     | 5,02           |
|                             | Acetaminophen | Salicylic acid | Ibuprofen | Ketoprofen | Bezafibrate | Gemfibrozil | Naproxen | Diclofenac | Meloxicam | Piroxicam | Tenoxicam | Indomethacin | Phenazone | Propyphenazone |
| Zlatica/Smokovac            | 1,91          | 11,22          | < LOD     | < LOD      | < LOD       | < LOD       | < LOD    | < LOD      | < LOD     | < LOD     | < LOD     | < LOD        | < LOD     | < LOD          |
| Vukovci                     | < LOD         | 12,72          | < LOD     | < LOD      | < LOD       | < LOD       | < LOD    | < LOD      | < LOD     | < LOD     | < LOD     | < LOD        | < LOD     | < LOD          |
| Lijevi krak rijeke Morače   | 7,37          | 25,13          | < LOD     | < LOD      | < LOD       | < LOD       | < LOD    | < LOD      | < LOD     | < LOD     | < LOD     | < LOD        | < LOD     | < LOD          |
| Desni krak rijeke Morače    | 6,87          | 12,09          | < LOD     | < LOD      | < LOD       | < LOD       | < LOD    | < LOD      | < LOD     | < LOD     | < LOD     | < LOD        | < LOD     | < LOD          |
| „Kraljeva glavica”-Vranjina | 3,63          | 24,64          | < LOD     | < LOD      | < LOD       | < LOD       | < LOD    | < LOD      | < LOD     | < LOD     | < LOD     | < LOD        | < LOD     | < LOD          |
| „Tanki rt” – ispod mosta    | 5,68          | 31,04          | < LOD     | < LOD      | < LOD       | < LOD       | < LOD    | < LOD      | < LOD     | < LOD     | < LOD     | < LOD        | < LOD     | < LOD          |

U vrijeme visokih voda, zbog miješanja voda, visokog dodostaja, podizanja PhAC iz sedimenta, i pseudorezistencije kao izuzetno značajne osobine, koncentracije Acetaminophen i Salicylic acid su znatno uvećane (Tab. 24). Na osnovu pomenute tabele vidimo da se u toku „zimskog” uzorkovanja na se lokalitetu Vukovci prisusvo Acetaminophen-a gubi, odnosno, njegova koncentracija biva ispod granice detekcije.

Iz tabele 24, vidimo da je na ostalih pet lokacija najniža koncentracija zabilježena na lokalitetu Zlatica/Smokovac ( $1,91 \text{ ngL}^{-1}$ ), a najviša na lokalitetu „Desni” krak rijeke Morače ( $6,87 \text{ ngL}^{-1}$ ). Prisustvo salicilne kiseline dokazano je na svih šest lokaliteta, a njena koncentracija u analiziranim uzorcima vode kretala se od maksimalne ( $30,04 \text{ ngL}^{-1}$ ) na lokalitetu „Tanki rt”-ispod mosta do minimalne koncentracije od ( $1,22 \text{ ngL}^{-1}$ ), na lokalitetu Zlatica/Smokovac.

Tokom ovog istraživanja uzorci vode su analizirani i na prisustvo kortikosteroida (Deksametazon), diuretike (Furosemid, Hidrohlorotiazid i Torasemid).

Uzorci su takođe analizirani i na prisustvo Tamsulosin-lijek protiv uvećanja prostate, kao i na prisustvo antitrombocida/antikoagulant (Klopidogrel i Varfarin), antidijabetik (Glibenclamide). Rezultati „ljetnjeg” i „zimskog” uzorkovanja predstavljeni su tabelom 25.

Tabela 25: Rezultati ispitivanja koncentracije PhAC (kortikosteroidi, diuretici, lijekovi za liječenje uvećanja prostate, antikoagulant, antidiabetici) u vodama istraživanih lokacija tokom „ljetnjeg” i „zimskog” istraživanja a tokom 2017.-2018. godine.



| "ljetnje uzorkovanje"        | Dexamethasone | Furosemid | Hydrochlorothiazide | Torsemide | Tamsulosin | Clopidogrel | Warfarin | Glibenclamide |
|------------------------------|---------------|-----------|---------------------|-----------|------------|-------------|----------|---------------|
| Zlatica/Smokovac             | < LOD         | < LOD     | < LOD               | < LOD     | < LOD      | < LOD       | < LOD    | < LOD         |
| Vukovci                      | < LOD         | < LOD     | < LOD               | < LOD     | < LOD      | < LOD       | < LOD    | < LOD         |
| Lijevi krak rijeke Morače    | < LOD         | < LOD     | < LOD               | < LOD     | < LOD      | < LOD       | < LOD    | < LOD         |
| Desni krak rijeke Morače     | < LOD         | < LOD     | < LOD               | < LOD     | < LOD      | < LOD       | < LOD    | < LOD         |
| " Kraljeva glavica"-Vranjina | < LOD         | < LOD     | < LOD               | < LOD     | < LOD      | < LOD       | < LOD    | < LOD         |
| „Tanki rt” – ispod mosta     | < LOD         | < LOD     | < LOD               | < LOD     | < LOD      | < LOD       | < LOD    | < LOD         |
| LOD                          | 2,42          | 10,90     | 2,18                | 1,46      | 1,47       | 2,13        | 1,97     | 2,4           |
| LOQ                          | 8,07          | 36,32     | 7,25                | 4,85      | 4,91       | 7,10        | 6,58     | 8             |
| "zimsko uzorkovanje"         | Dexamethasone | Furosemid | Hydrochlorothiazide | Torsemide | Tamsulosin | Clopidogrel | Warfarin | Glibenclamide |
| Zlatica/Smokovac             | < LOD         | < LOD     | < LOD               | < LOD     | < LOD      | < LOD       | < LOD    | < LOD         |
| Vukovci                      | < LOD         | < LOD     | < LOD               | < LOD     | < LOD      | < LOD       | < LOD    | < LOD         |
| Lijevi krak rijeke Morače    | < LOD         | < LOD     | < LOQ               | < LOD     | < LOD      | < LOD       | < LOD    | < LOD         |
| Desni krak rijeke Morače     | < LOD         | < LOD     | < LOQ               | < LOD     | < LOD      | < LOD       | < LOD    | < LOD         |
| " Kraljeva glavica"-Vranjina | < LOD         | < LOD     | < LOQ               | < LOD     | < LOD      | < LOD       | < LOD    | < LOD         |
| „Tanki rt” – ispod mosta     | < LOD         | < LOD     | < LOD               | < LOD     | < LOD      | < LOD       | < LOD    | < LOD         |

Pregledom rezultata prikazanih u (tab. 25) možemo da vidimo da su sve izračunate vrijednosti bile ispod nivoa detekcije. Izuzetak predstavlja „zimsko“ ispitivanje za lijek Hidrochlorotiazida za lokalitete: Lijevi i Desni krat rijeke Morače i „Tanki rt“ – ispod mosta, gdje su vrijednosti ispod limita kvalifikacije, odnosno <LOQ.

## 5.8 REZULTATI HQ

Water Framework Directive (Okvirna direktiva EU o vodama 200/60/EC) smatra da sve dobijene vrijednosti HQ ispod 0,01 nemaju uticaja, nijesu rizične za akvatične organizme.

Potencijani ekološki rizik, u odnosu na ispitivane farmaceutike u vodi, izračunat je preko odnosa dobijene koncentracije iz uzorka i poznate koncentracije date iz (NORMAN network) odnosno preko indeksa HQ. PNEC za Acetaminofen (paracetamol) je izračunat za slatku vodu prema ECHA DOSSIER (03/2018), dok je PNEC za Salicilnu kiselinu izračunat na vrsti *Daphnia longispina* a prema izvoru Aquire 111312.

U toku ovog istraživanja samo za farmaceutike iz reda NSAID, možemo da tvrdimo sa sigurnošću da su konstantni, pa je stoga i HQ izračunat za njih, a rezultati prikazani tabelarno (tab. 26).

*Tabela 26: HQ indeks za PhAC (NSAID) tokom istraživanja 2017.-2018. godine*

| ljetnje                      | Acetaminophen | Salicylic acid | zimsko                       | Acetaminophen | Salicylic acid |
|------------------------------|---------------|----------------|------------------------------|---------------|----------------|
| Zlatica/Smokovac             | 0,001         | 0,006          | Zlatica/Smokovac             | 0             | 0,001          |
| Vukovci                      | 0             | 0,007          | Vukovci                      | 0,0044        | 0,008          |
| Lijevi krak rijeke Morače    | 0,0055        | 0,001          | Lijevi krak rijeke Morače    | 0,0064        | 0,001          |
| Desni krak rijeke Morače     | 0,005         | 0,006          | Desni krak rijeke Morače     | 0,0043        | 0,009          |
| " Kraljeva glavica"-Vranjina | 0,002         | 0,001          | " Kraljeva glavica"-Vranjina | 0             | 0,004          |
| „Tanki rt” – ispod mosta     | 0,004         | 0,001          | „Tanki rt” – ispod mosta     | 0             | 0,007          |

Uvidom u tabelu 26, vidimo da su vrijednosti HQ za Acetaminophen (Acetaminofen-Paracetamol) za lokalitet Zlatica-Smokovac u toku ljetnjeg perioda bile 0,001 a u toku zime 0 tj, nije identifikovano prisustvo ovog lijeka. Na osnovu tabele 26 za isti lokalitet, vidimo da je HQ za lijek Salicylic acid (Salicilna kisjelina-Aspirin) u "ljetnjem" uzorkovanju imao vrijednost 0,006; dok je tokom "zimskog" uzorkovanja HQ indeks iznosio 0,001.

Iz iste tabele vidimo da se zbog ne identifikovanja prisustva Acetaminophen-a nije bilo moguće ni izračunati HQ za lokalitet Vukovci za „ljetnje“ uzorkovanje. HQ je za „zimsko“ uzorkovanje iznosio 0,0044.

Vrijednost HQ za salicilnu kisjelinu za ljetnje ispitivanje za lokalitet Vukovci bila je 0,007; a za zimsko ispitivanje 0,008.

Izuzetno su niske vrijednosti HQ i za lokalitete "Lijevi" i "Desni" krak rijeke Morače, i kreću se od 0,005 za Acetaminofen tokom ljeta, do 0,0064; odnosno, 0,0043 tokom zime.

Tabelom 26, prikazano je da je HQ za Salicilnu kisjelinu za lokalitet "Lijevi" krak rijeke Morače i za "zimsko" i za "ljetnje" uzorkovanje iznosio je 0,001. Za lokalitet "Desni" krak rijeke Morače iznosio je 0,006 za ljetnje, odnosno 0,009 za zimsko ispitivanje.

Na osnovu tabele 26, zaključujemo da postoji mala razlika u vrijednostima HQ za lokalitete "Kraljeva glavica"-Vranjina i "Tanki rt"-ispod mosta, kako za Acetaminofen tako i za Salicilnu kisjelinu.

Za lokalitet „Kraljeva glavica“-Vranjina tokom "ljetnjeg" uzorkovanja HQ za Acetaminofen 0,02 a za lokalitet "Tanki rt"-ispod mosta, za taj isti period 0,04. Tokom "zimskog" uzorkovanja pomenuti lijek nije dokazan (<LOD) pa stoga nije bilo moguće ni utvrditi HQ.

Potencijani ekološki rizik, izražen HQ-om, za istraživane lokalitete "Kraljeva glavica"-Vranjina i "Tanki rt"-ispod mosta trebalo je da dokazati i za lijek Salicilna kisjelina. HQ je za oba lokaliteta za vrijeme "ljetnjeg" uzorkovanja iznosio 0,001, dok je tokom "zimskog" uzorkovanja njegova vrijednost za lokalitet "Kraljeva glavica"-Vranjina iznosio 0,004 a za lokalitet "Tanki rt"-ispod mosta 0,007.



## 6. DISKUSIJA

Lokaliteti obuhvaćeni ovim istraživanjima predstavljaju posebne dionice rijeke Morače (Zlatica-Smokovac, Vukovci, „Lijevi krak rijeke Morače“, „Desni krak rijeke Morače“) i Skadarskog jezera („Kraljeva glavica“ Vranjina i „Tanki rt“-ispod mosta Jezero). Ovi lokaliteti zajedno su profili koji se tokom svake ljetnje sezone, izuzev lokaliteta „Lijevi krak rijeke Morače“ i „Desni krak rijeke Morače“ ispituju od strane Ministarstva ekologije i zaštite životne sredine. Za potrebe Ministarstva istraživanja vrši Hidrometerološki zavod. Međutim, od strane pomenutog Ministarstva i Zavoda, mjerodavne vrijednosti kvaliteta vode, (Uredba o klasifikaciji i kategorizaciji voda „Sl list RCG 15/97“) obuhvataju vremenski period od juna do oktobra, tako da ne postoje podaci koji se tiču „zimskog“ aspekta te je prosto nemoguće izvesti zaključak o stanju kvaliteta vode u toku godišnjeg ciklusa voda.

Vode pomenutih lokacija istraživane su prema postavljenim ciljevima istraživanja u toku 2013.-2018. godine.

U cilju sagledavanja distribucije i populacione brojnosti ispitivanih grupa bakterija u vodi istraživanih lokaliteta, kao i u cilju određivanja kvaliteta vode na ispitivanim lokalitetima Morače i Skadarskog jezera paralelno su vršena i fizičko-hemijska istraživanja po sljedećim parametrima: temperatura vode i vazduha, pH, elektrolitička provodljivost, utrošak  $\text{KMnO}_4$ , određivana je koncentracija nitrata i nitrita u vodi, kao i hlorida, fluorida, rastvorenog kiseonika u vodi, zasićenost vode kiseonikom i biološka potrošnja kiseonika u vodi ( $\text{BPK}_5$ ).

Temperatura vode je jedan od značajnih faktora koji utiču na kvantitativni i kvalitativni sastav i brojnost bakterijskih populacija. Na osnovu prikazanih rezultata (tabele 2, 3, 4 i 5) istraživani lokaliteti nisu bili izloženi većim temperaturnim variranjima, izuzetak je lokalitet Zlatica/Smokovac. Takođe, su podložni uticaju niza abiotičkih i biotičkih činilaca sredine kao što su: temperatura vazduha, količina padavina, obraslost obala biljkama, prisutnost mikroalgi, kao i antropogeni uticaj.

Relativno neujednačena temperatura vode, kao abiotički faktor za razvoj organizama, osnovni je uzrok velikog sezonskog variranja u brojnosti istraživanih grupa mikroorganizama.

Temperatura vode u toku „zimskog“ aspekta ispitivanja pokazala je jedino odstupanje u, na lokaciji Zlatica/Smokovac, pa je maksimalna temperatura vode za ovaj period na toj lokaciji  $13^{\circ}\text{C}$  i to u novembru 2017. godina, a najniža u januaru te iste godine  $3^{\circ}\text{C}$ . Temperaturne razlike za „ljetnji period“ vode na lokaciji Zlatica/Smokovac jedino je evidentna u toku majskog istraživanja kada je bila za  $5^{\circ}\text{C}$  niža u odnosu na ostale lokalitete. Temperatura vode za lokalitet „Kraljeva glavica“ Vranjina u toku „zimskog režima“ voda kretala se od  $5,2^{\circ}\text{C}$ - $18,2^{\circ}\text{C}$ .

Temperatura vode prvenstveno zavisi od spoljašnje temperature vazduha, dubine na kojoj se vrši uzorkovanje, ali na nju takođe ima uticaj i količina reasorbovanih čestica u njoj (Otieno et al., 2017). Variranje temperatura vode je očekivano i u zavisnosti je od spoljašnjih faktora (Boyd & Lichtkoppler (1979) ali je izuzetno važno da se temperatura vode u slatkovodnim sistemima kreće u granicama koje su vezane za metaboličku aktivnost živućih organizama posebno riba.

Hemijski sastav vode zavisi od geološko-klimatskih uslova, biohemijske aktivnosti biološke komponente u ekosistemu, kao i od direktnog i indirektnog antropogenog uticaja, čija uloga i djelovanje na kvalitet vode postaju sve aktuelniji (Radonjić 2006). Pregledom fizičko-hemijskih rezultata voda istraživanih lokacija, tokom 2017.-2018. godine kontatujemo da je saturacija kiseonikom tokom sveukupnog istraživanja velika. I u toku „ljetnjeg režima“ vode ispitivanih lokacija bile su saturisane kiseonikom i uglavnom su se kretale preko 100% zasićenja sa kiseonikom. Kiseonik se nalazi u vodi u rastvorenom stanju. Iz atmosfere dopijeva apsorpcijom, a u vodi nastaje u procesom fotosinteze akvatičnih biljaka i fitoplanktona. Sve vode istraživanih lokaliteta pokazuju suficit kiseonika što ukazuje na aktivnost akvitične vegetacije.

Saturacija kiseonikom je esencijalna za kvalitet vode, ekološki status i produktivnost jezera. Mustapha, (2008) ukazuje da je ovako rastvoren kiseonik u vodi sveza između bioloških i hemijskih reakcija za što on pokretač. Postoji tendencija rasta utrošenog  $\text{KMnO}_4$ , od lokacije Zlatica/Smokovac (0,91-2,77) do lokacije „Tanki trt“-ispod mosta (1,99-2,77), nema značajni Tendencije rasta, utrošenog kalijum permanganata, u uzorcima vode je očekivana, imajući u vidu da rijeka Morača svojim donjim tokom protiče kroz Podgoricu i da se u nju ulivaju djelimično prečišćene i neprečišćene otpadne vode.

Istražujući više lokaliteta na Skadarskom jezeru tokom 1966-1968. godine i 1972-1973. godine, uključujući i jul 1976. godine, Petrović i Beeton, (1981) navode da hemijske karakteristike vode Skadarskog jezera nastaju kao rezultat uliva voda iz glavnih pritoka, sublakustričkih izvora, kao i razmjene između sedimenata vode i ekstenzivnih poplava (Radonjić, 2017).

Upoređivanjem rezultata fizičko-hemijskog ispitivanja voda „zimskog“ i „ljetnjeg“ aspekta, utvrđuju se značajne razlike u temperativnom režimu vode i vazduha. Utrošak  $\text{KMnO}_4$  značajniji je u toku ljetjeg uzorkovanja i kreće se od (1,29-3,2) za lokalitet Smokovac/Zlatica do maksimalno izračunatih 5,82  $\text{mg/dm}^3$  za lokalitet „Lijevi krak“ rijeke Morače. Na osnovu obavljenih hemijskih analiza voda istraživanih lokaliteta, možemo reći da one pokazuju dobre karakteristike pa se sve vode istraživanih lokacija mogu svrstati u  $A_1$  i  $A_2$  klasu (Uredba o klasifikaciji i kategorizaciji voda, "Sl list RCG 15/97").

Prikazujući hemijski kvalitet vode rijeke Morače, u periodu 1998-2002. godine, Topalović i saradnici (2003) navode da se rijeka Morača uzvodno od Podgorice nalazi u  $A_1$  klasi

(Uredba o klasifikaciji i kategorizaciji voda,” Sl. list RCG” 15/97). Međutim, često se u dijelu vodotoka kroz grad, dešavaju odstupanja od normalnih vrijednosti mnogih parametara (BPK<sub>5</sub> i nitrita) tj., granične vrijednosti često pripadaju A<sub>2</sub> klasi. Radonjić (2006) navodi, da na više lokacija duž cijelog toka rijeke Morače (od izvorišta -lokalitet Pernica do Ušća) kvalitet vode je u direktnoj vezi sa hemizmom vode, koji je rezultat kako geomorfoloških uslova, tako i antropogenog uticaja na što su ukazali i Topalović i saradnici, (2003).

Aktivnost heterotrofnih bakterija u vodenim ekosistemima povezana je sa transformacijom organskih materija i brzinom razgradnje izumrlih biljaka i životinja. Kochl (1975) navodi da brojno stanje heterotrofnih bakterija može poslužiti kao indikator kod utvrđivanja boniteta vode. U toku ovog istraživanja koristeći heteotrofne bakterije kao indikatore kvaliteta vode, može se reći da voda kvalitet vode varira i da pripada I, I-II klasi i II klasi (najveći broj lokaliteta od avgusta do novembra 2017. godine boniteta vode (Slika 9). U toku 1992-1995. godine, Institut za javno zdravlje Crne Gore je proučavao kvalitet vode, Skadarskog jezera (jedan od lokaliteta je bio i lokalitet Vranjina). U sklopu navedenih istraživanja analizirane su i fiziološke grupe mikroorganizama (heterotrofne, oligotrofne, proteolizne, amilolizne, lipolizne i saharolizne), a takođe je rađen i stepen autopurifikacije po Kohl-u. Istraživanjem su na lokalitetu Vranjina utvrđene sve ispitivane grupe mikroorganizama. Najmanje vrijednosti fizioloških grupa mikroorganizama bile su u aprilu 1993. godine kada je broj heterotrofa iznosio 500, oligotrofa 300, proteolitskih bakterija 33, saharolitskih 0, lipolitskih 300, amilolitskih 0.

Slikom 12 možemo vidjeti da se brojnost lipolitskih bakterija za istraživani lokalitet ”Tanki rt“- ispod mosta kretala od 13-85 bakterije/cm<sup>3</sup> dok se brojnost proteolitskih bakterija nalažila u opsegu od 24-40,000 bakterija/cm<sup>3</sup>. Ovo veliko odstupanje pripisuje se indikativnom antropološkom zagađenju. Amilolitske bakterije nisu porasle na zasijanim podlogama u januaru 2017. godine kao i u januaru 2018.godine. Njihov maksimalni broj na istraživanom lokalitetu zabilježen je tokom septembarskog uzorkovanja i iznosio je 1280 bakterija/cm<sup>3</sup>.

Pošto je biologija planktonskih mikroorganizama specifična, a njihov život rijetko se odvija u optimalnim uslovima sredine, budući da su vođeni ekosistemi podložni periodičnosti bioloških procesa, izazvanih sezonskom dinamikom kompleksa ekoloških faktora i unutrašnjim uzrocima bioloških sistema, to svaki bitniji poremećaj u kvantitativnom kao i kvalitativnom sastavu pojedinih fizioloških grupa mikroorganizama ima indikativno značenje i u pogledu poremećenosti životnih uslova (Radonjić, 2006). Polazeći od ovoga, određivana je sezonska dinamika amiloliznih, proteoliznih i lipoliznih od kojih zavisi kvalitet biogenih elemenata, koji su neophodni za razvoj drugih grupa organizama na primjer fitoplanktona, a čime se obezbjeđuje biološko kruženje (Radonjić, 2016).

Prateći sezonsku dinamiku fizioloških grupa mikroorganizama (Slike 10,11 i 12) uočava

se da su u toku perioda visokih voda prisutne sve tri vrste bakterija, ali da je u odnosu na ostale lokalitete za lokalitet Zlatica/Smokovac abudantno niska i kontantna. Dominacija amilolitskih bakterija na lokalitetu „Desni krak rijeke Morače“ u registrovana je toku septembra 2017. godine sa 9000 bakterija.

Na osnovu slike 11, očitavaju se tri dominantna „pika“: „Kraljeva glavica“-Vranjina preko 60000 proteoltskih bakterija, u septembru 2017, „Desni krak rijeke Morače“ u januaru 2018. godine, preko 60000 i treći interesantan „pik“ je na lokalitetu „Tanki rt“ u decembru 2018. Godine sa 40000 proteolitskih bakterija.

Korišćenjem Mann Whitney U testa, statistički su dokazne razlike dobijenih rezultata u toku „zimskog“ i „ljetnjeg“ uzorkovanja mikrobiološkog kvaliteta vode na istraživanim lokacijama kako u pogledu rezultata dobijenih opservacijom fizioloških grupa mikroorganizama, tako i u sanitarnom aspektu mikrobiološkog kvaliteta vode istraživanih lokacija, gdje je kao „nulta tačka“ bila lokacija Zlatica/Smokovac-hipotetički zamišljena kao tačka bez ili sa smanjenim antropogenim uticajem, jer se geografski nalazi izvan uticaja grada Podgorice.

50% dobijenih vrijednosti za „zimsko“ uzorkovanje (Slika 15) bilo je brojčano više od 37.5 bakterija/cm<sup>3</sup>, dok se za „ljetnje“ uzorkovanje ta vrijednost povećala do više od 370 bakterija/cm<sup>3</sup>. Ovaj podatak nam govori da postoji statistički značajna razlika u broju amilolitskih bakterija na ispitivanim lokacijama između ljetnjeg i zimskog uzorkovanja koja se može prikazati kao ( $p = 0.014$ ) u korist „ljetnjeg“ istraživanja.

Lipolizne bakterije su u toku septembra 2017. godine lokaciji „Tanki rt-ispod mosta Jezero, brojno bile najdominantnije sa 40000 bakterija bakterija. Takođe, zabilježena su još dva manja „pika“ u novembru 2017. godine 5000 na lokalitetu Vukovci i na lokalitetu Zlatica/Smokovac u decembru 2017. godine.

Zbog male visine vodenog stuba u ljetnjem periodu, a velike debljine mulja, može se pretpostaviti da su rezultati ovakvog stanja vode istraživanog lokaliteta prevagnuli u korist koliformnih bakterija i bakterija fekalnog porijekla (tab. 6), kao i intezivnih anaerobnih procesa razgradnje organskih materija u mulju, gdje indentifikacija sulfidoredukujućih klostridija može poslužiti kao dokaz. Tokom istraživanja sprovedenog 2017- 2018. godine na svim istaživanim lokacija bile su prisutne koliformne bakterije fekalnog porijekla.

Kao sanitarni pokazatelji, koji se primjenjuju u ocjeni prisustva patogenih mikroorganizama u vodi, služe mikroorganizmi za koje je digestivni trakt su stalna životna sredina. Prisutnost ovih mikroorganizama, njihova distribucija i populaciona dinamika indikator su zagađenja i omogućavaju preciznu ocjenu stepena bakterijskog zagađenja vode.

U vodi lokaliteta Zlatica/Smokovac tokom cijelogodišnjeg istraživanja evidentirano je prisustvo koliformnih bakterija fekalnog porijekla. Identifikovani su: *Enterobacter cloacae*,

*Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter diversus*, *Serratia sp.* *Citrobacter aerogenus*, *Streptococcus faecalis*-a, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii* identifikovani su na lokalitetu. *Pseudomonas aeruginosa*, je identifikovan u septembru 2017. godie. Sulfidoredukujuće klostridije i *Proteus* vrste nisu identifikovane.

50% izmjerenih vrijednosti za koliformne bakterije fekalnog porijekla, (Slika 18) na svim lokacijama za vrijeme “zimskog” uzorkovanja bilo je više od 13250 bakterija/ cm<sup>3</sup>, a za vrijeme „ljetnjeg” uzorkovanja više od 1950 bakterija/cm<sup>3</sup> što se statistički značajno ne razlikuje (p = 0.0196).

Koliforme bakterije fekalnog porijekla najveću brojnost za lokalitet Vukovci su imale tokom januarskog uzorkovanja 24000 bakterija/cm<sup>3</sup>, a najmanju vrijednost 440 bakterija/cm<sup>3</sup>. Prema (tab. 8) prisustvo *Streptococcus faecalis* zabilježeno je tokom majskog i novembarskog uzorkovanja, a *Proteus vulgaris*-a u toku januara 2018. godine. Vrsta *Pseudomonas aeruginosa* je identifikovana u avgustovskom, septembarskom i decembarskom istraživanju. Sulfidoredukujuće klostridije (1 bakterija) dokazane su u maju 2017. godine. Najčešće identifikovana koliforma bakterija fekalnog porijekla je *Escherichia coli*.

U toku 2003. godine sprovedeno je istraživanje distribucije i populacione dinamike bakterija u rijeci Morači na potezu izvorište-lokalitet Pernica do Ušća-lokalitet Vukovci. Na osnovu broja koliformnih bakterija i bakterija fekalnog porijekla, a po Uredbi o klasifikaciji i kategorizaciji voda, Morača na lokalitetu Pernica tokom šestomjesečnog istraživanja pripada A1 klasi boniteta voda, dok nizvodno od kolektora pripada A3 klasi boniteta voda (Radonjić, 2006). Ako ta istraživanja uporedimo sa sadašnjim, uočava se da na osnovu brojnosti koliformnih bakterija i koliformnih bakterija fekalnog porijekla, status istraživanih lokaliteta nije bitnije pogoršao (tab. 7 i 8).

Rezultati mikrobioloških analiza sanitarnog stanja vode koriste se za procjenu rizika po zdravlje ljudi pri upotrebi tih voda, kao i za procjenu pogodnosti voda za vodosnabdijevanje i praćenje efikasnosti prečišćavanja vode za piće.

Upoređivanjem lokaliteta „Lijevi krak rijeke Morače“ i „Desni krak rijeke Morače“ prisustvo bakterije *Streptococcus faecalis*-a dokazano je na oba lokaliteta. Prisustvo *Proteus vulgaris*-a i sulfidoredukujućih klostridija dokazano je u toku majskog uzorkovanja samo na lokalitetu „Lijevi krak rijeke Morače“. Koliforme bakterije fekalnog porijekla: *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter sp.*, *Enterobacter sp.*, zajedničko je za oba lokaliteta (tab.9 i 10)

Na lokalitetu “Kraljeva glavica”-Vranjina (tab.11) prebrojane 38 kolonije *Streptococcus faecalis*-a. 15 bakterija sulfidoredukujućih klostridija u toku septembarskog ispitivanja, a jedna bakterija u maju 2017.godine, dok je na lokalitetu „Tanki rt“-ispod mosta (tab. 12)

prebrojano 30 bakterija *Streptococcus faecalis*-a, 6 bakterija sulfidoredukujućih klostridija takođe tokom septembra i maja. Prisustvo *Escherichia coli* dokaz je konstantnog zagađenja, za oba lokaliteta dok je prisustvo truleži dokazano je u septembru 2017. godine „rojenjem u /kroz podlogu“ samo za lokalitet „Kraljeva glavica“-Vranjina identifikovana je bakterija *Proteus vulgaris*. U januaru 2018. godine dokazano je prisustvo *Proteus mirabilis*. *Pseudomonas aeruginosa* bio je prisutan na oba lokaliteta.

Na osnovu grafičkog prikaza koliformnih bakterija fekalnog porijekla (Slika 21) za lokalitet „Kraljeva glavica“-Virpazar uviđamo da su maksimalne vrijednosti tih parametara se kretale od 50,000-100,000 bakterija/cm<sup>3</sup> toku janskog i septembarskog ispitivanja. „Tanki rt“-ispod mosta-Jezero pokazuje upečatljivo najveće „pikove“ u toku januarskog, janskog i novembarskog ispitivanja kada je zabilježeno po 240,000 bakterija/cm<sup>3</sup>.

U cilju utvrđivanja kvaliteta litorala Ohridskog jezera Jordanovski i saradnici (2000) vršili suispitivanje organskog i neorganskog opterećenja litoralnog dijela Ohridskog jezera. Radonjić i saradnici (2013) identifikovali su mikroorganizme kao indikatore emergentskih supstanci u vodi Prisustvo koliformnih bakterija bilo je registrovano na svim lokalitetima, tokom cijele godine. Sulfidoredukujuće klostridije su bile takođe prisutne u vodi analiziranih uzoraka tokom cijele godine. Radonjić i Krivokapić (2006) utvrdili su da su koliformne bakterije, sulfidoredukujuće klostridije, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, kao i *Pseudomonas aeruginosa* bile prisutne u toku ljetnjeg uzorkovanja u vodi na lokalitetu Vranjina (Skadarsko jezero).

Litoralna zona akvatičnih ekosistema, je međuprostor između kopna i otvorene vode (pelegijal) i u suštini ima viši produktivitet od pelagijalne. Ona se odlikuje sa velikim unošenjem organskog materijala, radi toga, u ovoj zoni postoji veza čvrsta veza između autotrofnih i heterotrofnih zajednica koje imaju jak uticaj na jezerski metabolizam (Overbeck & Chrost, 1990). Ukazuju i da je bakterijska biomasa količina organske materije koja se transformisala iz rastvorenog stanja, u bakterijske ćelije koje će je iskoristiti u narednom trofičnom nivou.

Bakterijski diverzitet lokaliteta „Lijevi krak rijeke Morače“i „Desni krak rijeke Morače“ u korelaciji je sa lokalitetima „Kraljeva glavica“-Vranjina i „Tanki rt“- ispod mosta. Ova pozitivna sprega, posebno se ogleda u dominaciji vrste *Escherichiae coli* koja može koji se koristi u procjeni rizika po zdravlje ljudi.

Mikrobiološke zajednice, pružaju nam izuzetno korisne informacije o stanju u kome se ekosistem nalazi. Kao ubikvotarni organizmi, praktično su prvi na udaru hemijskih i fizičkih promjena u ekosistemu, pa svaka njihova promjena je u stari prekusor svim ostalim promjenama u lancu.

Fenotipske adaptacije fizioloških grupa mikroorganizama određivane su na osnovu promjena definisanih vrijednostima CLPP tj. kalkulacijama AMR i CDM, ali i prikazom fenotipskih

adaptacija na korištenje različitih izvora ugljenika kroz vrijeme (2016.godine -2018. godine) na istraživanim lokalitetima. Prosječan metabolički odgovor (AMR) po definiciji je srednja respiracija C-ničnih izvora koje koriste mikrobiološke zajednice a predvidljiv je i mjerljiv a među zajednicama može biti upoređivan.

AMR (Slika 22) predstavlja utvrđene rezultate istraživanja 2016-2018. godine. U toku januara 2018. godine zabilježena je maksimalna vrijednost za AMR od 1,009 na lokalitetu Vukovci za proteolitsku grupu mikroorganizama, odnosno minimalna vrijednost za AMR od 0,053; na lokalitetu „Desni krak rijeke Morače“ za tu istu grupu. Ovi rezultati ukazuju nam da je proteolitska grupa mikroorganizama imala različitu adaptivnu sposobnost za različite lokalitete.

Veća kompeticija za prostor i hranu u toku “ljetnjeg” režima voda 2017. godine presudila je u korist lipolitske grupe mikroorganizama, kada je izračunata maksimalna vrijednost od 1,517 na lokaciji „Kraljeva glavica” -Vranjina i čini dokaz i to da je u ovom uzorkovanju ova grupa mikroorganizama od ukupno 31 odreagovala na 22 različita izvora ugljenika (tab.13).

Najniža vrijednost za AMR i tokom 2017.godine zabilježena na lokaciji „Desni krak rijeke Morače“ za proteolitsku grupu mikroorganizama sa vrijednošću 0,026 i bila je za (-0,027) niža u odnosu na 2018. godinu.

U “ljetnjem” periodu 2016. godine “pik” za AMR imao je za 0,517 nižu vrijednost. Ova vrijednost je izračunata na lokaciji “Tanki rt” prateći razvoj biohemijakih reakcija na ploči za lipolitske bakterije. Minimalna vrijednost u toku „zimskog“ aspekta voda za 2016. godinu izračunata je na lokaciji “Lijevi krak rijeke Morače“ za proteolitsku grupu mikroorganizama, dok je maksimalna vrijednost izračunata na lokaciji “Kraljeva glavica” -Vranjina na proteolitskoj grupi mikroorganizama.

Radonjić (2016) ističe da se AMR razvija postepeno, takođe i da je maksimalna koloritost na kupolama, mjerena od 0 do 168 sati najizraženija nakon 48 sati. Ovime dokazuje da su mikrobiološke zajednice predkazivači informacija o promjenama u vodenim ekosistemima. (Preston-Mafham *et al.*, 2002) u svome radu daje osvrt razvoju mikrobioloških zajednica u odnosu na različite izvore nalaženja i njihove kultivizacije.

Različita životna sredina, različit način kultivizacije, različita gustina analiziranog uzorka tj. razblaženja uzorka kulture za analizu, daje različite rezultate AMR/ AWCD tvrde (Janniche *et al.*, 2012). Razblaženja ne utiču na AMR/ AWCD tvrde ova grupa naučnika. Choi & Dobbs, (1999) su dokazali da gotovo 0,6% istraživanih populacija nije pokazao svoj maksimum koloritnosti poslije 24 sata.

Diverzitet metabolizma zajednice mikroorganizama (CMD) predstavlja ukupan broj promijenjenih medijuma na mikrotitar ploči, i analogan je sastavu i funkciji mikrobiološke



zajednice. Mikrobiološki diverzitet zajednice se izračunava prostim brojanjem pozitivnih odgovora manifestovanih promjenom boje u narandžasto, tokom inkubacije i mjerenja aktivnosti.

Promjene metaboličkih karateristika (Slika 23) zabilježena je na svim lokalitetima. Za lokalitet "Kraljeva glavica"- Vranjina lipolitska grupa bakterija u toku „ljetnjeg“ uzorkovanja 2017. godine sa vrijednošću od 58 (a to je ujedno bila najveća zabilježena vrijednost tokom istraživanja) za CDM u korelaciji je sa prosječnim metaboličkim odgovor 1,517; a i sa najboljom adaptacijom u korišćenju različitih izvora ugljenika 22 (tab.13).

Međutim, ako uporedimo (Slika 22) i (Slika 23) za lokalitet Vukovci postoji varijacija između ova dva istraživana parametra. AMR za lokalitet Vukovci -lipolitske je 0,649; a na lokalitet Vukovci-proteolitske je 0,671; dok su vrijednosti CMD bile 57 i 51. Metabolički diverzitet ovog lokaliteta potvrđen je i fenotipskih adaptacijama za obje grupe mikroorganizama sa po 20 različitih izvora ugljenika na koje su odreagovale. Ovakvi rezultati mogu biti tumačeni direktnim uticajem različitih toksikanata na mikrobiološke populacije.

(Battaglin *et al.*, 2009), nalaze da je prisustvo različitih pesticida i njihovih ostataka u uzorcima površinskih i podzemnih voda uticalo na veličinu prosječnog metaboličkog odgovora mikrobioloških zajednica. Takođe, istraživani su i glifosati i ostali herbicidi, kako i na koji način djeluju na bakterijske populacije.

Međutim, organski zagađivači ne moraju samo da utiču na diverzitet akvatičkih mikroorganizama, ekološki stres je zabilježen i na mikroorganizmima terestričnih ekosistema (Dobbin *et. al.*, 1999). Radonjić (2016), navodi da su brojni ostaci EmS, dobijenih na osnovu „Skri-ning“ istraživanja uticali su na promijenjen fenotip mikrobioloških zajednica na lokalitetu Vukovci koje kao izvor „hrane“ koriste ugljenik. Takođe, ukazuju da su fiziološke grupe mikroorganizama tampon za ublažavanje gradijenta ekoloških promjena.

Metabolički odgovor za 2018. godinu najveću vrijednost sa 57 je dao lokalitet Vukovci za lipolitske bakterije. Lipolitske bakterije su metabolički dobro odgovorile na lokalitetima „Lijevi krak rijeke Morače“ i „Tanki rt“.

Znatno manje vrijednosti za sve parametre i u toku „zimskog“ i u toku „ljetnjeg“ uzorkovanja dobijene su za sve istraživane lokalitete tokom 2016. godine. Pa je maksimalna zabilježena vrijednost za CMD (Slika 23) na istraživanim lokalitetima bila na lokalitetu "Kraljeva glavica"-Vranjina za lipolitsku grupu bakterija 40, kada je izračnati AMR bio 0,574.

Fenotipski mikroorganizmi se mijenjaju, za te promjene potrebno vrijeme i generacijske promjene mikroorganizama.

Sedam velikih grupa organskih jedinjenja: ugljeni hidrati, karbonatne kiseline, amino kiseline, fosforilirajuća jedinjenja, estri, amini i polimeri su jedinjenja koja dokazano prva

reaguju na eko stres u vodenim sredinama. (Huanhuan et al., 2011) pokazali su da postoji značajne razlike u strukturi zajednica i metaboličkom korišćenju izvora ugljenika između mikroorganizama iz laboratorijski pravljenih uslova i tkz. "divljih sojeva" iz različitih vodenih ekosistema. Međutim, zajedničko im je da će za izvor energije koristiti polimere, ugljene hidrate, karboksilne kiseline i aminokiseline.

U našem slučaju (tab.13) iz grupe ugljenih hidrata najčešće je bila iskorištena D-ksiloza, a od karboksilne kiseline Glicil-L-glutaminska. D,L- $\alpha$ -Glicerol fosfat kao izvor energije iskoristilo je 50% istraživane populacije fizioloških grupa mikroorganizama. Amino kiseline nije koristila ukupno istraživana populacija, na svi lokalitetima pa se na osnovu (tab.13) njihovo prisustvo nije zabilježilo na lokalitetima ("Tanki rt"-proteolitska grupa bakterija i Zlatica/"Smokovac"-lipolitska grupa bakterija). Amidno jedinjenje putrescin registrovan je na lokaciji Vukovci za obje fiziološke grupe mikroorganizama. Grupa polimernih jedinjenja nije evidentirana u uzorcima (Tanki rt"-proteolitska grupa bakterija, Zlatica/"Smokovac"-lipolitska grupa bakterija i Zlatica/"Smokovac"-proteolitska grupa bakterija).

S ciljem utrdivanja i identifikacije postojanja EmS u rijeci Morači i Skadarskom jezeru izvedeno je „Skrining istraživanja“ uzoraka vode, na određenim lokalitetima rijeke Morače i Skadarskog jezera. Lokacije se prostiru na 30.000 ha, i to tri na rijeci Morači: "Vukovci", „Lijevi“ krak rijeke Morače i „Desni“ krak rijeke Morače, i dvije lokaciji na Skadarskom jezeru. Akcenat je stavljen na donji tok rijeke, njen ravničarski mirni tok i kao i lokacije na Skadarskom jezeru, koje su najviše pod uticajem lokalnog i turističkog stanovništva Tanki rt" (ispod mosta) i. "Kraljeva glavica" kod Vranjine. Uzorkovanje je izvršeno u toku visokih voda (zimsko) i niskih voda (ljetnje uzorkovanje) u probalju litoralu u toku 2013-2014. godine.

Skriningom za „zimski period“ je detektovano 528 hemijskih jedinjenja, a identifikovano je 119. Proporcionalno možemo dokazati da se brojčano na svih 5 lokaliteta u prosjeku hemijska jedinjenja kreću od 90,66 do 93,5 po lokalitetu, dok je identifikacija kod prva tri lokaliteta 28 po lokalitetu, a na lokalitetima 4 i 5 po 17 hemijskih jedinjenja (Tab.14)

EmS pokazuju interesantne fizičko-hemijske osobine: rastvorljivost, isparljivost, sposobnost adsorpcije i apsorpcije, biorazgradljivost, stabilnost, perzistencija, polarnost i slično, a zavise od strukture i broja asimetričnih ugljenikovih atoma. Takođe, utvrđeno da različite grupe jedinjenja mogu imati jednu ili više izraženijih sposobnosti u odnosu na ostale grupe hemikalija. Tako npr. estri, aromatični alkoholi i nitril grupa imaju izraženu sposobnost biodegradacije dok aromatični amini, jodidi, nitro i azo grupa perzistenciju jedinjenja. Upravo te njihove osobine, nizak vodostaj kao i mogućnost migracije-taloženja u sediment, detektujemo sa 70-hemijskih jedinjenja u toku „ljetnjeg“ režima, odnosno desetak identifikacija na svih pet lokaliteta.

Analizom vode rijeke Morače njenog ravničarskog dijela toka, na svim lokalitetima kvantifikovane su različite EmS: Benzil salicilat, Hidroksilamin, 1-Tricosanol, 1-Octanol, Dibutil ftalat, Undecan, 3-metil-Dodecan, Ciclohexan, Heneicosan, 11-(1-ethylpropil), 2,6-Diisopropilnaftalen, Disulfid, di-tert-dodecil, 1-Tricosanol, Acetic acid, (1,2-dimetil-1-propenil) a koriste se u industriji sapuna, šampona, hemijskoj industriji, industriji parfema i krema, čime se najprije može pretpostaviti najveći uticaj kanalizacionih voda sa tradicionalnim metodama prečišćavanja. Glavna pritoka Skadarskog jezera, rijeka Morača, svakako je i najveći recipient otpusnih, industrijskih i kanalizacionih voda glavnog grada Crne Gore, Podgorice i okolnih naselja.

Podgorica ima samo jedan kolektor za preradu otpadnih voda, pa uz to i saznanje da je taj kolektor pravljen u vrijeme kada je Podgorica imala 150, 000 stanovnika, što je duplo manje u odnosu na današnji broj. Uz to saznanje kao i da se najveći broj EmS ne mogu tretiranjem u Kolektorima (Sistemima za prečišćavanje voda) otkloniti sasvim je jasno odkuda njihovo prisustvo u analiziranim uzorcima voda tokom ovog istraživanja.

Na lokalitetima „Kraljeva glavica“-Virpazar i „Tanki rt“-ispod mosta zapaženo je prisustvo farmaceutika i to: Allopregnane; Pregnane, (5.alpha.) Methane; kao i dichloro- (CAS); Dichloromethane; R 30; Freon 30; Narkotil. Prisustvo proizvoda za ličnu higijenu utvrđeno otpadnoj, površinskoj i pitkoj vodi i u sedimentima sliva reke Turije (Valensija, Španija) (Carmona et al., 2014). Na osnovu istraživanja objavljenim na <http://publications.gc.ca/site/enq/474929/publication.html> utvrđene je prisustvo lekova, hormona i drugih EmS u rijeci St. Lawrenceu na 11 lokaliteta i tri njene pritoke Ottawa, Richelieu i Saint-Maurice, analizirajući uzorke vode nizvodno od Monteala.

Primarnim skriningom uzoraka površinske vode Dunava u okolini grada Novog Sada detektovano je više od 150 organskih polutanata iz grupe industrijskih emergentnih i prioritarnih supstanci. Istraživanja su pokazala da se određene EmS češće registruju u samom Dunavu nego u njegovim pritokama (Loos, 2010). Karakteristično je da se kofein, gemfibrozil, nitrofenoli, PFHpA, PFOA, PFOS, karbamazepin, sulfametoksazol, terbutilazin, NPE1C i benzotriazoli detektuju skoro u svakom uzorku vode Dunava. U pritokama frekventnije se registruju simazin, bisfenol A i nonilfenol (Đukić et al., 2011). Uočena pojava objašnjava se specifičnim emisionim izvorima, degradacionim procesima i razblaženjem nakon ulivanja u Dunav. Preliminarna kvalitativna analiza ukazuje na prisustvo kofeina, metiljasmonata, cikloheksasiloksana, trifenilfosfata, terc-butiloksaspirodeka-dien-diona, metil jona i benzotriazola (Miloradov *et al.*, 2011)

S obzirom na to da je velika teritorija aluvijalne ravni Dunava, država kroz koje protiče: Nemačke, Austrije, Slovačke, Mađarske, Hrvatske, Srbije, Bugarske, Rumunije, Moldavije, Ukrajine i drugih u okviru sliva, razumljivo je da postoji značajno odstupanje u broju i

kvalitativnoj dinamici EmS u rijeci Dunav u odnosu na rijeku Moraču i Skadarsko jezero. Jedna od novoprepoznatih fizičko–hemijskih karakteristika EmS u životnoj sredini je pseudoperzistencija. Permanentno ispuštanje otpadnih voda iz postrojenja za prečišćavanje i direktan unos u akvatične sisteme bez tretmana, izazivaju pojavu nove karakteristike – pseudoperzistencije. I pored relativno kratkog vremena polu-života ( $t_{1/2}$ ) emergentnih hemikalija, karakteristika konstantnog prisustva EmS i delovanje na akvatične organizme kategorizuje ih u pseudoperzistentne polutante.

Odnedavno, nalaženje, sudbina, i uticaj farmaceutika na akvatične organizme je od izuzetnog značaja. Evropska komisija je od 2020. godina predložila spisak supstanci (tkz. Watch list) od značajnog rizika i u isti uvrstila: 17-alpha-Ethinylestradiol (EE2), 17-beta-Estradiol (E2) i Estron (E1) (antibiotike Erythromyc i Clarithromycin, Azithromycin, Amoxicillin i Ciprofloxacin, Sulfamethoxazol i Trimethoprim antidepresiv O-desmethylvenlafaxin i Venlafaxine. i tri azolna (antimikotika): Clotrimazole, Fluconazole i Miconazole (<https://watereurope.eu/european-commission-adopts-revised-surface-water-watch-list/>).

(Bringolf *et al.*, 2010; Ramirez *et al.*, 2007) dokazali su da se različiti farmaceutici akumuliraju u ribama, pa je u svih 11 ispitivanih uzoraka prisustvo dokazano u koncentraciji od 0,11 do 5,14 ng/g. Detektovani su diphenhydramin, diltiazem, carbamazepin i norfluoxetin.

1-H-benzotriazol, kofein, progesteron, levonorgestrel, tolitriazol, TCEP, TBEP, TCCP, estron, 17 $\beta$ -estradiol, estriol, 17- $\alpha$ -Ethinylestradiol, estron-3-sulfat, bisphenol A, triklosan, methylparaben, ethilparaben, propilparaben i benzilparaben su 19 EDCs koji su ispitivali različiti naučnici iz različitih razloga (Brooks *et al.*, 2005; Ramirez *et al.*, 2009; Du *et al.*, 2012; Jakimska *et al.*, 2013). Svima je nalažnje koncentracije PhAC i EDCs u tkivima riba bilo interesantno prvenstveno što ribe organizmi koji su plivajući, mogu biti u svim djelovima akvatičnih ekosistema, te su im stoga dostupne relativno velike oblasti, tokom dužeg vremenskog perioda na koji se mogu metabolički prilagoditi, bioakumulacija je manje prepoznatljiva kod njih nego kod drugih organizama.

Od svih EDCs koji su ispitani u mišićima riba u toku ovog istraživanja jedino je dokazano prisustvo Triclosana u koncentraciji  $14,1 \pm 1,3$  ng g<sup>-1</sup> mišićnom tkivu ribe *Alburnus alburnus*. Nijesu detektovani ostalih 18 komponenti u istraživanoj bioti. Od početka vijeka pa na ovamo, vršena su različita ispitivanja kojima je prepoznat uticaj EDCs, koje mogu izuzetno negativno mogu da utiču na akvatične organizme, djelujući na fertilitet i fekunditet, muskulinizaciju ženskih odnosno feminizaciju muških organizama, prvenstveno riba (Jobling *et al.*, 2003; Falconer *et al.*,). Huerta *et al.*, (2013), u analizi riba Mediteranskog sliva utvrdili su prisustvo EDCs i to: setilparaben, metilparaben, propilparaben, TBEP i triklosan u koncentraciji do 100 ng g<sup>-1</sup>. Vršena su ispitivanja iz tkiva riba *Barbus graellsii*, *Micropterus salmoides*, *Cyprinus carpio*, *Salmo trutta*, *Silurus glanis*, *Anguilla anguilla*, *Lepomis*

*gibbosus*, *Gobio gobio*, *Luciobarbus sclateri*, *Aburnus alburnus* i *Pseudochondrostoma willkommii* izlovljenih u toku ljeta 2010. godine iz četiri rijeke Mediteranskog sliva (Ebro, Llobregat, Júcar i Guadalquivir). U toku ovog istraživanja istraživani farmaceutici: atenolol, carazolol, metoprolol, nadolol, propranolol, sotalol, karbamazepin, citalopram, diazepam, 10,11-epoxyCBZ, 2-hydroxyCBZ, lorazepam, sertralin, venlafaxine, clopidrogel, kodein, levamisol, salbutamol, diclofenak i hydrochlorothiazid i nisu dokazani.

Zajednička karakteristika PhACs kao i EDCs je njihova najčešće izuzetno niska koncentracija koja se kreće u rangu ng/L i niže, njihovi djelovi molekula mogu biti izuzetno reaktivni sa bilo kojim organizmima (Hernando et al., 2006; Huerta et al., 2013). U literaturi ima mnogo radova kojima je objašnjeno zašto baš ribe predstavljaju naznačajniju limnetičku komponentu u lancu ishrane, kao tema za ispitivanje bioakumulacije u svojim tkivima (Brooks et al., 2005; Ramirez et al., 2009; Du et al., 2012; Jakimska et al., 2013). Bioakumulacija PhACs i EDCs u akvatičnim organizmima može se desiti direktnom biokoncentracijom putem inhalacione izloženosti i trofičkim transverom. Mackay & Fraser, (2000) ukazali su da je najvjerovatnije hidrofobična komponenta odgovorna za bioakumulaciju u slatkovodne organizme, a da će se najvisočije pozicioniranim organizmima u trofičkom sistemu najviše prepoznati efekat (Fisk et al., 2005).

U okviru eksperimentalnog istraživačkog rada 2017-2018. godine detektovan je značajan broj EmS i nastavak istraživanja usmjeren na određen broj prioriternih supstanci/farmaceutika (PhACs) u vodi na istraživanim lokalitetima. Istraživanja su bila fokusirana na sledeće grupe jedinjenja: Analgetici/anti-inflamatori, regulatori lipida i holestrola, psihotici, histamin H1 i H2,  $\beta$ -blokatori, diuretici, antidiabetici, lekovi za snižavanje pritiska, antiagregatori, lekovi hiperplazije prostate, lekovi za astmu, antikoagulant, rendgenski kontrastni agensi, antihelmintici, sintetički glukokortikoidi, lekovi za sedaciju i relaksaciju mišića, trankvilizatori, antibiotici, blokatori kalcijumskih kanala. Pozitivni rezultati su dobijeni u grupama: Analgetici/anti-inflamatori i rendgenski kontrastni agensi.

Analizom vode Morače duž čitavog toka, od Zlatice/Smokovca, do "Lijevo" i "Desno" kraka rijeke Morače, u svakom analiziranom uzorku kvantifikovani su značajni koncentracioni nivoi salicilne kiseline. Salicilna kiselina detektovana je na svim lokacijama u rangu koncentracije ( $11,91 \text{ ng L}^{-1}$ ) i više, što je i do 10 niža viša koncentracija nego što su (Cormona et al., 2014) pronašli ispitujući površinske i pijaće vode bazena rijeke Turia. Što se tiče nalaženja ostalih PhACs najniže koncentracije u vodi rijeke Morače i Skadarskog jezera zabilježene su za Acetaminophen ne steroidni, inflamatorni lijek u prosjeku ( $1,97 \text{ ng L}^{-1}$ ) i više, što je mnogo niže nego što su (Huerta et al., 2014) zabilježili ( $222 \text{ ng L}^{-1}$ ) u rijeci Segre Španija. Lijek Isopromid identifikovan je na lokacijama Vukovci, "Lijevi" i "Desni" krak rijeke Morače samo tokom ljetnjeg uzorkovanja. Faisal et al., (2018) predlo-

žili su da se nalaženje PhACs prihvati kao jedan sveopšti marker antropogenog uticaja na vodeni ekosistem. Neočekivano mala abudanca nalaženja PhACs u uzorcima vode, na svim lokalitetima tokom ovog istraživanja (od 19 grupa identifikovane su dvije grupe) nije neuobičajna pojava. Naime, autori (Sanderson et al. 2004), smatraju da je stvarna abudanca u vodenim ekosistemima za većinu PhACs ispod one koja se predviđa, ali da najveću opasnost predstavljaju kardiovaskularni i gastrointrsticijalni lijekovi, sto se ne poklapa sa našim istrživanjima.

Maksimalne koncentracije u uzorcima Dunava detektovane su za sulfametoksazol (11600 ng/l), ciprofloksacin (2610 ng/l), gemfibrozil (1700 ng/l), kofein (1467 ng/l), eritromicin (420 ng/l), benzotriazol (380 ng/l), 4-AAA (354 ng/l), NPE1C (307 ng/l), nonilfenol (240 ng/l), trimetoprim (223 ng/l), 4-FAA (213 ng/l), toliltriazol (130 ng/l), bisfenol A (68 ng/l), karbamazepin (66 ng/l) i terbutilazin (63 ng/l), a u pritokama reke Dunav za kofein (6798 ng/l), NPE1C (3352 ng/l), nonilfenol (1400 ng/l), karbamazepin (945 ng/l), ibuprofen (718 ng/l), bisfenol A (490 ng/l) ( Loos et al., 2010; Dimkić et al., 2011; Miloradov et al., 2011).

Maksimalno dobijena vrijednost HQ za sve istraživane lokacije tokom istraživanja 2017.-2018. godine bila je 0,009 ng/l za lokalitet "Desni" krak rijeke Morače za lijek Salicilna kisjelina. Tokom ovog istraživanja HQ indeks za PhAC je bilo moguće izračunati samo za grupu NSAID lijekova odnosno, pomenute za Salicilna kisjelina i Acetominofen. (Gonzalez-Naranjo & Boltes, 2014) takođe, proučavali HQ NSAID lijekova, u njihovom slučaju Ibuprofena, na različitim organizmima u kombinaciji sa uzorcima vode i sedimenta.

Tokom našeg istraživanja maksimalna vrijednost HQ lijeka Acetominofen koji je po generičkom imenu Paracetamol, iznosila je 0,007 ng/l, čime je daleko ispod visoko rizične. U studiji Valcarcel et al., (2011), dobijeni su HQ za nekoliko farmaceutskih proizvoda na različitim mestima za uzorkovanje duž rijeka i u oblastima snabdevanja pitkom vodom u regionu Madrida (Španija). Cilj je bio da se procijene postojeći i istovremeno, uporede podaci o ekotoksičnosti za svaku pojedinačnu hemikaliju uzeti iz literature ili, ako nisu dostupni, procijenjeni pomoću modela (K) SAR. Slično tome, Yamamoto et al., (2011) primijenili su dva pristupa za kumulativnu procjenu rizika, kako bi procijenili rizik zbog pojave sedam parabena u vodi, ali njihova procjena opasnosti bila je zasnovana na podacima o toksičnosti dobivenim za svako jedinjenje pojedinačno, i nisu uključivali nikakve sinergističke ili antagonističke efekte.

Desbiolles et al., (2018), utvrđujući pojavu i ekotoksikološku procjena lijekova: odnosno utvrđujući postoji li HQ za Mediteranski sliv i okruženje, ciljano su ispitivali prisustvo 49 PhACs u vodenom ekosistemu. Na osnovu MEC i primjenom HQ indeksa za ekološku procjenu rizika utvrđeno je da postoji rizik za 13 jedinjenja od kojih su najznačajnija 17 $\alpha$ -etinilestradiol, metoprolol, 8 antibiotika i 3 NSAID. Utvrđivanje HQ za NSAID u

uzorcima voda na istraživanim lokalitetima, tokom našeg istraživanja, potvrđuje se sve veća prisutnost i potreba za ovom vrstom lijekova. Identifikujući HQ kao jedan od ekoloških pokazatelja stanja voda u odnosu na prisustvo polutanata u urbanim otpusnim vodama, (Gosset et al, 2017) su konstatovali da od 207 uzoraka Evropskih voda, samo je bilo moguće utvrditi vrijednosti za MEC u uzorcima 61 kišnice i 49 kombinovanih uzoraka ispustnih i industrijskih voda, poslije prečišćivača. U uzorcima su (Orias et al, 2013), utrdili su prisusvo 17 $\beta$ -estradiol, klotrimazola, kao i prisustvo lijekova NSAID ibuprofen i salicilna kisjelina.

Naučnici kao Passerat et al. (2011) visoku koncentraciju bakterija *E.coli* (1000000 bakterija/cm<sup>3</sup>) dovode u vezu s time da je smanjen broj indentifikovanih hemikalija u vodi i da su mnogo češća jedinjenja koja su nastala kao rezultat razgradnje istih od stane bakterija, pa je njihova toksičnost time manja i umjerenija.

Istraživanja u okviru ovog rada pokazala su da postoji izvjesna različitost ekoloških faktora na “nultoj tački” Zlatica/Smokovac, u odnosu na ostale lokalitete, te da to ima uticaja na distribuciju i populacionu dinamiku bakterija, ali isto tako i na njihovu fenotipsku adaptaciju, odnosno prosječan metabolički odgovor. Istraživanja su dokazala prisustvo EmS na svim lokaclitetima, prisustvo PhACs takođe je u uzorcima vode na svim lokalitetima, te da je njihovo prisustvo izražajnije za vrijeme „niskih voda“ pa ovo istraživanje predstavlja dobru smjernicu za buduća istraživanja a značajnu osnovu za usaglašavanje ekoloških legistiva sa Evropskim ekološkim legistivama.



## 7. ZAKLJUČCI

- U okviru ove disertacije prema dostupnim literaturnim podacima, po prvi put se ispituje prisustvo „Emergentnih supstanci“ (EmS) i „Endokrino uznemiravajućih komponenti“ (EDCs) u vodama rijeke Morače i Skadarskog jezera, sa posebnim ciljem unapređenja ekoloških smjernica za usaglašavanje postojeće legistive o vodama Crne Gore sa Evropskom legistivom.
- Brojnost različitih grupa mikroorganizama u vodama rijeke Morače i Skadarskog jezera, zavise od fizičko-hemijskih parametara, pri čemu relativno neujednačena temperatura voda na različitim lokalitetima, jedan je od osnovnih uzroka sezonskog variranja u njihovoj brojnosti i strukturi.
- Na osnovu brojnosti i strukture grupe heteotrofnih mikroorganizama, kao indikatora kvaliteta vode, utvrđeno je da kvalitet voda rijeke Morače i Skadarskog jezera varira i da pripadaju klasi voda koje se ubrajaju u oligotrofne vode, vode sa manjim opterećenjem prisusustva organskih nutrijenata.
- Prateći sezonsku dinamiku strukture fizioloških grupa mikroorganizama (amilolitskih, proteolitskih i lipolitskih mikroorganizama) uočava se da u periodu visokih vodostaja prisutne su sve tri vrste fizioloških grupa na ispitivanim lokalitetima, međutim na lokalitetu Zatica/Smokovac primjećena je njihova konstantno niska brojnost.
- Od testiranih fizioloških grupa mikroorganizama utvrđena je dominacija amilolitskih grupa. Na lokalitetu „Desni krak rijeke Morače“ zabilježena je najveća njihova brojnost od  $9 \times 10^3$  u ml vode. Najveće vrijednosti proteolitskih grupa mikroorganizama zabilježene su na lokalitetima: „Kraljeva glavica“-Vranjina i „Desni krak rijeke Morače“ sa preko  $6 \times 10^4$  u ml. Dokazano je da su grupe lipoliznih mikroorganizama na lokalitetu „Tanki rt-ispod mosta Jezero, brojno bile najdominantnije sa preko  $4 \times 10^4$  ml.
- Primjenom Mann Whitney U testa, statistički su dokazane razlike u brojnosti i strukturi fizioloških grupa mikroorganizama, kao i u brojnosti i strukturi mikroorganizama kao indikatora sanitarnog stanja voda u toku „zimskog“ i „ljetnjeg“ perioda. Postoji statistički značajna razlika u broju amilolitskih bakterija na ispitivanim lokacijama između ljetnjeg i zimskog perioda koja se može prikazati kao ( $p = 0.014$ ) u korist „ljetnjeg“ perioda.
- Na svim istaživanim lokalitetima bile su manje ili više prisutne koliformne bakterije fekalnog porijekla. Značajan podatak je da su na lokalitetu Zatica/Smoko-

vac tokom istraživanja konstantno bile prisutne koliformne bakterije fekalnog porijekla. Identifikovane su: *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter diversus*, *Serratia sp.*, *Citrobacter aerogenus*, *Streptococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*. Vrsta *Pseudomonas aeruginosa*, je identifikovana samo u jednom periodu godine. Sulfudoredukujuće klostridije i *Proteus* vrste nisu identifikovane.

- Prema mikrobiološkom odgovoru na različite izvore ugljenika i analizom metaboličkog diverziteta mikrobnih zajednica može se uočiti da postoje neke hemijske supstance koje su prisutne u vodama i opterećuju mikrobne zajednice.
- Na osnovu prvih „skrining analiza“ površinskih voda rijeke Morače i Skadarskog jezera utvrđeno je prisustvo velikog broja organskih jedinjenja (528), a identifikovano je njih (119). Na svim lokalitetima utvrđeno je prisustvo: Benzil salicilat, Hidroksilamin, 1-Tricosanol, 1-Octanol, Dibutil ftalat, Undecan, 3-metil-Dodecan, Ciclohexan, Heneicosan, 11-(1-ethylpropil), 2,6-Diisopropilnaftalen, Disulfid, di-tert-dodecil, 1-Tricosanol, Acetic acid, (1,2-dimetil-1-propenil) estar, koja se koriste u raznim industrijama sapuna, šampona, hemijskoj idustriji, industriji parfema i krema, farmaceutskej industriji i dr.
- Od svih EDCs i PhACs supstanci u tkivima riba utvrđeno je prisustvo Triclosan-a u koncentraciji od  $14,1 \pm 1,3 \text{ ng g}^{-1}$  u mišićnom tkivu ribe *Alburnus alburnus*.
- Analizom uzoraka vode na prisustvo PhACs registrovane su Salicilna kisljela detektovana je na svim lokacijama u vrijednostima koncentracije ( $11,91 \text{ ng L}^{-1}$ ) i više. Od ostalih NSAD u ispitivanim uzorcima voda rijeke Morače i Skadarskog jezera zabilježeno je prisustvo acetaminophen-a (Paracetamola) sa prosječnom koncentracijom od ( $1,97 \text{ ng L}^{-1}$ ). Ovo navodi na zaključak da ispitivane vode pokazuju vrlo niske koncentracije EmS, značajno niže u odnosu na slične ekosisteme rijeka u Evropi.
- U odnosu na identifikovane koncentracije lijekova u uzorcima vode, utvrđeno je da ne postoji potencijani ekološki rizik, odnosno da su vrijednosti HQ iznosile ispod 0,01.
- Na osnovu svega izloženog može se zaključiti da su vode rijeke Morače i Skadarskog jezera, zahvaljujući prije svega dominaciji autotrofnih vrsta mikroorganizama, kao i prisustvu fizioloških grupa mikroorganizama još uvijek “nezagađeni” akvatični ekosistemi.

## PREPORUKE:

Bez obzira na to što je na osnovu HQ zaključeno da ne postoji potencijalni ekološki rizik, smatramo da se mora završiti projekat pravljenja novog postrojenja za prečišćavanje voda (otpadnih i odcjednih) koje nakon tretmana idu u rijeku Moraču, odnosno Skadarsko jezero.

Sagledavajući i to da je ovakvo sveobuhvatno istraživanje prvo ovakve vrste urađeno u Crnoj Gori, kao i da su slična istraživanja pokazala da se i poslije sistema za prečišćavanje voda EmS nalaze u vodi, dali smo sebi dodatni zadatak a to je kako da pomognemo vodenim ekosistemima da iskoriste svoje prirodne potencijale. U tu svrhu koristili smo model cilindričnog reaktora i autopurifikacije autohtonim mikroorganizmima. Izabrali smo lokalitet Vukovci zbog najbolje pristupačnosti. Kinetički cilindrični model reaktora dokazano povećava nivo autopurifikacije, smanjuje koncentracije NADCs, predstavlja odličnu teoriju za bolji regionalni razvoj i ekološku održivost. Rad je objavljen u *Application of the Model of Cylindrical Reactor for Self-Purification by Indigenous Microorganisms*.

## 8. LITERATURA

- Albright, L.J., Mc Crae, S.K. (1987): *Annual Bacterioplankton Biomasses and Productivities in a Temperature West Coast Canadian Fjord*, **Appl. Environ. Microbiol.**, 1277-1285.
- Alvero, C.C. (1987): *Antibiotic resistance of heterotrophic bacterial flora of two lakes*, **System Appl. Microbiol.**, 9, 169–172.
- Al-Ghazali, M.R., Jazrawi S.F., Al-Doori Z.A. (1988): *Antibiotic resistance among pollution indicator bacteria isolated from Al-Khair River, Baghdad*, **Water Res.**, 22, 641–644.
- Battaglin, W.A., Kolpin D.W., Scribner, E. A., Kuivila, K. M., Sandstrom, M.W. (2005): *Glyphosate, other herbicides, and transformation products in Midwestern streams, 2002.*, **Journal of the American Water Resources Association** 41(2): 323-332.
- Bečelić-Tomin, M., Leovac, A., Kerkez, D., Krčmar, D., Dalmacija, M. (2012): *Parametri kvaliteta vode i sedimenta i tumačenje standarda (imisioni standardi)*, PMF – Departman za hemiju, biohemiju i zaštitu životne sredine, Novi Sad, str. 133–208.
- Bianco, P. G., Kottelat, M. (2005): *Scardinius knezevici, a new species of rudd from Lake Skadar, Montenegro (Teleostei: Cyprinidae)*, **Ichthyol. Explor. Freshwat.** 16(3):231-238.
- Bonaparte, C. L. (1841): *Aspius alburnus (Aspius alborella)*. – In *Iconografia della fauna italica. Pesci*, Salvucci, Roma 3: 1832-1941.
- Boyd, C. E., Lichtkoppler, F. (1979): *Water quality management in pond fish culture*, **Research and Development series No. 22. Project AD/DSANG0039. Alabama**, 30 pp.
- Buser, H.R., Poiger, T., Müller, M.D. (1998): *Occurrence and fate of the pharmaceutical drug diclofenac in surface waters: rapid photodegradation in a lake*, **Environ. Sci. Technol.**, 32, 3449–3456.
- Bringolf, R.B., Heltsley, R.M., Newton, T.J., Eads, C.B., Fraley, S.J., Shea, D., Cope, W.G (2010): *Environmental occurrence and reproductive effects of the pharmaceutical fluoxetine in native freshwater mussels*, **Environ. Toxicol. Chem.**, 29, 1311–1318.
- Carmona E, Vincente, A., Picó, Y. (2014): *Occurrence of acidic pharmaceuticals and personal care products in Turia River Basin: from waste to drinking water*, **Science of the Total Environ. Volume 484**; 5363.
- Choi, K.H., Dobbs, F.C. (1999): *Comparison of two kinds of Biolog microplates (GN and ECO) in their ability to distinguish among aquatic microbial communities*, **J. Microbiol. Meth.**, 36: 203–213.
- Connell, D. W., Paul, L., Richardson, B. (2009): *Introduction to Ecotoxicology*. Hoboken, NJ, USA, Wiley-Blackwell 44–80.
- Campeau, R.C., Gulli, L.F., Graves J.F. (1996): *Drug resistance in Detroit River Gram-negative bacilli*, **Microbios.**, 88, 205–212.
- Carballa, M., Omil, F., Lema, J.M., Lompart, M., Garcia-Jares, C., Rodriguez, I., Gomez, M., Ternes, T. (2004): *Behavior of pharmaceuticals, cosmetics and hormones in a sewage treatment plant*, **Water Res.**, 38, 2918–2926.

- **Clara, M., Strenn, B., Kreuzinger, N. (2004):** *Carbamazepine as a possible anthropogenic marker in the aquatic environment: investigations on the behaviour of Carbamazepine in wastewater treatment and during groundwater infiltration*, **Water Res.**, **38**, 947–954.
- **Céspedes, R., Lacorte, S., Raldúa, D., Ginebreda, A., Barcelò, D., Piña, B. (2005):** *Distribution of endocrine disruptors in the Llobregat River basin (Catalonia, NE Spain)*, **Chemosphere** **61**, 1710–1719.
- Concentrations of medications, hormones and other emergent contaminants in the St. Lawrence and three of its tributaries. Retrieved from <http://publications.gc.ca/site/eng/474929/publication.html>
- **Choi, K.H., Dobbs, F.C. (1999):** *Comparison of two kinds of Biolog microplates (GN and ECO) in their ability to distinguish among aquatic microbial communities*, **J. Microbiol. Meth.** **36**, 203–213.
- **Dalmacija, B. (2001):** *Kontrola kvaliteta voda*, 381–457. Novi Sad, Prirodno-matematički fakultet, Institut za hemiju Katedra za hemijsku tehnologiju i zaštitu životne sredine.p.p. 1–243
- **Daughton, C.G.(2002):** *Environmental stewardship and drugs as pollutants*, **Lancet** **360**, 1035–1036.
- **Dobbin, P.S., Carter, J. P., San Juan. C., von Hob,e M., Powell, A. K., Richardson DJ.( 1999):***Dis-similatory Fe(III) reduction by Clostridium beijerinckii isolated from freshwater sediment using Fe(III) maltol enrichment*, **FEMS Microbiol. Lett.**, **176**, 131–138.
- **Daubner, I. (1975):** *Changes in the properties of E.coli under the influence of water environments*, **Verh. Internat. Verein. Limnol.**, **19**, 2650–2657.
- **Dimkić, M.A., Đurić, D., Milovanović, M., Laušević, M., Jevtić, G., Petković, A.(2011):***Natural attenuation of emerging pharmaceuticals by bank filtration in addressing regional groundwater management issues*, **Water Research and Management** **1** 29–45.
- **DIRECTIVE 2000/60 EC of the European Parliament and of the council of 23 October 2000.**
- **Đukić, N., Pujin, V., Maletin, S., Gajin, S., Gantar, M., Petrović, O., Ratajac, R., Seleši, Đ., Matavulj, M. (1991):** *Eutrofikacija stajaćih voda Vojvodine I deo u: Vode Vojvodine 1991*, **Godišnjak vodoprivrede Vojvodine**, Novi Sad.
- **European Commision, Proposal for a Directive of the European Parliament and of the Council amending Directives 2000/60/EC and 2008/105/EC as regards priority substances in the field of water policy**, in 2011/0429 (COD), Brussels, 2012.
- **Emerging substances, WHY DO WE NEED TO ADDRESS EMERGING SUBSTANCES?** Retrieved from <https://www.norman-network.net/?q=node/19>
- **Emergentne supstance i istraživanja 2020.** Retrieved from <http://ambassadors-env.com/wp-content/uploads/EMERGENTNE-SUPSTANCE.pdf>
- **Fries, E., Mihajlovic, I. (2011):** *Pollution of soils with organophosphorus flame retardants and plasticizers*, **J. Environ. Monit.** **13**, 2692–2694.
- **Gajin, S., Svirčev, Z., Galonja, T., Matavulj, M., Petrović, O., Radnović, D., Simeunović, J. (1998):** *Stanje vode reke Tamiš prema mikrobiološko-biohemijskim pokazateljima. Naučna monografija: Naš Tamiš*, Urednici: Marković B. I Svirev Z. **Univerzitet u Novom Sadu**. 39–44.
- **Garland, J.L., (1996):** *Analytical approaches to the characterization of samples of microbial communities using patterns of potential C source utilization*, **Soil Biol. Biochem.** **28**, 213–221.
- **Garland, J.L., Mills, A.L., (1991):** *Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level-sole-carbon-source-utilization*, **Appl. Environ. Microbiol.** **57**, 2351–2359.

- **Gould, T.W., Berninger, J.P., Connors, K.A. (2012):** *Human therapeutic plasma levels of the selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI) sertraline decrease serotonin reuptake transporter binding and shelter-seeking behavior in adult male fathead minnows*, **Environ. Sci. Technol.** **46(4):2427–2435**.
- **Gros, M., Rodríguez–Mozaz, S., Barceló, D. (2012):** *Fast and comprehensive multi-residue analysis of a broad range of human and veterinary pharmaceuticals and some of their metabolites in surface and treated waters by ultra-high-performance liquid chromatography coupled to quadrupole-linear ion trap tandem*, **J. Chromatog. A** **1248: 104–21**.
- **Huerta, B., Jakimska, A., Lorca, M., Ruhí, A., Margoutidis, G., Acuña, V., Sabater, S., Rodríguez–Mozaz, S., Barceló, D. (2015):** *Development of an extraction and purification method for the determination of multi-class pharmaceuticals and endocrine disruptors in freshwater invertebrates*, **Talanta** **132: 373–381**.
- **Huerta, B., Jakimska, A., Gros, M., Rodríguez–Mozaz, S., Barceló, D. (2013):** *Analysis of multiclass pharmaceuticals in fish tissues by ultra-high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry*, **J. Chromatogr. A** **1288: 63–72**.
- **Haunhuan D., Liyun G., Tan X., Mighua Z., Xuedong W., Yelei Z., Hong P. (2011):** *Analysis of the metabolic utilization of carbon sources and potential functional diversity of the bacterial community in lab-scale horizontal subsurface-flow constructed wetlands*, **J. Environ. Qual.** **40(6):1730–6**.
- **Heberer, T. (2002):** *Occurrence, Fate, and Removal of Pharmaceuticals Residues in the Aquatic Environment: A Review of Recent Research Data*, **Toxicology Letters**, **131, 5–17**.
- **Hirsch, R., Ternes T., Haberer K., Kratz K.L. (1999):** *Accurrence of antibiotics in the aquatic environment*, **Science of The Total Environment**, **Volume 225, Issues 1. 109–118**.
- **Halling-Sørensen, B., Nielsen, S.N., Lanzky, P.F., Ingerslev F., Lützhøft, H.C.H., and Jørgensen, S.E. (1998):** *Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment- a review*, **Chemosphere**, **36, 357–393**.
- **Hernando, M.D., Mezcua, M., Fernández–Alba, A.R., and Barceló D. (2006):** *Environmental risk assessment of pharmaceutical residues in wastewater effluents, surface waters and sediments*, **Talanta**, **69, 334–342**.
- **Huerta, B., Jakimska, A., Lorca, M., Ruhí, A., Margoutidis, G., Acuña, V., Sabater, S., Rodríguez–Mozaz, S., Barceló, D. (2015):** *Development of an extraction and purification method for the determination of multi-class pharmaceuticals and endocrine disruptors in freshwater invertebrates*, **Talanta** **132, 373–381**.
- **Huerta, B., Jakimska, A., Gros, M., Rodríguez–Mozaz, S., Barceló, D. (2013):** *Analysis of multiclass pharmaceuticals in fish tissues by ultra-high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry*, **J. Chromatogr. A** **1288, 63–72**.
- **Ibanez, M., Guerrero, C., Sancho, J.V., Hernandez F. (2009):** *Occurrence and ecotoxicological assessment of pharmaceuticals: Is there a risk for the Mediterranean aquatic environment?* **Chromatogr. A** **1216, 2529**
- **Ishida, Y., Shibahara, K., Uchida, H., Kadota, H. (1982):** *Distribution of Obligately Oligotrophic Bacteria in Lake biwa*, **Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish**, **46, 1151–1158**.

- **Jakimska, A., Huerta, B., Bargańska, Ż., Kot–Wasik, A., Rodríguez–Mozaz, S., Barceló, D. (2013):** *Development of a liquid chromatography–tandem mass spectrometry procedure for determination of endocrine disrupting compounds in fish from Mediterranean rivers*, **J. Chromatogr., A** 1306:44–58.
- **Jordanovski, M. T., Stafilov, T. (2000):** *Opterećenje litoralnog dijela Ohridskog jezera teškim metalima*, **Jugoslovensko društvo za zaštitu voda „Zaštita voda 2000“, Maruška banja**.
- **Jørgensen, S. E., Halling–Sørensen, B. (2000):** *Drugs in the environment* **Chemosph.**, 40(7): 691–699.
- **Janniche, G. S., Spliid, H., Albrechtsen, H. J., (2012):** *Microbial community–level physiological profiles (CLPP) and herbicide mineralization potential in groundwater affected by agricultural land use*, **J. Contam. Hydrol.** 140: 45–55.
- **Karaman, S. (1924):** *Pisces Macedoniae*, **Split**, pp 1-90.
- **Kastratović, V., Krivokapić, S., Đurović, D. (2020):** Vanadium uptake, translocation and bioaccumulation in ecosystem of Skadar Lake, Montenegro, **Zastita Materijala**, 61(1):31-40.
- **Kohl, W. (1975):** *Über die Bedeutung Bakteriologischer Untersuchungen für die Beurteilung von Fleisgewässern, dargestellt am Beispiel der Österreich, Donau*, **Arch. Hydrobiol.**, 44, IV 392–461.
- **Kolpin, D. W., Furlong, E. T., Meyer, M. T., Thurman, E. M., Zaugg, S. D., Barber, L. B., Buxton, H. T. (2002):** *Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999–2000: a national reconnaissance*, **Environ. Sci. Technol.**, 36, 1202–1211.
- **Kostanjšek, R., Lapanje, A., Drobne, Nikčević, S., Perović, A., Zidar, P., Štrus, J., Hollert, Karaman, G. (2005):** *Bacterial community structure analyses used in a case study of lake pollution (Lake Skadar, Balkan Peninsula)*, **ESPR-Environ Sci & Pollut Res**, 12(6), 23A, 361–368.
- **Laftewa, N. A. (1987):** *Ecological characteristics of Caulobacter incidence in fresh-water basins*, **Mikrobiologija**, T 56, No 4, 677–685.
- **Lajeunesse, A., Gagnon, C., Gagne, F. (2011):** *Distribution of antidepressants and their metabolites in brook trout exposed to municipal wastewaters before and after ozone treatment--evidence of biological effects*, **Chemosphere** 83. 564.
- **Landis, G. W., and Yun, M. H. (1995):** *Introduction to Environmental Toxicology. Impacts of Chemicals Upon Ecological Systems*, **Lewis Publishers** 1–328.
- **Loos, R. G., Locoro, G., Contini, S. (2010):** *Occurrence of polar organic contaminants in the dissolved water phase of the Danube River and its major tributaries using SPE-LC-MS2 analysis*, **Water Res.** 44. 2325–2335.
- **Leschine, J., and Canale-Parola, D. (1983):** *Mesophilic cellulolytic clostridia from freshwater environments*, **Appl. Envi. Microbiol.**, 46: 728–737.
- **Lehman, R. M., Colwell, F. S., Ringelberg, D. B., White, D. C., (1995):** *Combined microbial community-level analyses for quality assurance of terrestrial subsurface cores*, **J. Microbiol. Methods** 22, 263–281.
- **Linnaeus C. (1758):** *Systema naturae per regna tria naturae, secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis. Tomus I.*



- **Marković, D. M. (2015):** *Ispitivanje ekotoksičnosti proizvoda degradacije organskih zagađujućih supstanci u vodi nakon tretmana unapređenim oksidacionim procesima*, **Doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu, Hemijski Fakultet.**
- **Malik, A., Ahmad, M. (1994):** *Incidence of drug and metal resistance in E. coli strains from sewage water and soil*, **Chem. Environ. Res.**, **3**, 3–11.
- **Mustapha, M. K. (2008):** *Assessment of the Water Quality of Oyun Reservoir, Offa, Nigeria, Using Selected Physico-Chemical Parameters*, **Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, **8**: 309–319.
- **Mehinto, A.C., Hill, E.M., Tyler, C.R. (2010):** *Uptake and biological effects of environmentally relevant concentrations of the nonsteroidal anti-inflammatory pharmaceutical diclofenac in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss)*, **Environ. Sci. Technol.** **44**. 2176.
- **Mihajlovic, I., Fries, E. (2012):** *Atmospheric deposition of chlorinated organophosphate flame retardants (OFR) onto soils*, **Atmos. Environ.** **56**.177–183.
- **Mihajlovic, I., Vojinovic--Miloradov, M., Fries, E. (2011):** *Application of Twisselmann extraction, SPME, and GC-MS to assess input sources for organophosphate esters into soil*, **Environ. Sci. Technol.** **45**, 2264–2269.
- **Ministarstvo ekologije, prostornog planiranja i urbanizma.** Retrieved from [www.mrt.gov.me](http://www.mrt.gov.me)
- **Neilson, A. H. (2000):** *Organic Chemicals: An Environmental Perspective*, **Lewis Publisher** 103–177.
- **Noris, J.R. Ribbons, D.W. (1971):** *Methods in microbiology*, **Academic press, London, New York**, Vol. 6A
- **Rodina, A.G. (1965):** *Metode u vodenoj mikrobiologiji*, **Izdanje "Nauka", Moskva-Lenjigrad.**
- **Nyholm, N. Ingerslev, F. Berg, U.T. Pedersen, J.P. Frimer– Larsen, H. (1996):** *Estimation of kinetic rate constants for biodegradation of chemicals in activated sludge wastewater treatment plants using short term batch experiments and µg/L range spiked concentrations*, **Chemosphere** **33**, 851–864.
- **Osorio, V., Marcé, R., Pérez, S., Ginebreda, A., Cortina, J.L., Barceló, D. (2012):** *Occurrence and modeling of pharmaceuticals on a sewage-impacted Mediterranean river and their dynamics under different hydrological conditions*, **Sci. Total Environ.** **440**, 3–13.
- **Otieno, A.A., Kitur, E.L., Gathuru, G. (2017):** *Physico-Chemical Properties of River Kisat, Lake Victoria Catchment, Kisumu County*, **Kenya Environ Pollut Climate Change 2017, Vol 1(4):** 4.
- **Overbeck, J., Chrost, R. (1990):** *Substrate-ectoenzyme interaction: Significance of β-glucosidase activity for glucose metabolism by aquatic bacteria*, **Arch. Fur Hydrobiologie** **34**: 93–98.
- **Orias, J., and Perrodin, Y. (2013):** *Characterization of the Ecotoxicity of Hospital Effluents: A Review*, **Science of The Total Environment**, 250–276.
- **Passerat, J., Ouattara, N. K., Mouchel, J.M., Rocher, V. and Servais, P. (2011):** *Impact of an intense combined sewer overflow event on the microbiological water quality of the Seine River*, **Water Research**, **45**, 893–903.
- **Perovic, S., Sljukic, B., Šrut, M., Perovic, A., Klobucar G. (2020):** *Evaluation of DNA damage in haemolymph of freshwater mussels Unio pictorum from Skadar Lake*. **Biologia**, **75**, pp.431-436.
- **Perovic, A., Perovic, S., Erdinger L. and Hollert H. (2012):** *"Assessment of genotoxic potential of the Lake Skadar sediments extracts using the comet assay with fish cell line RTL-W1 and Ames test"*, **Archive of Biological Sciences**, Vol. 64, Issue 1, pp. 249-256 ISSN 1821- 4339. JCR IF 2010=0.356.

- Petrović, O. Gajin, S. Matavulj, M. Radnović, D. Svirčev, Z. (1998): Mikrobiološko ispitivanje kvaliteta površinskih voda, Institut za biologiju, Novi Sad. 1–122.
- Petrović, D., Krivokapić, S. (2020): The Effect of Cu, Zn, Cd, and Pb Accumulation on Biochemical Parameters (Proline, Chlorophyll) in the Water Caltrop (*Trapa natans* L.), Lake Skadar, Montenegro, *Plants* 9(10).
- Petrović, G., Beeton A. (1981): *The chemistry of Lake Skadar, The biota and limnology of Lake Skadar*, Published by Univerzitet "Veljko Vlahović" Institut za biološka i medicinska istraživanja u SRCG Biološki zavod Titograd, Yugoslavia. 1–446 (67–109).
- Petrović, M., Hernando, M.D., Díaz-Cruz, M. S., Barceló, D. (2005): *Liquid chromatography- tandem mass spectrometry for the analysis of pharmaceutical residues in environmental samples: a review*, *Journal of Chromatography A*, 1067(1–2): 1–14.
- Prikaz jedinjenja koji se ispituju na BIOLOGTM EcoPLate. Retrieved from <https://bioloq.com/products-portfolio-overview/microbial-community-analysis-with-the-coplates/>
- Petrović, M. Gonzalez, S. Barceló, D. (2003): *Analysis and removal of emerging contaminants in wastewater and drinking water*, *Trends Anal. Chem.*, 22, 685–696.
- Preston–Mafham, J., Boddy, L., Randerson, P.F. (2002): *Analysis of microbial community functional diversity using sole-carbon-source utilisation profiles – a critique*, *FEMS Microbiol Ecol.* 1,42(1):1–14.
- Radonjić, D., Krivokapić, M. (2006): Mikrobiološke i saprobiološke karakteristike rijeke Morače i Skadarskog jezera u toku 2004/2005., 35. Konferencija o aktuelnim problemima korišćenja i zaštite vode, Voda 2006. Zlatibor 6-9 jun 2006. 1–468 (133–138).
- Radulović, V. (1989): *Hidrogeologija sliva Skadarskog jezera*. Titograd, 1–228.
- Radulović, M. (2000): *Hidrogeologija karsta Crne Gore, doktorska disertacija Podgorica*. 1-- 276.
- Robinson, I. Junqua, G. Van Coillie, R. and Thomas O. (2007): *Trends in the detection of pharmaceutical products, and their impact and mitigation in water and wastewater in North America*, *Anal. Bioanal. Chem.*, 387, 1143–1151.
- 103. Radtke, T.M. and Gist, G.L. (1989): *Wastewater sludge disposal- antibiotic resistant bacteria may pose health hazard*, *J. Environ. Health*, 52, 102–105.
- 104. Roberts, P.H., and Thomas, K.V. (2006): *The occurrence of selected pharmaceuticals in wastewaters effluent and surface waters of lower Tyne catchment*, *Sci. Total Environ.*, 356, 143–153.
- 105. Radonjić, D. (2016): *Analysis and interpretation of community-level physiological profiles in Microbial ecology for some locations in Montenegro*, *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences (JBES)*, 116 –125.
- Radonjic, D. (2017): *Correlation of Emerging Substances and Physiological Groups of Microorganisms in Surface Water of River Moraca*, *International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology (IJEAB)*. Vol-2, Issue-1, 90–100.
- Rodriguez–Mozaz, S., Weinberg, H.S. (2007): *Meeting Report: Pharmaceuticals in Water An Interdisciplinary Approach to a Public Health*, *Challenge Environ. Health Perspect.* 118(7): 1016-1020.

- Ramirez, A.J., Mottaleb, M.A., Brooks, B.W., Chambliss, C.K. (2007): *Analysis of pharmaceuticals in fish using liquid chromatography-tandem mass spectrometry*, **Anal. Chem.** **79**, 3155.
- Radonjić, D., Krivokapić, M., Miloradov–Vojinović, M. (2013): *Identification of Emergent Substances as an Indicator of the Presence of Microorganism in the Downstream of River Morača in Locality- Vukovci*, **Journal of Environmental Science and Engineering**; David Publishing: 183–187.
- Sánchez–Bayo, F., Baskaran, S., Kennedy, I.R. (2002): *Ecological Relative Risk (EcoRR): Another approach for risk assessment of pesticides*, **Agric. Ecosyst. Environ.** **91**, 37–57.
- Sladaček V. (1973): *System of Water Quality from Biological Point of View*. **Arch. Hydrobiol.**, **7**, *Ergebnisse der Limnologie*, **7**, 1–218.
- Spino, D.F. (1985): *Characterization of dyagnostic, heterotrophic bacteria from drinking water*, **Appl. Environ. Microbiol.**, **50**, 1213–1218.
- Stirling, L. A., Watkinson, R. J., Higgins, I. J. (1977): *Microbial metabolism of alicyclic hydrocarbons: isolation and properties of a cyclohexane-degrading bacterium*, **J. Gen.**
- (Sl. list RCG 16/96).
- Škunca–Milovanović, S., Feliks, R., Đurović, B. (1990): *Vode za piće, Standardne metode za ispitivanje higijenske ispravnosti vode za piće*, Izdavač Savezni zavod za zdravstvenu zaštitu Beograd: 1–1229.
- Vojinović–Miloradov, M., Dimkić, M., Stupavski, S., Jakanović, B., Beronja, B., Tot, M., Stošić, M. (2011): *Emerging substances of concern and their occurrence in surface water and groundwater*, TOP 2011, Časta, Papirnička, Slovak Republic, 2011, Proceedings, pp. 277–98.
- Vojinović–Miloradov, M., Turk, M., Sekulić, J., Radonić, I., Mihajlović, M., Stošić, M. (2011): *Emerging substances of concern—a shift in traditional thinking*, XV International Eco Conference on environmental protection of urban and suburban settlements, Novi Sad, Serbia, 2011, Proceedings, pp. 265–271.
- Vojinović–Miloradov, M., Turk, M., Sekulić, M., Radonić, J., Milić, N., Grujić– Letić, N., Mihajlović, I., Milanović Lj. (2014): *Industrijske emergentne hemikalije u životnom okruženju*, **Hem Ind.** **2014**; **68**(1): 51–62.
- Vojinović–Miloradov, M., Turk, M., Sekulić, J., Radonić, J., Kiurski, D., Milovanović, I., Spanik, I., Mihajlović, I. (2011): *Pseudopersistent pollutant in the environment: emerging substances*, XVII International Symposium on Analytical and Environmental Problems, Szeged, Hungary, 2011, Proceedings, pp. 180–184.
- Vandenberg, N. L., Colborn, T., Hayes, B.T., Heindel, J. J., Jacobs, R. D., Duk-Hee Lee Jr., T- S., Soto, M. A., vom Saal, S.F., Welshons, V.W., Zoeller, T., Peterson–Myers, J. (2012): *Hormones and Endocrine-Disrupting Chemicals:Low-Dose Effects and Nonmonotonic Dose Responses* **Endocrine Reviews**, First published ahead of print Marc 14, 2012.
- Topalović, A., Nikčević, S., Pešić, V. (2003): *Ispitivanje kvaliteta voda Skadarskog jezera u 2002. godini*, Zbornik radova »Ekološka istina 2003«, XI naučno – stručni skup o prirodnim vrednostima i zaštiti životne sredine, Donji Milanovac, 2.-4. jun, 331–334.

- **Tumpling, W. (1969):** *Zur klassifizierung der Wasserbeschaffenheit aus Biologischer Sicht.* **Wiss. Z. Univ. Rostock**, 18: 793-798.
- **Ternes, T.A., Meisenheimer, M., McDowell, D., Sacher, F., Brauch, H.J., Haist-Gulde, B., Preuss, G., Wilme, U., Zulei-Seibert, N. (2002a):** *Removal of pharmaceuticals during drinking water treatment*, **Environ. Sci. Technol.**, 36, 3855–3863.
- **Winding, A. (1994):** *Fingerprinting bacterial soil communities using Biolog microtitre plates*, **In: Beyond the Biomass (Ritz K. Dighton J. Giller K.E., Eds.)**, pp. 85–94. **John Wiley and Sons, Chichester.**
- **Webb, S.F. (2001):** *A data based perspective on the environmental risk assessment of human pharmaceuticals II-aquatic risk characterization*, **Pharmaceuticals in the Environment. Springer**, pp. 203–219.
- **Welshons, V., Wade, T., Thayer, A. (2003):** Large effects from small exposures. I. *Mechanisms for endocrine-disrupting chemicals with estrogenic activity*, **Environ Health Perspect.** 111(8): 994–1006.

## **PRILOG 1.**

### **NORMAN TABELA IMENA KSENOBIOTIKA**

*Prilog 1. NORMAN tabela imena ksenobiotika*

| <i>Ime substance</i>  | <i>Akronim</i>   | <i>Ok</i>   | <i>NORMAN</i> | <i>Status NORMAN list</i> |
|---|------------------|-------------|---------------|---------------------------|
| Microcystin-LR  |                  | 101043-37-2 | NORMAN 2011   | Former NORMAN             |
| Microcystin-RR  |                  | 111755-37-4 | NORMAN 2011   | Former NORMAN             |
| Microcystin-YR  |                  | 101064-48-6 | NORMAN 2011   | Former NORMAN             |
| Surfinol-104  |                  | 126-86-3    | NORMAN 2011   | NORMAN                    |
| 2,6-Di-tert-butylphenol   |                  | 128-39-2    | NORMAN 2011   | NORMAN                    |
| Butylated hydroxyanisole  | BHA              | 25013-16-5  | NORMAN 2011   | NORMAN                    |
| tert-Butylhydroquinone  | TBHQ             | 1948-33-0   | NORMAN 2011   | NORMAN                    |
| Butylated hydroxytoluene  | BHT              | 128-37-0    | NORMAN 2011   | NORMAN                    |
| Cybutryne (Irgarol)   |                  | 28159-98-0  | NORMAN 2011   | Former NORMAN (PS)        |
| Dibutyl tin ion   |                  | 1002-53-5   | NORMAN 2011   | Former NORMAN             |
| Monobutyl tin ion   |                  | 78763-54-9  | NORMAN 2011   | Former NORMAN             |
| Tetrabutyl tin ion  |                  | 1461-25-2   | NORMAN 2011   | Former NORMAN             |
| Triphenyltin cation   |                  | 668-34-8    | NORMAN 2011   | Former NORMAN             |
| Trichloronitromethane (Chloropicrin)  |                  | 76-06-2     | NORMAN 2011   | Former NORMAN             |
| Diethylenetriaminepentaacetic acid  | DTPA             | 67-43-6     | NORMAN 2011   | Former NORMAN             |
| Ethylenediaminetetraacetic acid   | EDTA             | 60-00-4     | NORMAN 2011   | Former NORMAN             |
| Nitrilotriacetic acid   | NTA              | 139-13-9    | NORMAN 2011   | Former NORMAN             |
| Oxadixyl  |                  | 77732-09-3  | NORMAN 2011   | NORMAN                    |
| Tetraacetylenediamine   | TAED             | 10543-57-4  | NORMAN 2011   | NORMAN                    |
| Naphthalene sulphonic acid  |                  | 120-18-3    | NORMAN 2011   | Former NORMAN             |
| C10-C14-LAS   |                  | 69669-44-9  | NORMAN 2011   | NORMAN                    |
| C12-LAS   |                  | 25155-30-0  | NORMAN 2011   | NORMAN                    |
| 4-Nonylphenol di-ethoxylate /<br>2-(2-(4-Nonylphenoxy)ethoxy)<br>ethanol                      | NPE20 group      | 20427-84-3  | NORMAN 2011   | Former NORMAN             |
| 4-Nonylphenol mono-ethoxylate   | NPE10 group      | 104-35-8    | NORMAN 2011   | Former NORMAN             |
| 4-Nonylphenoxy acetic acid  | NPE1C            | 3115-49-9   | NORMAN 2011   | Former NORMAN             |
| 2-(2-(4-Nonylphenoxy)ethoxy)acetic<br>acid  | NPE2C            | 106807-78-7 | NORMAN 2011   | Former NORMAN             |
| 2-[2-[4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)<br>phenoxy]ethoxy]ethanol /<br>4-Octylphenol di-ethoxylate | OPE20            | 2315-61-9   | NORMAN 2011   | Former NORMAN             |
| 2-[4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)<br>phenoxy]ethanol / 4-Octylphenol<br>mono-ethoxylate         | OPE10            | 2315-67-5   | NORMAN 2011   | Former NORMAN             |
| 4-Octylphenoxy acetic acid  | OPE1C            | 15234-85-2  | NORMAN 2011   | Former NORMAN             |
| Cyanoformaldehyde   |                  | 4471-47-0   | NORMAN 2011   | NORMAN                    |
| Decabromodiphenyl ethane  | DBDPE / BDPE-209 | 84852-53-9  | NORMAN 2011   | NORMAN                    |
| Hexabromocyclododecane  | HBCDD            | 25637-99-4  | NORMAN 2011   | Former NORMAN (PS)        |

|   |   |   |             |                    |
|---|---|---|-------------|--------------------|
| n-Nitrosodimethylamine  | NDMA / DMNA                                       | 62-75-9                                   | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Benzylbutylphthalate  | BBP   | 85-68-7                                   | NORMAN 2011 | Former NORMAN      |
| Diethyl phthalate   | DEP   | 84-66-2                                   | NORMAN 2011 | Former NORMAN      |
| Dimethylphthalate   | DMP   | 131-11-3                                  | NORMAN 2011 | Former NORMAN      |
| Di-n-butylphthalate   | DBP   | 84-74-2                                   | NORMAN 2011 | Former NORMAN      |
| Di-n-octylphthalate   | DOP   | 117-84-0                                  | NORMAN 2011 | Former NORMAN      |
| Bisphenol A   |   | 80-05-7                                   | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Triphenyl phosphate   | TPHP  | 115-86-6                                  | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| 2,4-Dihydroxybenzophenone                                       |   | 131-56-6                                  | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| 1,2,5,6,9,10 -<br>Hexabromocyclododecane                        | HBCDD / HBCD (5<br>isomers - alpha to<br>epsilon) | 3194-55-6                                 | NORMAN 2011 | Former NORMAN (PS) |
| 2,2',3,4,4',5',6'-Heptabromodiphenyl<br>ether                   | BDE-183   | 207122-16-5                               | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| 2,2',4,4',5',6'-Hexabromodiphenyl<br>ether                      | BDE-153   | 68631-49-2                                | NORMAN 2011 | Former NORMAN (PS) |
| 2,2',4,4',5',6'-Hexabromodiphenyl<br>ether                      | BDE-154   | 207122-15-4                               | NORMAN 2011 | Former NORMAN (PS) |
| 2,2',4,4'-Tetrabromodiphenyl ether                              | BDE-47  | 5436-43-1                                 | NORMAN 2011 | Former NORMAN (PS) |
| 2,2',3,3',4,4',5,5',6,6'-<br>Decabromodiphenyl ether            | BDE-209   | 1163-19-5                                 | NORMAN 2011 | Former NORMAN (PS) |
| Octabromodiphenyl ethers  |   | 32536-52-0                                | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Tetrabromobisphenol A bis<br>(2,3-dibromopropyl) ether          | TBBPA-BDBPE                                       | 21850-44-2                                | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Tris(2-carboxyethyl)phosphine<br>hydrochloride                  | TCEP, Hydrochloride                               | 51805-45-9                                | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Tris(1,3-dichloroisopropyl) phosphate                           | TDCIPP  | 13674-87-8                                | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Triethyl phosphate  | TEP   | 78-40-0                                   | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Tributyl phosphate  | TNBP  | 126-73-8                                  | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Tris(2-chloroethyl) phosphate                                   | TCEP  | 115-96-8                                  | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Long-chained chloroalkanes (C18-30)                             | LCCP, CxH(2x-y+2)Cly                              | Trichloronitrometh-<br>ane (Chloropicrin) | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Medium-chained chloroalkanes,<br>(C14-17)                       | MCCP, CxH(2x-y+2)Cly                              | 63449-39-8                                | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Technical polychlorinated alkanes<br>products (Alkanes, chloro) |   | 61788-76-9                                | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Acetylcedrene   |   | 32388-55-9                                | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Benzylacetate   |   | 140-11-4                                  | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Benzylsalicylate  |   | 118-58-1                                  | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Camphor   |   | 76-22-2                                   | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| g-Methylionone  |   | 127-51-5                                  | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Hexylcinnamaldehyde   |   | 101-86-0                                  | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Isoborneol  |   | 124-76-5                                  | NORMAN 2011 | NORMAN             |



|   |                 |             |             |               |
|---|-----------------|-------------|-------------|---------------|
| Isobornylacetate  |                 | 125-12-2    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Isoquinoline  |                 | 119-65-3    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Methyldihydrojasmonate (Methyl 3-oxo-2-pentylcyclopentaneacetate) |                 | 24851-98-7  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Methylsalicylate  |                 | 119-36-8    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| p-t-Bucinal (Lilial)  |                 | 80-54-6     | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| alpha-Terpineol   |                 | 98-55-5     | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Musk ketone   |                 | 81-14-1     | NORMAN 2011 | Former NORMAN |
| Musk xylene   |                 | 81-15-2     | NORMAN 2011 | Former NORMAN |
| Tonalide  | AHTN            | 1506-02-1   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Galaxolide  |                 | 1222-05-5   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Boisvelone / Iso-E super  | OTNE            | 54464-57-2  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Methyl-tert-butyl ether   | MTBE            | 1634-04-4   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 2-(N-ethylperfluorooctanesulfonamido)-ethyl alcohol               | N-Et-FOSE       | 1691-99-2   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 2-(N-methylperfluorooctanesulfonamido)-ethyl alcohol              | N-Me-FOSE       | 24448-09-7  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 6:2 Fluorotelomer sulfonate (anion)                               | 6:2 FTS (anion) | 425670-75-3 | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| N-ethylperfluorooctanesulfonamide                                 | N-EtFOSA        | 4151-50-2   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| N-methylperfluorooctanesulfonamide                                | N-MeFOSA        | 31506-32-8  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| N-methylperfluorooctanesulfonamidoethyl acrylate                  | N-MeFOSEA       | 25268-77-3  | NORMAN 2011 | Former NORMAN |
| Perfluorobutanesulfonate (anion)                                  | PFBS (anion)    | 45187-15-3  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Perfluorodecane sulfonate (anion)+                                | PFDS (anion)    | 126105-34-8 | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Perfluorodecanoic acid  | PFDA            | 335-76-2    | NORMAN 2011 | Former NORMAN |
| Perfluorododecanoic acid  | PFDoA           | 307-55-1    | NORMAN 2011 | Former NORMAN |
| Perfluoroheptanoic acid   | PFHpA           | 375-85-9    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Perfluorohexanoic acid  | PFHxA           | 307-24-4    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Perfluorohexane sulfonate (anion)                                 | PFHxS (anion)   | 108427-53-8 | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Perfluorononanoic acid  | PFNA            | 375-95-1    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Perfluorooctane sulfonamide                                       | PFOSA           | 754-91-6    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Perfluorooctanesulfonyl fluoride                                  | POSF            | 307-35-7    | NORMAN 2011 | Former NORMAN |
| Perfluorooctanoic acid  | PFOA            | 335-67-1    | NORMAN 2011 | Former NORMAN |
| Perfluorotetradecanoic acid                                       | PFTeDA          | 376-06-7    | NORMAN 2011 | Former NORMAN |
| Perfluoro-n-undecanoic acid                                       | PFUnA           | 2058-94-8   | NORMAN 2011 | Former NORMAN |
| 2-(Perfluorobutyl)ethanol   | 4:2 FTOH        | 2043-47-2   | NORMAN 2011 | Former NORMAN |
| 2-(Perfluorohexyl)ethanol   | 6:2 FTOH        | 647-42-7    | NORMAN 2011 | Former NORMAN |
| 2-(Perfluoro-n-octyl)ethanol                                      | 8:2 FTOH        | 678-39-7    | NORMAN 2011 | Former NORMAN |
| 2-(Perfluorodecyl)ethanol   | 10:2 FTOH       | 865-86-1    | NORMAN 2011 | Former NORMAN |
| 2-(Perfluorododecyl)ethanol                                       | 12:2 FTOH       | 39239-77-5  | NORMAN 2011 | Former NORMAN |
| 4-Methylbenzylidene camphor                                       |                 | 36861-47-9  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Benzophenone  |                 | 119-61-9    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Oxybenzone  |                 | 131-57-7    | NORMAN 2011 | NORMAN        |

|   |       |             |             |                    |
|---|-------|-------------|-------------|--------------------|
| Butyl methoxydibenzoylmethane                       |       | 87075-14-7  | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Ethylhexyl methoxycinnamate                         |       | 5466-77-3   | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Benzaldehyde, (phenylmethylene) hydrazone (Eusolex) |       | 588-68-1    | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Homosalate  |       | 118-56-9    | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| N,N-Diethyltoluamide                                | DEET  | 134-62-3    | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Octocrylene   |       | 80135-31-5  | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Picaridin (Bayrepel)                                |       | 658051-75-3 | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Octamethylcyclotetrasiloxane (D4)                   |       | 556-67-2    | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Decamethylcyclopentasiloxane (D5)                   |       | 541-02-6    | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Dodecamethylcyclohexasiloxane (D6)                  |       | 540-97-6    | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Hexamethyldisiloxane (HM or HMDS)                   |       | 107-46-0    | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Octamethyltrisiloxane (MDM)                         |       | 107-51-7    | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Decamethyltetrasiloxane (MD2M)                      |       | 141-62-8    | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Dodecamethylpentasiloxane (MD3M)                    |       | 141-63-9    | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Methyl paraben                                      |       | 99-76-3     | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Ethyl paraben                                       |       | 120-47-8    | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Propyl paraben                                      |       | 94-13-3     | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Isobutyl paraben                                    |       | 4247-02-3   | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Aminotriazole                                       |       | 61-82-5     | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Bentazone   |       | 25057-89-0  | NORMAN 2011 | Former NORMAN      |
| Bromofos-ethyl                                      |       | 4824-78-6   | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Carbazole   |       | 86-74-8     | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Carbendazim   |       | 10605-21-7  | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Carboxin  |       | 5234-68-4   | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Glyphosate  |       | 1071-83-6   | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Chloridazon   |       | 1698-60-8   | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Clopyralid  |       | 1702-17-6   | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Chlorpropham  |       | 101-21-3    | NORMAN 2011 | Former NORMAN      |
| Chlorotoluron                                       |       | 15545-48-9  | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid                      | 2,4-D | 94-75-7     | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Dicamba   |       | 1918-00-9   | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Desethylterbutylazin                                |       | 30125-63-4  | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Desmedipham   |       | 13684-56-5  | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Desmetryn   |       | 1014-69-3   | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Diazinon  |       | 333-41-5    | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Dichlobenil   |       | 1194-65-6   | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Dichlorvos  |       | 62-73-7     | NORMAN 2011 | Former NORMAN (PS) |
| Dinoterb  |       | 1420-07-1   | NORMAN 2011 | Former NORMAN      |
| Endosulfan-sulfate                                  |       | 1031-07-8   | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Ethoprophos   |       | 13194-48-4  | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Ethofumesate  |       | 26225-79-6  | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Fluroxypyr  |       | 69377-81-7  | NORMAN 2011 | NORMAN             |

|   |          |             |             |                    |
|---|----------|-------------|-------------|--------------------|
| Eptenofos   |          | 23560-59-0  | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Iodofenphos   |          | 18181-70-9  | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Imidaclopride   |          | 138261-41-3 | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| d-Limonene  |          | 5989-27-5   | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| 2-methyl-4-chlorophenoxyacetic acid                                 | MCPA     | 94-74-6     | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| 4-(4-chloro-o-tolyloxy) butyric acid                                | 2,4-MCPB | 94-81-5     | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Mecoprop  | MCPB     | 7085-19-0   | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Metalaxyl   |          | 57837-19-1  | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Methomyl  |          | 16752-77-5  | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Metamitron  |          | 41394-05-2  | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Mevinphos   |          | 7786-34-7   | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Phenmedipham  |          | 13684-63-4  | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Prometryn   |          | 7287-19-6   | NORMAN 2011 | Former NORMAN      |
| Prometon  |          | 1610-18-0   | NORMAN 2011 | Former NORMAN      |
| Secbumeton  |          | 26259-45-0  | NORMAN 2011 | Former NORMAN      |
| Terbutryn   |          | 886-50-0    | NORMAN 2011 | Former NORMAN (PS) |
| Terbuthylazine  |          | 5915-41-3   | NORMAN 2011 | Former NORMAN      |
| Thiabendazole   |          | 148-79-8    | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Triadimefon   |          | 43121-43-3  | NORMAN 2011 | Former NORMAN      |
| Triphenylphosphine oxide  | TPPO     | 791-28-6    | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Cypermethrin  |          | 52315-07-8  | NORMAN 2011 | Former NORMAN (PS) |
| Deltamethrin  |          | 52918-63-5  | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Permethrin  |          | 52645-53-1  | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Sulfonyl urea   |          | 35507-37-0  | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| 6-Deisopropylatrazine / 6-chloro-N-ethyl-1,3,5-Triazine-2,4-diamine |          | 1007-28-9   | NORMAN 2011 | Former NORMAN      |
| Desethylatrazine  |          | 6190-65-4   | NORMAN 2011 | Former NORMAN      |
| Dichlofluanid   |          | 1085-98-9   | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Triclosan   |          | 3380-34-5   | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Methyl triclosan  |          | 4640-01-1   | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| o-Benzyl-p-chlorophenol (Chlorophene)                               |          | 120-32-1    | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Acetaminophen (Paracetamol)   |          | 103-90-2    | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Acetylsalicylic acid (Aspirin)                                      |          | 50-78-2     | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Alclofenac  |          | 22131-79-9  | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Codeine   |          | 76-57-3     | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Hydrocodone   |          | 125-29-1    | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Phenazone   |          | 60-80-0     | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Propyphenazone  |          | 479-92-5    | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Fenfluramine  |          | 458-24-2    | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Ivermectin  |          | 70288-86-7  | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Amoxicillin   |          | 26787-78-0  | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Ampicillin  |          | 69-53-4     | NORMAN 2011 | NORMAN             |

|                           |  |             |             |        |
|---------------------------|--|-------------|-------------|--------|
| Azithromycin              |  | 83905-01-5  | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Chloramphenicol           |  | 56-75-7     | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Chlortetracycline         |  | 57-62-5     | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Ciprofloxacin             |  | 85721-33-1  | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Clarithromycin            |  | 81103-11-9  | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Cloxacillin               |  | 7081-44-9   | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Danofloxacin              |  | 112398-08-0 | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Dicloxacillin             |  | 3116-76-5   | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Doxycycline (anhydrous)   |  | 94088-85-4  | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Doxycycline (monohydrate) |  | 564-25-0    | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Enoxacin                  |  | 74011-58-8  | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Enrofloxacin              |  | 93106-60-6  | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Erythromycin              |  | 114-07-8    | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Flumequine                |  | 42835-25-6  | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Josamycin                 |  | 16846-24-5  | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Lincomycin                |  | 859-18-7    | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Methicillin               |  | 61-32-5     | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Minocycline               |  | 13614-98-7  | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Norfloxacin               |  | 70458-96-7  | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Novobiocin                |  | 1476-53-5   | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Ofloxacin                 |  | 82419-36-1  | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Oleandomycin              |  | 3922-90-5   | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Oxacillin                 |  | 66-79-5     | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Oxytetracycline           |  | 79-57-2     | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Penicillin G              |  | 61-33-6     | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Penicillin V              |  | 87-08-1     | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Roxithromycin             |  | 80214-83-1  | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Spiramycin                |  | 8025-81-8   | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Sulfadiazine              |  | 68-35-9     | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Sulfamerazine             |  | 127-79-7    | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Sulfamethazine            |  | 57-68-1     | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Sulfamethoxazole          |  | 723-46-6    | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Sulfapyridine             |  | 144-83-2    | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Tetracycline              |  | 60-54-8     | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Tiamulin                  |  | 55297-95-5  | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Fluvoxamine               |  | 54739-18-3  | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Paroxetine                |  | 61869-08-7  | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Glibenclamide (Glyburide) |  | 10238-21-8  | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Metformin                 |  | 657-24-9    | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Diphenhydramine           |  | 58-73-1     | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Carbamazepine             |  | 298-46-4    | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Primidone                 |  | 125-33-7    | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Loratadine                |  | 79794-75-5  | NORMAN 2011 | NORMAN |

|                                   |  |             |             |        |
|-----------------------------------|--|-------------|-------------|--------|
| Nadolol                           |  | 42200-33-9  | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Verapamil                         |  | 52-53-9     | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Aceclofenac                       |  | 89796-99-6  | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Acemetacin                        |  | 53164-05-9  | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Diclofenac                        |  | 15307-86-5  | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Fenoprofen                        |  | 31879-05-7  | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Fenoprofen calcium salt dihydrate |  | 53746-45-5  | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Ibuprofen                         |  | 15687-27-1  | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Indomethacin                      |  | 53-86-1     | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Ketoprofen                        |  | 22071-15-4  | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Meclofenamic acid                 |  | 644-62-2    | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Mefenamic acid                    |  | 61-68-7     | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Naproxen                          |  | 22204-53-1  | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Phenylbutazone                    |  | 50-33-9     | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Tolfenamic acid                   |  | 13710-19-5  | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Cyclophosphamide                  |  | 50-18-0     | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Daunorubicin                      |  | 20830-81-3  | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Doxorubicin                       |  | 25316-40-9  | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Epirubicin                        |  | 56420-45-2  | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Fluorouracil                      |  | 51-21-8     | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Ifosfamide                        |  | 3778-73-2   | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Famotidine                        |  | 76824-35-6  | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Lansoprazole                      |  | 103577-45-3 | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Omeprazole                        |  | 73590-58-6  | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Ranitidine                        |  | 66357-35-5  | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Acyclovir                         |  | 59277-89-3  | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Alprazolam                        |  | 28981-97-7  | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Bromazepam                        |  | 1812-30-2   | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Diazepam                          |  | 439-14-5    | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Lorazepam                         |  | 846-49-1    | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Medazepam                         |  | 2898-12-6   | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Meprobamate                       |  | 57-53-4     | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Nordiazepam                       |  | 1088-11-5   | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Oxazepam                          |  | 604-75-1    | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Temazepam                         |  | 846-50-4    | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Acebutolol                        |  | 37517-30-9  | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Atenolol                          |  | 29122-68-7  | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Betaxolol                         |  | 63659-18-7  | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Bisoprolol                        |  | 66722-44-9  | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Carazolol                         |  | 57775-29-8  | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Metoprolol                        |  | 37350-58-6  | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Oxprenolol                        |  | 6452-71-7   | NORMAN 2011 | NORMAN |
| Pindolol                          |  | 13523-86-9  | NORMAN 2011 | NORMAN |

|   |  |            |             |               |
|---|--|------------|-------------|---------------|
| Propranolol                                 |  | 525-66-6   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Sotalol                                     |  | 3930-20-9  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Timolol                                     |  | 26839-75-8 | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Pentoxifylline                              |  | 6493-05-6  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Albuterol                                   |  | 18559-94-9 | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Albuterol sulfate                           |  | 51022-70-9 | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Clenbuterol                                 |  | 37148-27-9 | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Fenoterol                                   |  | 13392-18-2 | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Salbutamol                                  |  | 35763-26-9 | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Terbutaline                                 |  | 23031-25-6 | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Caffeine                                    |  | 58-08-2    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Furosemide                                  |  | 54-31-9    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Hydrochlorothiazide                         |  | 58-93-5    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Bezafibrate                                 |  | 41859-67-0 | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Clofibric acid (metabolite of CLOFIBRATE)   |  | 882-09-7   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Etofibrate                                  |  | 56775-91-8 | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Fenofibrate                                 |  | 49562-28-9 | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Fenofibric acid (metabolite of FENOFIBRATE) |  | 42017-89-0 | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Gemfibrozil                                 |  | 25812-30-0 | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Lovastatin                                  |  | 75330-75-5 | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Mevastatin                                  |  | 73573-88-3 | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Pravastatin                                 |  | 81093-37-0 | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Simvastatin                                 |  | 79902-63-9 | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Acecarbromal                                |  | 77-66-7    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Allobarbital                                |  | 52-43-7    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Amobarbital                                 |  | 57-43-2    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Butalbital                                  |  | 77-26-9    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Hexobarbital                                |  | 56-29-1    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Pentobarbital                               |  | 76-74-4    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Aprobarbital                                |  | 77-02-1    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Secobarbital sodium                         |  | 309-43-3   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 17-alpha-Estradiol                          |  | 57-91-0    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 17-alpha-Ethinylestradiol                   |  | 57-63-6    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 17-beta-Estradiol                           |  | 50-28-2    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Beta-sitosterol                             |  | 83-46-5    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Cholesterol                                 |  | 57-88-5    | NORMAN 2011 | Former NORMAN |
| Diethylstilbestrol                          |  | 56-53-1    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Estriol                                     |  | 50-27-1    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Estrone                                     |  | 53-16-7    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Estrone sulphate                            |  | 481-97-0   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Mestranol                                   |  | 72-33-3    | NORMAN 2011 | NORMAN        |

|  |       |             |             |               |
|--|-------|-------------|-------------|---------------|
| Amitriptyline                                  |       | 50-48-6     | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Doxepine                                       |       | 1668-19-5   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Imapramine                                     |       | 50-49-7     | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Zolpidem                                       |       | 82626-48-0  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Diatrizoate                                    |       | 117-96-4    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Iohexol  |       | 66108-95-0  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Iomeprol                                       |       | 78649-41-9  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Iopamidol                                      |       | 60166-93-0  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Iopromide                                      |       | 73334-07-3  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 4-Methyl-1H-benzotriazole                      |       | 29878-31-7  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 5-Methyl-1H-benzotriazole<br>(5-Tolyltriazole) |       | 136-85-6    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 5,6-Dimethyl-1H-benzotriazole                  |       | 4184-79-6   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Methyl-1H-benzotriazole /<br>Tolyltriazole     |       | 29385-43-1  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| p-Cresol                                       |       | 106-44-5    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Cocaine  |       | 50-36-2     | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Dihydrocodeine                                 |       | 125-28-0    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Heroin   |       | 561-27-3    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Morphine                                       |       | 57-27-2     | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Oxycodone                                      |       | 76-42-6     | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Benzothiazole                                  |       | 95-16-9     | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 2-Mercapto-benzothiazole                       |       | 149-30-4    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Benzothiazol-2-sulfonic acid                   |       | 941-57-1    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Cotinine                                       |       | 486-56-6    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Diphenyltin ion                                |       | 1135-99-5   | NORMAN 2011 | Former NORMAN |
| AHDI (Phantolide)                              |       | 15323-35-0  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| ADBI (Celestolide)                             |       | 13171-00-1  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| ATII (Traseolide)                              |       | 68140-48-7  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 4-tert-Butylphenol                             |       | 98-54-4     | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Tetrabromobisphenol A                          | TBBPA | 79-94-7     | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Musk ambrette                                  |       | 83-66-9     | NORMAN 2011 | Former NORMAN |
| Tetramethyl lead                               |       | 75-74-1     | NORMAN 2011 | Former NORMAN |
| Tetraethyl lead                                |       | 78-00-2     | NORMAN 2011 | Former NORMAN |
| Citalopram                                     |       | 59729-32-7  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Escitalopram                                   |       | 128196-01-0 | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Sertraline                                     |       | 79617-96-2  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Fluoxetine                                     |       | 54910-89-3  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Prednisolone                                   |       | 50-24-8     | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Dexamethasone                                  |       | 50-02-2     | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Betamethasone                                  |       | 378-44-9    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Clotrimazole                                   |       | 23593-75-1  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 1,2,3-Benzotriazole                            |       | 95-14-7     | NORMAN 2011 | NORMAN        |



|                                |  |             |             |               |
|--------------------------------|--|-------------|-------------|---------------|
| Hydrazine                      |  | 302-01-2    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 1,1,1,3,3-Pentachloropropanone |  | 1768-31-6   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 1,1,1,3-Tetrachloropropanone   |  | 16995-35-0  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 1,1,3,3-Tetrachloropropanone   |  | 632-21-3    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 1,1,3-Trichloropropanone       |  | 921-03-9    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 1,1-Dibromopropanone           |  | 867-54-9    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 1,3-Dichloroketone             |  | 534-07-6    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 2,3,5-Tribromopyrrole          |  | 74039-30-8  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 2-Chloroacetamide              |  | 79-07-2     | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 2-Chlorophenol                 |  | 95-57-8     | NORMAN 2011 | Former NORMAN |
| 4-Chlorophenol                 |  | 106-48-9    | NORMAN 2011 | Former NORMAN |
| Bromoacetonitrile              |  | 590-17-0    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Bromodichloroacetic acid       |  | 71133-14-7  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Bromodichloronitromethane      |  | 918-02-5    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Bromodiodomethane              |  | 557-95-9    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Bromochloroacetaldehyde        |  | 98136-99-3  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Bromochloroacetamide           |  | 62872-34-8  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Bromochloroacetic acid         |  | 5589-96-8   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Bromochloroacetonitrile        |  | 83463-62-1  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Bromochloriodomethane          |  | 34970-00-8  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Bromochloromethane             |  | 74-97-5     | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Bromochloronitromethane        |  | 135531-25-8 | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Bromiodoacetamide              |  | 62872-36-0  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Bromonitromethane              |  | 563-70-2    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Dibromoacetamide               |  | 598-70-9    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Dibromoacetonitrile            |  | 3252-43-5   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Dibromodichloromethane         |  | 594-18-3    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Dibromochloroacetic acid       |  | 5278-95-5   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Dibromochloronitromethane      |  | 1184-89-0   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Dibromiodomethane              |  | 593-94-2    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Dibromomethane                 |  | 74-95-3     | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Dibromonitromethane            |  | 598-91-4    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Dichloroacetaldehyde           |  | 79-02-7     | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 2,2-Dichloroacetamide          |  | 683-72-7    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Dichloroacetonitrile           |  | 3018-12-0   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Dichloriodomethane             |  | 594-04-7    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Dichloronitromethane           |  | 7119-89-3   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Diiodoacetamide                |  | 5875-23-0   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Hexachloropropanone            |  | 116-16-5    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Chloroacetaldehyde             |  | 107-20-0    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Chloroacetonitrile             |  | 107-14-2    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Chlorodiodomethane             |  | 638-79-9    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 2-chloro-2-iodo-acetamide      |  | 62872-35-9  | NORMAN 2011 | NORMAN        |

|                                    |       |            |             |               |
|------------------------------------|-------|------------|-------------|---------------|
| Chloronitromethane                 |       | 1794-84-9  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Iodoacetamide                      |       | 144-48-9   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Iodoacetic acid                    |       | 64-69-7    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Iodoacetonitrile                   |       | 624-75-9   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Iodoform                           |       | 75-47-8    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Mucochloric acid                   |       | 87-56-9    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Mutagen X                          | MX    | 77439-76-0 | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| N-bromoacetamide                   |       | 79-15-2    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| N-Nitrosodibutylamine              | NDBA  | 924-16-3   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 4-nitrosomorpholine                | NMOR  | 59-89-2    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| N-nitrosodiethylamine              | NDEA  | 55-18-5    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| N-nitrosodiphenylamine             | NDPA  | 86-30-6    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| N-nitrosomethylethylamine          | NMEA  | 10595-95-6 | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| N-nitrosopiperidine                | NPIP  | 100-75-4   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| N-Nitrosopyrrolidine               | NPYR  | 930-55-2   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Tribromoacetaldehyde               |       | 115-17-3   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Tribromoacetamide                  |       | 594-47-8   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Tribromoacetic acid                |       | 75-96-7    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Tribromonitromethane               |       | 464-10-8   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Trichloroacetamide                 |       | 594-65-0   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Trichloroacetonitrile              |       | 545-06-2   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Tris(2-ethylhexyl) phosphate       | TEHP  | 78-42-2    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Tris(2,3-dichloropropyl) phosphate | TDCCP | 78-43-3    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Sucralose                          |       | 56038-13-2 | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Triacetin                          |       | 102-76-1   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Triethylcitrate                    |       | 77-93-0    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 2-Ethylthioacetic acid ethylester  |       | 4455-13-4  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 2-Methylthioacetic acid ethylester |       | 67-71-0    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 3-Methylthiopropionic acid         |       | 646-01-5   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Cyclopentadecanolide               |       | 106-02-5   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Dipropyltrisulfide                 |       | 6028-61-1  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Ethylene brassylate                |       | 105-95-3   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Habanolide                         |       | 34902-57-3 | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 1,1,2-Trichloroethane              |       | 79-00-5    | NORMAN 2011 | Former NORMAN |
| 1,3-Dinitropyrene                  |       | 75321-20-9 | NORMAN 2011 | Former NORMAN |
| 1,6-Dinitropyrene                  |       | 42397-64-8 | NORMAN 2011 | Former NORMAN |
| 1,8-Dinitropyrene                  |       | 42397-65-9 | NORMAN 2011 | Former NORMAN |
| 2-(2-Naphthalenyl)benzothiophene   |       | 17164-77-1 | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 3-Chloroaniline                    |       | 108-42-9   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 4-Chloroaniline                    |       | 106-47-8   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 3-Nitrobenzanthrone                |       | 17117-34-9 | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Acetaldehyde                       |       | 75-07-0    | NORMAN 2011 | Former NORMAN |

|   |       |            |             |               |
|---|-------|------------|-------------|---------------|
| Aniline                                       |       | 62-53-3    | NORMAN 2011 | Former NORMAN |
| 7H-Benzo(de)anthracen-7-one<br>(Benzanthrone) |       | 82-05-3    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Benzenesulfonamide                            |       | 98-10-2    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Benzo(a)anthracene                            |       | 56-55-3    | NORMAN 2011 | Former NORMAN |
| Biphenyl                                      |       | 92-52-4    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Dicyclohexylamin                              | DCHA  | 101-83-7   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Diphenylamine                                 |       | 122-39-4   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Tris(2-butoxyethyl) phosphate                 | TBOEP | 78-51-3    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Formaldehyde                                  |       | 50-00-0    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Hexa(methoxymethyl)melamine                   |       | 68002-20-0 | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Irganox 1076                                  |       | 2082-79-3  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| N-methyl-Aniline                              |       | 100-61-8   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| N-phenyl-naphthylamine                        |       | 90-30-2    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Polychlorinated biphenyls<br>(PCBs) - Total   |       | 1336-36-3  | NORMAN 2011 | Former NORMAN |
| Styrene                                       |       | 100-42-5   | NORMAN 2011 | Former NORMAN |
| Tetrachloromethane                            |       | 56-23-5    | NORMAN 2011 | Former NORMAN |
| Toluene                                       |       | 108-88-3   | NORMAN 2011 | Former NORMAN |
| Tris(1-chloro-2-propenyl) phosphate           | TCIPP | 13674-84-5 | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Xylene (mixed isomers)                        |       | 1330-20-7  | NORMAN 2011 | Former NORMAN |
| (1-Hydroxy-iso-propyl)acetophenone            |       | 1634-36-2  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 1,1-Dichloro-2,2-diethoxyethane               |       | 619-33-0   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 1,1-Dimethyl-2-phenethylacetate               |       | 151-05-3   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 1,2,3-Trichloropropene                        | TRCP  | 96-19-5    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 1,2,3-Trimethyl-1H-indene                     |       | 4773-83-5  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 1,3,3-Trimethyl-2-oxoindol                    |       | 118-12-7   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 1,3-Bis(1,1-dimethylethyl)-benzene            |       | 1014-60-4  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 1,4-Bis(phenylmethyl) benzene                 |       | 793-23-7   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 1,4-Dichlorobenzene                           |       | 106-46-7   | NORMAN 2011 | Former NORMAN |
| 1-Decanol                                     |       | 112-30-1   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 1H-Indole                                     |       | 8047-67-4  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 1-Octanol                                     |       | 111-87-5   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 1-Phenyl-1,3,3-trimethylindane                |       | 3910-35-8  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 2-(Methylthio)benzothiazol                    |       | 615-22-5   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 2,3-Diethyl-2,3-dimethylsuccinonitrile        |       | 85688-81-9 | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 2,3-Dihydro-1-methyl-1H-indol                 |       | 61-70-1    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 2,4,6-Tribromoanisole                         |       | 607-99-8   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 2,4,6-Tribromophenol                          | TBP   | 118-79-6   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 2,4-Dibromoanisole                            |       | 21702-84-1 | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 2,4-Dibromophenol                             | DBP   | 615-58-7   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 2,4-Dichlorophenol                            |       | 120-83-2   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 2,6-Diethoxytetrahydropyran                   |       | 3149-12-0  | NORMAN 2011 | NORMAN        |

|  |  |            |             |               |
|--|--|------------|-------------|---------------|
| 2,6-Di-tert-butyl-4-hydroxy-4-methyl-2,5-cyclohexadien-1-one |  | 10396-80-2 | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 2,6-Di-tert-butylquinone                                     |  | 719-22-2   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 2-[(2-Chlorophenyl)amino]benzaldehyde                        |  | 71758-44-6 | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 2-Acetylacetophenone   |  | 704-00-7   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 2-Bromophenol  |  | 95-56-7    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 2-Methyl-1-phenylpropan-2-ol                                 |  | 100-86-7   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 2-Methylthioacetic acid                                      |  | 2444-37-3  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 2-Nitrophenol  |  | 88-75-5    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 3-(Bromo-4-methoxyphenyl)propionic acid                      |  | 1929-29-9  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 3,5-Di-tert-butyl-4-hydroxyacetophenone                      |  | 14035-33-7 | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 4-Bromo-2-chlorophenol                                       |  | 3964-56-5  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 4-Bromoanisole   |  | 104-92-7   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 4-Bromophenol  |  | 106-41-2   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 4-Chloro-2-(trifluoromethyl)aniline                          |  | 445-03-4   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 4-iso-Propenylacetophenone                                   |  | 5359-04-6  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 4-iso-Propylacetophenone                                     |  | 645-13-6   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 4-Methyl-phenanthrene  |  | 832-64-4   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 4-tert-Butylcyclohexanol (2 isomers)                         |  | 98-52-2    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 4-tert-Butylcyclohexanone (2 isomers)                        |  | 98-53-3    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 6-Phenyldodecane   |  | 2719-62-2  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 7,9-Di-tert-butyl-1-oxaspiro(4,5)deca-6,9-diene-2,8-dione    |  | 82304-66-3 | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Aminodiphenylsulfone   |  | 4273-98-7  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Androstenone   |  | 18339-16-7 | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Anthraquinone  |  | 84-65-1    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Bis(chloropropyl)ethers                                      |  | 54460-96-7 | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Cyanide-Free   |  | 57-12-5    | NORMAN 2011 | Former NORMAN |
| Cyanogen chloride  |  | 506-77-4   | NORMAN 2011 | Former NORMAN |
| Cyclohexylisocyanate   |  | 3173-53-3  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Decahydronaphtalene (Dekalin)                                |  | 91-17-8    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Dichloroaniline-2,3  |  | 608-27-5   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Dichlorodimethylphenol (2,4-Dichloro-meta-xyleneol)          |  | 133-53-9   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Di-iso-propyldisulfide                                       |  | 4253-89-8  | NORMAN 2011 | Former NORMAN |
| Di-iso-propylphenol  |  | 2078-54-8  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Formylpiperidine   |  | 2591-86-8  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Hydrogen cyanide   |  | 74-90-8    | NORMAN 2011 | Former NORMAN |
| Chinoline  |  | 91-22-5    | NORMAN 2011 | NORMAN        |

|   |      |             |             |               |
|---|------|-------------|-------------|---------------|
| Chinoxaline                                 |      | 91-19-0     | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Chlorate                                    |      | 14866-68-3  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Chlorodimethylphenol (Chloroxylenol)        |      | 88-04-0     | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Chloromethylphenylsulfone                   |      | 7205-98-3   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Chloronitrobenzene (2 isomers)              |      | 25167-93-5  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Ioxitalamic acid                            |      | 28179-44-4  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Metaldehyde                                 |      | 108-62-3    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Methylbenzonitrile                          |      | 529-19-1    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Methylphenylisocyanate                      |      | 614-68-6    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Methylphenylsulfone                         |      | 3112-85-4   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| N,N-Dibutylformamide                        |      | 761-65-9    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| N,N-Diethyldithiocarbamic acid methyl ester |      | 686-07-7    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| N,N'-Diethyl-N,N'-diphenylurea              |      | 85-98-3     | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| N,N'-Di-iso-propylurea                      |      | 4128-37-4   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| N-Acetylmorpholine                          |      | 1696-20-4   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| N-Ethylaniline                              |      | 103-69-5    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| N-Ethylphthalimide                          |      | 5022-29-7   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| N-Ethyltoluenesulfonamide                   |      | 26914-52-3  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| N-Formylmorpholine                          |      | 4394-85-8   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Nitrobenzene                                |      | 98-95-3     | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| N-Phenylbenzenesulfonamide                  |      | 1678-25-7   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| p-Dicyclohexylbenzene                       |      | 1087-02-1   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Phenanthrene                                |      | 85-01-8     | NORMAN 2011 | Former NORMAN |
| Phenylisocyanate                            |      | 103-71-9    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Tetralinone                                 |      | 529-34-0    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Tocopherolacetate                           |      | 7695-91-2   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 2,3,4-Trichloroaniline                      |      | 634-67-3    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Zincpyrithione                              |      | 13463-41-7  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Perfluorooctane sulfonate (anion)           | PFOS | 45298-90-6  | NORMAN 2011 | Former NORMAN |
| 4-Oxoisophorone                             |      | 1125-21-9   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Cineole                                     |      | 8024-53-1   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Damascone                                   |      | 23726-91-2  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Dihydromethyljasmonate                      |      | 37172-53-5  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Drometrizole                                |      | 2440-22-4   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Drometrizole trisiloxane (INCI)             |      | 155633-54-8 | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Methyl-iso-propylcyclohexenone, Carvone     |      | 6485-40-1   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| o-Terphenyl                                 |      | 84-15-1     | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| p-Terphenyl                                 |      | 92-94-4     | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Viridine                                    |      | 101-48-4    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 1,3-Dichloropropene                         |      | 542-75-6    | NORMAN 2011 | Former NORMAN |
| 2,3,4,6-Tetrachlorophenol                   |      | 58-90-2     | NORMAN 2011 | NORMAN        |

|  |                       |             |             |                    |
|--|-----------------------|-------------|-------------|--------------------|
| 2,4,5-Trichlorophenol                  |                       | 95-95-4     | NORMAN 2011 | Former NORMAN      |
| 2,4,6-Trichloroanisole                 |                       | 87-40-1     | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| 2,4,6-Trichlorophenol                  |                       | 88-06-2     | NORMAN 2011 | Former NORMAN      |
| 2,4-Dichloroanisole                    |                       | 553-82-2    | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| 2,6-Dichloroanisole                    |                       | 1984-65-2   | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| 2-Aminobenzimidazole                   |                       | 934-32-7    | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| 2-Bromoanisole                         |                       | 578-57-4    | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| 2-Methylantraquinone                   |                       | 84-54-8     | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Bis(4-chlorophenyl)acetic acid         | 4,4'-DDA / p,p'-DDA   | 83-05-6     | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| 1-Chloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethane | 4,4'-DDMS / p,p'-DDMS | 2642-80-0   | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| 1,1-Bis(p-chlorophenyl)ethylene        | 4,4'-DDNU             | 2642-81-1   | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| 2,2-Bis(4-chlorophenyl)ethanol         | 4,4'-DDOH / p,p'-DDOH | 2642-82-2   | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Acionifen                              |                       | 74070-46-5  | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Aldicarb                               |                       | 116-06-3    | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Aldicarb sulfone                       |                       | 1646-88-4   | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Ametryn                                |                       | 834-12-8    | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Amino methyl phosphoric acid           | AMPA                  | 1066-51-9   | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Azinphos-ethyl                         |                       | 2642-71-9   | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Bifenox                                |                       | 42576-02-3  | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Bromacil                               |                       | 314-40-9    | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Bromoxynil octanoate                   |                       | 1689-99-2   | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Carbaryl                               |                       | 63-25-2     | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Cyanazine                              |                       | 21725-46-2  | NORMAN 2011 | Former NORMAN      |
| Cyanazine acid                         |                       | 36576-43-9  | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| 4,4'-Dichlorobenzophenone              | DBP                   | 90-98-2     | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Dicofol                                |                       | 115-32-2    | NORMAN 2011 | Former NORMAN (PS) |
| Diiflufenican                          |                       | 83164-33-4  | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Diisopropylamine                       |                       | 108-18-9    | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Dimethenamid                           |                       | 87674-68-8  | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Dimethoate                             |                       | 60-51-5     | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Echio (Ethion)                         |                       | 563-12-2    | NORMAN 2011 | Former NORMAN      |
| Fenarimol                              |                       | 60168-88-9  | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Fenthion                               |                       | 55-38-9     | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Flufenacet                             |                       | 142459-58-3 | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Flusilazole                            |                       | 85509-19-9  | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Flutriafol                             |                       | 76674-21-0  | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Furathiocarb                           |                       | 65907-30-4  | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Heptachlor                             |                       | 76-44-8     | NORMAN 2011 | Former NORMAN      |
| Heptachlor epoxide                     |                       | 1024-57-3   | NORMAN 2011 | Former NORMAN (PS) |
| Hexazinone                             |                       | 51235-04-2  | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Chlorothalonil                         |                       | 1897-45-6   | NORMAN 2011 | NORMAN             |

|   |          |             |             |                    |
|---|----------|-------------|-------------|--------------------|
| Chloroxuron                                 |          | 1982-47-4   | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Chlorpyrifos methyl                         |          | 5598-13-0   | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Chlorthal-dimethyl                          |          | 1861-32-1   | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Linuron                                     |          | 330-55-2    | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Malathion                                   |          | 121-75-5    | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Mecoprop-p                                  | MCPP-P   | 16484-77-8  | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Metazachlor                                 |          | 67129-08-2  | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Methiocarb                                  |          | 2032-65-7   | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Methiocarb sulfoxide                        |          | 2635-10-1   | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Methoxychlor                                |          | 72-43-5     | NORMAN 2011 | Former NORMAN      |
| Metolachlor                                 |          | 51218-45-2  | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Metoxuron                                   |          | 19937-59-8  | NORMAN 2011 | Former NORMAN      |
| Microcystin-LA / Cyanoginosin-LA            |          | 96180-79-9  | NORMAN 2011 | Former NORMAN      |
| Molinate                                    |          | 2212-67-1   | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| N-Ethyl-2-tolylsulfonamide                  |          | 825629-31-0 | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Dichlorodiphenyldichloroethane (Mitotane)   | o,p'-DDD | 53-19-0     | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Omethoate                                   |          | 1113-02-6   | NORMAN 2011 | Former NORMAN      |
| Orbencarb                                   |          | 34622-58-7  | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Oxadiazon                                   |          | 19666-30-9  | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Paclobutrazol                               |          | 76738-62-0  | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Parathion                                   |          | 56-38-2     | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Parathion methyl                            |          | 298-00-0    | NORMAN 2011 | Former NORMAN      |
| Pendimethalin                               |          | 40487-42-1  | NORMAN 2011 | Former NORMAN      |
| Phoxime                                     |          | 14816-18-3  | NORMAN 2011 | Former NORMAN      |
| Pirimiphos-methyl                           |          | 29232-93-7  | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Prochloraz                                  |          | 67747-09-5  | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Propachlor                                  |          | 1918-16-7   | NORMAN 2011 | Former NORMAN      |
| Propanil                                    |          | 709-98-8    | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Propazine                                   |          | 139-40-2    | NORMAN 2011 | Former NORMAN      |
| Propiconazole                               |          | 60207-90-1  | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Propyzamide                                 |          | 23950-58-5  | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Quinmerac                                   |          | 90717-03-6  | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Quinoxifen                                  |          | 124495-18-7 | NORMAN 2011 | Former NORMAN (PS) |
| Thiodicarb                                  |          | 59669-26-0  | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Tolclofos methyl                            |          | 57018-04-9  | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Tolylfluanid                                |          | 731-27-1    | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Triallate                                   |          | 2303-17-5   | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Triclocarban                                |          | 101-20-2    | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Metrifonate (Trichlorfon)                   |          | 52-68-6     | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Desmethylnaproxen (metabolite of NAPROXENE) |          | 60756-73-2  | NORMAN 2011 | NORMAN             |
| Acetazolamide                               |          | 59-66-5     | NORMAN 2011 | NORMAN             |



|  |  |             |             |               |
|--|--|-------------|-------------|---------------|
| Anthracen-1,4-dione                                      |  | 635-12-1    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Apramycin  |  | 37321-09-8  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Baclofen   |  | 1134-47-0   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Baquiloprim  |  | 102280-35-3 | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Cefacetrile  |  | 10206-21-0  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Cefalexin  |  | 15686-71-2  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Cefalonium   |  | 5575-21-3   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Cefapirin  |  | 21593-23-7  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Cefazoline   |  | 25953-19-9  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Cefoperazone   |  | 62893-19-0  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Crotamiton   |  | 483-63-6    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Dantrolene   |  | 7261-97-4   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Dapsone  |  | 80-08-0     | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Difloxacin   |  | 98106-17-3  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Domperidone  |  | 57808-66-9  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Esomeprazole   |  | 119141-88-7 | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Ethosuximide   |  | 77-67-8     | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Flucloxacillin   |  | 5250-39-5   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Gentamicin   |  | 1403-66-3   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 1,1,1-Trichloro-2,2-dihydroxyethane<br>(Chloral hydrate) |  | 302-17-0    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Chlorobutanol  |  | 57-15-8     | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 1-Hydroxy Ibuprofen                                      |  | 53949-53-4  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 2-Hydroxy Ibuprofen                                      |  | 51146-55-5  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Iminostilbene  |  | 256-96-2    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Kanamycin sulfate  |  | 8063-07-8   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Lamotrigine  |  | 84057-84-1  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Levetiracetam  |  | 102767-28-2 | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Lidocaine  |  | 137-58-6    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Lithium carbonate  |  | 554-13-2    | NORMAN 2011 | Former NORMAN |
| Marbofloxacin  |  | 115550-35-1 | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Mebeverine   |  | 3625-06-7   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Methylphenobarbital                                      |  | 115-38-8    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Nafcillin  |  | 985-16-0    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Nandrolone   |  | 434-22-0    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Neomycin B   |  | 1404-04-2   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| N-Methylphenacetine                                      |  | 7298-73-9   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Oxolinic acid  |  | 14698-29-4  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Phenobarbital  |  | 50-06-6     | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Phenytoine   |  | 57-41-0     | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Pipamperon   |  | 1893-33-0   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Sarafloxacin   |  | 98105-99-8  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Secobarbital   |  | 76-73-3     | NORMAN 2011 | NORMAN        |

|   |         |             |             |               |
|---|---------|-------------|-------------|---------------|
| Spectinomycin                                     |         | 1695-77-8   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Streptomycin                                      |         | 57-92-1     | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Sulfadimethoxin                                   |         | 122-11-2    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Sulfadoxin  |         | 2447-57-6   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Taloxa  |         | 25451-15-4  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Tilmicosin  |         | 108050-54-0 | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Tramadol  |         | 27203-92-5  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Trimethoprim                                      |         | 738-70-5    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Tylosin   |         | 1401-69-0   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Valnemulin  |         | 101312-92-9 | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Valproic acid                                     |         | 99-66-1     | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 2-Ethylhexanoic acid<br>2-ethylhexyl ester        |         | 7425-14-1   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Diisodecyl phthalate                              | DIDP    | 26761-40-0  | NORMAN 2011 | Former NORMAN |
| Diisononyl phthalate                              | DINP    | 28553-12-0  | NORMAN 2011 | Former NORMAN |
| Diisopropylnaphthalene                            | DIPN    | 38640-62-9  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Methanone, Irgacure 184                           |         | 947-19-3    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| N-butyl-benzenesulfonamide                        | NBBS    | 3622-84-2   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| N-Methyl-2-pyrrolidone                            | NMP     | 872-50-4    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Tributylacetyl citrate                            |         | 77-90-7     | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Tris(2-methylpropyl) phosphate                    | TIBP    | 126-71-6    | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 2,2,4-trimethylpentane-1,3-diol<br>diisobutyrate  | TXIB    | 6846-50-0   | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 2,4-Dinitrophenol                                 | DNP     | 51-28-5     | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 2,4,4'-tribromodiphenylether                      | BDE-28  | 41318-75-6  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 2,2',4,5'-Tetrabromodiphenylether                 | BDE-49  | 60044-24-8  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| 2,2',3,3',4,4',5,5',6 -<br>Nonabromodiphenylether | BDE-206 | 63387-28-0  | NORMAN 2011 | NORMAN        |
| Difenacoum  |         | 56073-07-5  | NORMAN 2015 | NORMAN        |
| Difethialone                                      |         | 104653-34-1 | NORMAN 2015 | NORMAN        |
| bromadiolone                                      |         | 28772-56-7  | NORMAN 2015 | NORMAN        |
| Brodifacoum                                       |         | 56073-10-0  | NORMAN 2015 | NORMAN        |
| d-Phenothrin                                      |         | 188023-86-1 | NORMAN 2015 | NORMAN        |
| Flufenoxuron                                      |         | 101463-69-8 | NORMAN 2015 | NORMAN        |
| Flocoumafen                                       |         | 90035-08-8  | NORMAN 2015 | NORMAN        |
| Creosote  |         | 8001-58-9   | NORMAN 2015 | NORMAN        |
| Abamectin   |         | 71751-41-2  | NORMAN 2015 | NORMAN        |
| Alphachloralose ( $\alpha$ -Chloralose)           |         | 15879-93-3  | NORMAN 2015 | NORMAN        |
| Bifenthrin  |         | 82657-04-3  | NORMAN 2015 | NORMAN        |
| Chlorfenapyr                                      |         | 122453-73-0 | NORMAN 2015 | NORMAN        |
| Chlorophacinone                                   |         | 3691-35-8   | NORMAN 2015 | NORMAN        |
| Clothianidin                                      |         | 210880-92-5 | NORMAN 2015 | NORMAN        |
| K-HDO   |         | 66603-10-9  | NORMAN 2015 | NORMAN        |

|   |        |             |             |        |
|---|--------|-------------|-------------|--------|
| Cyfluthrin  |        | 68359-37-5  | NORMAN 2015 | NORMAN |
| DDACarbonate  |        | 894406-76-9 | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Didecylmethylpoly (oxyethyl) ammonium Propionate (Bardap 26)  |        | 94667-33-1  | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Fenpropimorph   |        | 67564-91-4  | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Fipronil  |        | 120068-37-3 | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Icaridin  |        | 119515-38-7 | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Imiprothrin   |        | 72963-72-5  | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Methyl neodecanamide  | MNDA   | 105726-67-8 | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Spinosad  |        | 168316-95-8 | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Thiamethoxam  |        | 153719-23-4 | NORMAN 2015 | NORMAN |
| (Z,E)-Tetradeca-9,12-dienyl acetate   | ZE-TDA | 30507-70-1  | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Muscalure (cis-Tricos-9-ene)  |        | 27519-02-4  | NORMAN 2015 | NORMAN |
| lambda-Cyhalothrin  |        | 91465-08-6  | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Acrolein / Acrylaldehyde  |        | 107-02-8    | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Tebuconazole  |        | 107534-96-3 | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Thiacloprid   |        | 111988-49-9 | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Methyl nonyl ketone   |        | 112-12-9    | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Warfarin sodium   |        | 129-06-6    | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Indoxacarb  |        | 173584-44-6 | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Bendiocarb  |        | 22781-23-3  | NORMAN 2015 | NORMAN |
| N-(3-aminopropyl)-N-dodecylpropane-1,3-diamine  |        | 2372-82-9   | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Metofluthrin  |        | 240494-70-6 | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Potassium sorbate / Sorbistat-K   |        | 24634-61-5  | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Sulphuryl difluoride  |        | 2699-79-8   | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Bis-(N-cyclohexyldiazoniumdioxo)-copper   | Cu-HDO | 312600-89-8 | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Dazomet   |        | 533-74-4    | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 3-iodo-2-propynyl butylcarbamate  |        | 55406-53-6  | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Coumatetralyl   |        | 5836-29-3   | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Quaternary ammonium compounds (alkyltrimethyl (alkyl from C8-C18, saturated and unsaturated, and tallow alkyl, coco alkyl, and soya alkyl) chlorides, bromides, or methylsulphates) | TMAC   | 61789-18-2  | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 4,5-Dichloro-2-n-octyl-4-isothiazolin-3-one   | DCOIT  | 64359-81-5  | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Quaternary ammonium compounds, benzyl-C12-16-alkyldimethyl, chlorides   |        | 68424-85-1  | NORMAN 2015 | NORMAN |

|  |      |             |             |        |
|--|------|-------------|-------------|--------|
| Didecyldimethylammonium chloride   |      | 7173-51-5   | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Fenoxycarb / Ethyl N-[2-(4-phenoxyphenoxy)ethyl]carbamate  |      | 72490-01-8  | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Quaternary ammonium compounds (dialkyldimethyl (alkyl from C6-C18, saturated and unsaturated, and tallow alkyl, coco alkyl, and soya alkyl) chlorides, bromides, or methylsulphates) | DDAC | 73398-64-8  | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Quaternary ammonium compounds (benzylalkyldimethyl (alkyl from C8-C22, saturated and unsaturated, tallow alkyl, coco alkyl, and soya alkyl) chlorides, bromides, or hydroxides)      | BKC  | 8001-54-5   | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Etufenprox / 3-phenoxybenzyl-2-(4-ethoxyphenyl)-2-methylpropylether  |      | 80844-07-1  | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Warfarin / Coumadin  |      | 81-81-2     | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Cyproconazole  |      | 94361-06-5  | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 2,2-dibromo-2-cyanoacetamide   |      | 10222-01-2  | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 1,3-dichloro-5,5-dimethylhydantoin   |      | 118-52-5    | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 2-Phenoxyethanol   |      | 122-99-6    | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Cetylpyridinium chloride   |      | 123-03-5    | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Chloramine-T / Tosylchloramide sodium  |      | 127-65-1    | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Potassium dimethyldithiocarbamate  |      | 128-03-0    | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Sodium dimethyldithiocarbamate   |      | 128-04-1    | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 6-(phthalimido)peroxyhexanoic acid   |      | 128275-31-0 | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Folpet / N-(trichloromethylthio)phthalimide  |      | 133-07-3    | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 2-Butanone, peroxide   |      | 1338-23-4   | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Dodecylguanidine monohydrochloride   |      | 13590-97-1  | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Thiram / Tetramethylthiuram disulfide  |      | 137-26-8    | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Metam-sodium / Carbathion  |      | 137-42-8    | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Amines, n-C10-16-alkyltrimethylenedi-, reaction products with chloroacetic acid  |      | 139734-65-9 | NORMAN 2015 | NORMAN |
| (Benzyloxy)methanol  |      | 14548-60-8  | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Bis(1-hydroxy-1H-pyridine-2-thionato-O,S)copper  |      | 14915-37-8  | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Sodium p-chloro-m-cresolate  |      | 15733-22-9  | NORMAN 2015 | NORMAN |

|   |       |            |             |                    |
|---|-------|------------|-------------|--------------------|
| Chlorhexidine digluconate /<br>D-gluconic acid, compound<br>with N,N"-bis(4-chlorophenyl)-<br>3,12-diimino-2,4,11,13-<br>tetraazatetradecanediamidine (2:1) |       | 18472-51-0 | NORMAN 2015 | NORMAN             |
| p-[(diiodomethyl)sulphonyl]toluene  |       | 20018-09-1 | NORMAN 2015 | NORMAN             |
| (benzothiazol-2-ylthio)methyl<br>thiocyanate  | TCMTB | 21564-17-0 | NORMAN 2015 | NORMAN             |
| alpha, alpha', alpha"-Trimethyl-1,3,5-<br>triazine-1,3,5(2H,4H,6H)-triethanol   |       | 25254-50-6 | NORMAN 2015 | NORMAN             |
| 2,2'-dithiobis[N-methylbenzamide]   |       | 2527-58-4  | NORMAN 2015 | NORMAN             |
| Betadine / Polyvinylpyrrolidone iodine  |       | 25655-41-8 | NORMAN 2015 | NORMAN             |
| 1,2-benzisothiazol-3(2H)-one  |       | 2634-33-5  | NORMAN 2015 | NORMAN             |
| Octhilinone / 2-octyl-2H-isothiazol-<br>3-one   |       | 26530-20-1 | NORMAN 2015 | NORMAN             |
| 2-methyl-2H-isothiazol-3-one  |       | 2682-20-4  | NORMAN 2015 | NORMAN             |
| 5-chloro-2-methyl-3(2H)-<br>isothiazolone   | CMI   | 26172-55-4 | NORMAN 2015 | NORMAN             |
| Dimethyloctadecyl[3-(trimethoxysilyl)<br>propyl]ammonium chloride   |       | 27668-52-6 | NORMAN 2015 | NORMAN             |
| Troscosene sodium   |       | 2893-78-9  | NORMAN 2015 | NORMAN             |
| Bromochloro-5,5-<br>dimethylimidazolidine-2,4-dione   |       | 32718-18-6 | NORMAN 2015 | NORMAN             |
| Diuron  |       | 330-54-1   | NORMAN 2011 | Former NORMAN (PS) |
| Peroxyoctanoic acid   |       | 33734-57-5 | NORMAN 2015 | NORMAN             |
| Diclosan / 5-chloro-2-(4-<br>chlorophenoxy)phenol   |       | 3380-30-1  | NORMAN 2015 | NORMAN             |
| Isoproturon / 3-(4-isopropylphenyl)-<br>1,1-dimethylurea  |       | 34123-59-6 | NORMAN 2011 | Former NORMAN (PS) |
| Imazalil / 1-[2-(allyloxy)-2-(2,4-<br>dichlorophenyl)ethyl]-1H-imidazole  |       | 35554-44-0 | NORMAN 2015 | NORMAN             |
| Azamethiphos / S-[(6-chloro-2-<br>oxooxazolo[4,5-b]pyridin-3(2H)-yl)<br>methyl] 0,0-dimethyl thiophosphate  |       | 35575-96-3 | NORMAN 2015 | NORMAN             |
| 2-bromo-2-(bromomethyl)<br>pentanedinitrile / 1,2-Dibromo-2,4-<br>dicyanobutane   |       | 35691-65-7 | NORMAN 2015 | NORMAN             |
| (Ethylenedioxy)dimethanol   |       | 3586-55-8  | NORMAN 2015 | NORMAN             |
| Pyridine-2-thiol 1-oxide, sodium salt   |       | 3811-73-2  | NORMAN 2015 | NORMAN             |
| Quaternium-15 / Methenamine<br>3-chloroallylochloride   |       | 4080-31-3  | NORMAN 2015 | NORMAN             |
| Citriodiol / Mixture of cis- and trans-p-<br>menthane-3,8 diol  |       | 42822-86-6 | NORMAN 2015 | NORMAN             |

|  |  |            |             |        |
|--|--|------------|-------------|--------|
| Piperonyl butoxide /<br>2-(2-butoxyethoxy)ethyl<br>6-propylpiperonyl ether   |  | 51-03-6    | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Oxadine A / 4,4-dimethyloxazolidine  |  | 51200-87-4 | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Dowicil 200 / Cis-1-(3-chloroallyl)-<br>3,5,7-triaza-1-azoniaadamantane<br>chloride  |  | 51229-78-8 | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Sodium dichloroisocyanurate<br>dihydrate   |  | 51580-86-0 | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Bronopol / Bronosol  |  | 52-51-7    | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Fixapret 140 / Tetrahydro-<br>1,3,4,6-tetrakis(hydroxymethyl)<br>imidazo[4,5-d]imidazole-2,5(1H,3H)-<br>dione  |  | 5395-50-6  | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Tetrakis(hydroxymethyl)phosphonium<br>sulphate(2:1)  |  | 55566-30-8 | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Kathon 886 / Mixture of 5-chloro-2-<br>methyl-2H-isothiazol-3-one (EINECS<br>247-500-7) and 2-methyl-2H-<br>isothiazol-3-one (EINECS 220-239-6)  |  | 55965-84-9 | NORMAN 2015 | NORMAN |
| N,N'-methylenebismorpholine /<br>4,4-methylenedimorpholine   |  | 5625-90-1  | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Chlorocresol   |  | 59-50-7    | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Methylene dithiocyanate  |  | 6317-18-6  | NORMAN 2015 | NORMAN |
| DMDM Hydantoin /<br>1,3-bis(hydroxymethyl)-5,5-<br>dimethylimidazolidine-2,4-dione   |  | 6440-58-0  | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Abamectin / Avermectin B1A   |  | 65195-55-3 | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Benzoic acid   |  | 65-85-0    | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Oxazolidin / 3,3'-methylenebis[5-<br>methyloxazolidine]  |  | 66204-44-2 | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Cyromazine / N-cyclopropyl-1,3,5-<br>triazine-2,4,6-triamine   |  | 66215-27-8 | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Esfenvalerate / (S)-.alpha.-Cyano-<br>3-phenoxybenzyl (S)-2-(4-<br>chlorophenyl)-3-methylbutyrate  |  | 66230-04-4 | NORMAN 2015 | NORMAN |
| alpha-Cypermethrin / [1.alpha.<br>(S*),3.alpha.]-(.alpha.)-cyano-<br>(3-phenoxyphenyl)methyl<br>3-(2,2-dichloroethenyl)-<br>2,2-dichlorovinyl)-2,2-<br>dimethylcyclopropanecarboxylate |  | 67375-30-8 | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Propan-2-ol  |  | 67-63-0    | NORMAN 2015 | NORMAN |

|   |          |            |             |        |
|---|----------|------------|-------------|--------|
| Quaternary ammonium compounds, benzyl-C12-18-alkyldimethyl, chlorides   |          | 68391-01-5 | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Quaternary ammonium compounds, di-C8-10-alkyldimethyl, chlorides  |          | 68424-95-3 | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Quaternary ammonium compounds, benzyl-C12-18-alkyldimethyl salts, with 1,2-benzisothiazol-3(2H)-one 1,1-dioxide (1:1) |          | 68989-01-5 | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Amines, C10-16-alkyldimethyl, N-oxides  | ADAO     | 70592-80-2 | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Propan-1-ol   |          | 71-23-8    | NORMAN 2015 | NORMAN |
| ( $\bar{A}$ ±)-1-(.beta.-allyloxy-2,4-dichlorophenylethyl)imidazole / Technical grade Imazalil / Enilconazole         |          | 73790-28-0 | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 7a-ethylidihydro-1H,3H,5H-oxazolo[3,4-c]oxazole   |          | 7747-35-5  | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Quaternary ammonium compounds, benzyl-C12-14-alkyldimethyl, chlorides   |          | 85409-22-9 | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Quaternary ammonium compounds, C12-14-alkyl[(ethylphenyl)methyl] dimethyl, chlorides                                  |          | 85409-23-0 | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Symclosene / Trichlorocyanuric acid   |          | 87-90-1    | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 1,3-dichloro-5-ethyl-5-methylimidazolidine-2,4-dione  |          | 89415-87-2 | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Poly(hexamethylenebiguanide)  |          | 91403-50-8 | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Pyriproxyfen / 2-(1-methyl-2-(4-phenoxy-phenoxy)-ethoxy)-pyridine   |          | 95737-68-1 | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Dibromostyrene  | DBS      | 31780-26-4 | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 2,4,6-Tribromophenyl allyl ether  | TBP-AE   | 3278-89-5  | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 1,2,4,5-Tetrabromo-3,6-dimethylbenzene  | TBX      | 23488-38-2 | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 2,3,4,5-Tetrabromo-6-chlorotoluene  | TBCT     | 39569-21-6 | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 3,4,5,6-Tetrabromophthalic anhydride  | TEBP-Anh | 632-79-1   | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Pentabromotoluene   | PBT      | 87-83-2    | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Pentabromophenol  | PBP      | 608-71-9   | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Pentabromoethylbenzene  | PBEB     | 85-22-3    | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Pentabromobenzyl chloride   | PBBC     | 58495-09-3 | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Pentabromophenol allyl ether  | PBP-AE   | 3555-11-1  | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 1,3,5-Tribromo-2-(2,3-dibromopropoxy)benzene  | TBP-DBPE | 35109-60-5 | NORMAN 2015 | NORMAN |

|  |                     |   |             |        |
|--|---------------------|---|-------------|--------|
| 2-Ethylhexyl<br>2,3,4,5-tetrabromobenzoate   | EH-TBB              | 183658-27-7                                   | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Hexabromobenzene   | HBB                 | 87-82-1                                       | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 2,3,4,5,6-Pentabromobenzyl acrylate  | PBB-Acr             | 59447-55-1                                    | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 2,3,4,5,6-Pentabromobenzyl bromide   | PBBB                | 38521-51-6                                    | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 2-(2-Hydroxyethoxy)<br>ethyl 2-hydroxypropyl<br>3,4,5,6-tetrabromophthalate          | HEEHP-TEBP          | 20566-35-2                                    | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Bis(2-ethylhexyl)<br>tetrabromophthalate   | BEH-TEBP            | 26040-51-7                                    | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 3-(Tetrabromopentadecyl)-2,4,6-<br>tribromophenol                                    | TBPD-TBP            | 168434-45-5                                   | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Tetrabromobisphenol S  | TBBPS               | 39635-79-5                                    | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Tetrabromobisphenol B  | TBBPA-BME           | 37853-61-5                                    | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Tetrabromobisphenol S bismethyl<br>ether   | TBBPS-BME           | 70156-79-5                                    | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 3,3',5,5'-Tetrabromobisphenol A<br>bisacetate  | TBBPA-BOAc          | 33798-02-6                                    | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Tetrabromobisphenol A bis(2-<br>hydroxyethyl) ether                                  | TBBPA-BHEE          | 4162-45-2                                     | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Tetrabromobisphenol A bis(allyl) ether   | TBBPA-BAE           | 25327-89-3                                    | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Tetrabromobisphenol A bisacrylate  | TBBPA-BA            | 55205-38-4                                    | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Tetrabromobisphenol A bis(glycidyl)<br>ether   | TBBPA-BGE           | 3072-84-2                                     | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Tetrabromobisphenol A<br>bispropanoate   | TBBPA-BP            | 37419-42-4                                    | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 1,2-Bis(2,4,6-tribromophenoxy)<br>ethane   | BTBPE               | 37853-59-1                                    | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Tetrabromobisphenol A bis(2-<br>hydroxyethyl) ether                                  | TBBPA-BHEEBA        | 66710-97-2                                    | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Octabromotrimethylphenyl indane  | OBTMPI              | 1084889-51-9;<br>1025956-65-3;<br>893843-07-7 | NORMAN 2015 | NORMAN |
| N,N'-Ethylenebis(tetrabromophtha<br>limide)  | EBTEBPI             | 32588-76-4                                    | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Tetrabromobisphenol S bis(2,3-<br>dibromopropyl ether)                               | TBBPS-BDBPE         | 42757-55-1                                    | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Decabromodibenzyl ether  | DBDBE / BDBE-209    | 497107-13-8                                   | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Tetradecabromo-1,4-<br>diphenoxybenzene  | (4'-PeBPO / BDE208) | 58965-66-5                                    | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 1,2,3,4,7,7-hexachloro-5-(2,3,4,5-<br>tetrabromophenyl)-Bicyclo[2.2.1]<br>hept-2-ene | HCTBPH              | 34571-16-9                                    | NORMAN 2015 | NORMAN |



|  |              |            |             |        |
|--|--------------|------------|-------------|--------|
| 4-(1,2-Dibromoethyl)-1,2-dibromocyclohexane  | DBE-DBCH     | 3322-93-8  | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 1,2,5,6-Tetrabromocyclooctane  | TBCO         | 3194-57-8  | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 5,6-Dibromo-1,10,11,12,13,13-hexachloro-11-tricyclo[8.2.1.0]tridecene  | DBHCTD       | 51936-55-1 | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Hexabromocyclodecane   | HBCYD        | 25495-98-1 | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 1-(2,3-Dibromopropyl)-3,5-diallyl-1,3,5-Triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione  | DBP-TAZTO    | 57829-89-7 | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 1,3-Bis(2,3-dibromopropyl)-5-allyl-1,3,5-Triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione                                       | BDBP-TAZTO   | 75795-16-3 | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 1,3,5-tris(2,3-dibromopropyl)-1,3,5-triazinane-2,4,6-trione  | TDBP-TAZTO   | 52434-90-9 | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 2,4,6-Tris(2,4,6-tribromophenoxy)-1,3,5-triazine   | TTBP-TAZ     | 25713-60-4 | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Tris(tribromoneopentyl) phosphate  | TTBNPP       | 19186-97-1 | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Tris(2,3-dibromopropyl) phosphate  | TDBPP        | 126-72-7   | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Dibromoneopentyl glycol  | DBNPG        | 3296-90-0  | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 2,2,2-Tris(bromomethyl)ethanol   | TBNPA        | 1522-92-5  | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Tetrachlorophthalic anhydride  | TECP-Anh     | 117-08-8   | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Hexachlorocyclopentadiene  | HCCPD        | 77-47-4    | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 1,4,5,6,7,7-Hexachlorobicyclo[2.2.1]hept-5-ene-2,3-dicarboxylic anhydride                                      | HC BCH-DCAnh | 115-27-5   | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 1,4,5,6,7,7-Hexachlorobicyclo-(2,2,1)hept-5-en-2,3-dicarboxylic acid   | HC BCH-DCA   | 115-28-6   | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Perchloropentacyclodecane  | MIREX        | 2385-85-5  | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 1,2,3,4,6,7,8,9,10,10,11,11-Dodecachloro-1,4,4a,5a,6,9,9a,9b-octahydro-1,4:6,9-dimethanodibenzofuran           | DDC-DBF      | 31107-44-5 | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Dodecachlorodimethanodibenzocyclooctane  | DDC-CO       | 13560-89-9 | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 1,2,3,4,5,6,7,8,12,12,13,13-Dodecachloro-1,4,4a,5,8,8a,9,9a,10,10a-decahydro-1,4:5,8:9,10-Trimethanoanthracene | DDC-Ant      | 13560-92-4 | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 2,2-Bis(chloromethyl)-1,3-propanediol bis[bis(2-chloroethyl)phosphate]   | BCMP-BCEP    | 38051-10-4 | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Trimethyl phosphate  | TMP          | 512-56-1   | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Tripropyl phosphate  | TPP          | 513-08-6   | NORMAN 2015 | NORMAN |

|  |                            |              |             |        |
|--|----------------------------|--------------|-------------|--------|
| 2,2-Bis(chloromethyl)-1,3-propanediol bis[bis(2-chloro-1-methylethyl) phosphate] | BCMP-BCMEP                 | 1047637-37-5 | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Isopropyl phenyl phosphate   | IPPP                       | 46355-07-1   | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 3,4:5,6-Dibenzo-2H-1,2-oxaphosphorin-2-oxide                                     | DOP0                       | 35948-25-5   | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Tris(methylphenyl) phosphate   | TMPP                       | 1330-78-5    | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Tris(4-isopropylphenyl) phosphate  | TIPPP                      | 2502-15-0    | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Resorcinol bis(diphenyl phosphate)   | PBDPP                      | 57583-54-7   | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Resorcinol bis[di(2,6-dimethylphenyl) phosphate]                                 | PBDMPP                     | 139189-30-3  | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Bisphenol A bis(diphenyl phosphate)  | BPA-BDPP                   | 5945-33-5    | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Azoxystrobin   |                            | 131860-33-8  | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Foramsulfuron  |                            | 173159-57-4  | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Cycloxydim   |                            | 101205-02-1  | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Cyprodinil   |                            | 121552-61-2  | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Dimethomorph   |                            | 110488-70-5  | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Metosulam  |                            | 139528-85-1  | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Nicosulfuron   |                            | 111991-09-4  | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Pethoxamid   |                            | 106700-29-2  | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Propamocarb  |                            | 24579-73-5   | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Prosulfocarb   |                            | 52888-80-9   | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Climbazol  |                            | 38083-17-9   | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Gabapentin   |                            | 60142-96-3   | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Irbesartan   |                            | 138402-11-6  | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Valsartan  |                            | 137862-53-4  | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Eprosartan   |                            | 133040-01-4  | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Losartan   |                            | 114798-26-4  | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Moclobemide  |                            | 71320-77-9   | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Venlafaxine  |                            | 93413-69-5   | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Perfluoro-1-butane-sulfonamide   | FBSA                       | 30334-69-1   | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Perfluohexane sulfonamide  | FHxSA                      | 41997-13-1   | NORMAN 2015 | NORMAN |
| N,N-Dimethylperfluorooctane sulfonamide  | N,N-Me <sub>2</sub> FOSA-M | 87988-61-2   | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Perfluorooctane sulfonamido acetic acid  | FOSAA                      | 2806-24-8    | NORMAN 2015 | NORMAN |
| N-methylperfluorooctane sulfonamido acetic acid                                  | N-MeFOSAA                  | 2355-31-9    | NORMAN 2015 | NORMAN |
| N-ethylperfluorooctane sulfonamido acetic acid                                   | N-EtFOSAA                  | 2991-50-6    | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 6:2 perfluorohexyl ethanoic acid   | FHEA (6:2 FTCA)            | 53826-12-3   | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 8:2 perfluorooctyl ethanoic acid   | FOEA (8:2 FTCA)            | 27854-31-5   | NORMAN 2015 | NORMAN |

|  |                    |              |             |        |
|--|--------------------|--------------|-------------|--------|
| 10:2 perfluorodecyl ethanoic acid  | FDEA (10:2 FTCA)   | 53826-13-4   | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 3:3 perfluoropropyl propanoic acid   | FPrPA (3:3 Acid)   | 356-02-5     | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 5:3 perfluoropentyl propanoic acid   | FPePA (5:3 Acid)   | 914637-49-3  | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 7:3 perfluoroheptyl propanoic acid   | FHpPA (7:3 Acid)   | 812-70-4     | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 6:2 2H-perfluoro-2-octenoic acid   | FHUEA (6:2 FTUCA)  | 70887-88-6   | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 8:2 2H-perfluoro-2-decenoic acid   | FOUEA (8:2 FTUCA)  | 70887-84-2   | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 10:2 2H-perfluoro-2-dodenoic acid  | FDUEA (10:2 FTUCA) | 70887-94-4   | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 4:2 Fluorotelomer sulfonic acid  | 4:2FTS             | 757124-72-4  | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 8:2 Fluorotelomer sulfonic acid  | 8:2FTS             | 39108-34-4   | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Perfluorohexyl phosphonic acid   | PFHxPA             | 40143-76-8   | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Perfluorooctyl phosphonic acid   | PFOPA              | 40143-78-0   | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Perfluorodecyl phosphonic acid   | PFDPA              | 52299-26-0   | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Bis-(perfluorohexyl) phosphinic acid   | 6:6PFPi            | 40143-77-9   | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Bis-perfluorohexyl perfluorooctyl phosphinic acid                                | 6:8PFPi            | 610800-34-5  | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Bis-(perfluorooctyl) phosphinic acid   | 8:8PFPi            | 40143-79-1   | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 6:2 Fluorotelomer phosphate monoester  | 6:2 monoPAP        | 57678-01-0   | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 8:2 Fluorotelomer phosphate monoester  | 8:2 monoPAP        | 57678-03-2   | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Bis (1H,1H,2H,2H-perfluorohexyl) phosphate - 4:2 Fluorotelomer phosphate diester | 4:2diPAP           | 135098-69-0  | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Bis (1H,1H,2H,2H-perfluorooctyl) phosphate - 6:2 Fluorotelomer phosphate diester | 6:2diPAP           | 57677-95-9   | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Bis (1H,1H,2H,2H-perfluorodecyl) phosphate - 8:2 Fluorotelomer phosphate diester | 8:2diPAP           | 678-41-1     | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 10:2 Fluorotelomer phosphate diester   | 10:2diPAP          | 1895-26-7    | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 4:2/6:2 Fluorotelomer phosphate diester  | 4:2/6:2diPAP       | 1158182-59-2 | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 6:2/8:2 Fluorotelomer phosphate diester  | 6:2/8:2diPAP       | 943913-15-3  | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 8:2/10:2 Fluorotelomer phosphate diester   | 8:2/10:2diPAP      | 1158182-60-5 | NORMAN 2015 | NORMAN |

|  |   |             |             |        |
|--|---|-------------|-------------|--------|
| perfluoropolyethers  | C3F6C-<br>IO-[CF-CF(CF3)-O]<br>n-[CF(CF3)-O]<br>m-CF2COOH (n=1-4;<br>m=0-2) | 329238-24-6 | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 3H-perfluoro-3-((3-methoxy-propoxy) propanoic acid) ammonium salt / CF3OCF2CF2CF2OCHF2COONH4 | ADONA   | 958445-44-8 | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Ammonium perfluoro(2-methyl-3-oxahexanoate) / CF3CF2CF2OCF(CF3)COONH4                        | GenX  | 62037-80-3  | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 2, 2, 3, 3, 4, 4, 4-Heptafluoro-1-Butanol  | 3:1 FTOH  | 375-01-9    | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 2, 2, 3, 3, 4, 4, 5, 5, 6, 6, 6 - Undecafluoro-1-Hexanol                                     | 5:1 FTOH  | 423-46-1    | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 6:2 fluorotelomer sulfonamide alkylbetaine (trade name Forafac 1157)                         | 6:2 FTSAB   |             | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 6:2 fluorotelomer sulfonamide aminoxide(trade name Forafac 1183)                             | 6:2 FTSAAO  | 80475-32-7  | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Perfluorobutanoic acid   | PFBA  | 375-22-4    | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Perfluoropentanoic acid  | PFPa  | 2706-90-3   | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Perfluorohexane sulfonyl fluoride  | PFHxSF  | 423-50-7    | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 4:2 Fluorotelomer Thioamido Sulfonate  | 4:2 FtTAoS  |             | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 6:2 Fluorotelomer Thioamido Sulfonate  | 6:2 FtTAoS  |             | NORMAN 2015 | NORMAN |
| 8:2 Fluorotelomer Thioamido Sulfonate  | 8:2 FtTAoS  |             | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Clofibrate   |   |             | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Benzoylcegonine (Cocaine)  |   | 519-09-5    | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Amphetamine  |   | 300-62-9    | NORMAN 2015 | NORMAN |
| Methamphetamine  |   | 537-46-2    | NORMAN 2015 | NORMAN |
| MDMA (Ecstasy)   |   |             | NORMAN 2015 | NORMAN |
| THC-COOH (Cannabis)  |   |             | NORMAN 2015 | NORMAN |











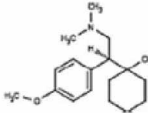
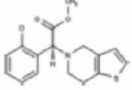
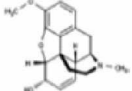
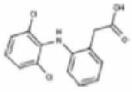
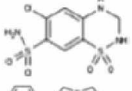
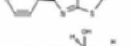

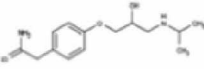
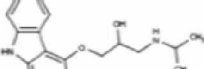
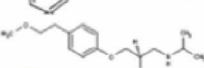
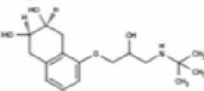
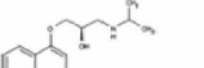
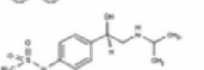
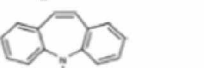






## **PRILOG 2.**

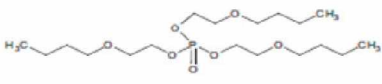
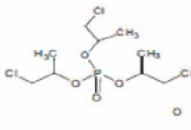
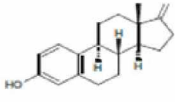
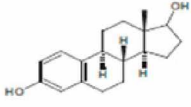
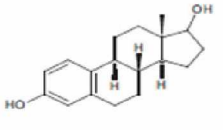
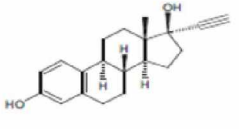
## PRILOG 2.

Tabela 4.4.4.1 Hemijske strukture i prekursori jona ispitivanih hemikalija (Izračunato pomoću MarvinSketch software Huerta et al., 2013)

| Compound            | Therapeutic family             | Molecular structure   | Precursor ion          | Internal standard                  | pKa   | log P |
|---------------------|--------------------------------|---|------------------------|------------------------------------|---|-------|
| Venlafaxine         | Psychiatric drugs              |    | 278 [M+H] <sup>+</sup> | Venlafaxine-d <sub>6</sub>         | pKa <sub>1</sub> : 8.91<br>pKa <sub>2</sub> : 14.42                             | 2.74  |
| Clopidogrel         | Antiplatelet agent             |    | 322 [M+H] <sup>+</sup> | Diazepam-d <sub>5</sub>            | pKa: 5.14   | 4.03  |
| Codeine             | Analgesics/anti-inflammatories |    | 300 [M+H] <sup>+</sup> | Carbamazepine-d <sub>10</sub>      | pKa <sub>1</sub> : 9.19<br>pKa <sub>2</sub> : 13.78                             | 1.34  |
| Diclofenac          | Analgesics/anti-inflammatories |    | 294 [M-H] <sup>-</sup> | Ibuprofen-d <sub>3</sub>           | pKa <sub>1</sub> : 4.00<br>pKa <sub>2</sub> : 16.40                             | 4.26  |
| Hydrochlorothiazide | Diuretic                       |    | 296 [M-H] <sup>-</sup> | Hydrochlorothiazide-d <sub>2</sub> | pKa <sub>1</sub> : 9.09<br>pKa <sub>2</sub> : 9.83<br>pKa <sub>3</sub> : 11.31  | -0.58 |
| Levamisole          | Antihelmintics                 |    | 205 [M+H] <sup>+</sup> | Ronidazole-d <sub>3</sub>          | pKa: 6.98   | 2.36  |
| Salbutamol          | To treat asthma                |  | 240 [M+H] <sup>+</sup> | Atenolol-d <sub>7</sub>            | pKa <sub>1</sub> : 9.40<br>pKa <sub>2</sub> : 10.12<br>pKa <sub>3</sub> : 14.18 | 0.88  |
| Compound            | Therapeutic family             | Molecular structure   | Precursor ion          | Internal standard                  | pKa   | log P |
| Atenolol            | β-Blockers                     |  | 267 [M+H] <sup>+</sup> | Atenolol-d <sub>7</sub>            | pKa <sub>1</sub> : 9.67<br>pKa <sub>2</sub> : 14.08<br>pKa <sub>3</sub> : 15.95 | 0.43  |
| Carazolol           | β-Blockers                     |  | 299 [M+H] <sup>+</sup> | Atenolol-d <sub>7</sub>            | pKa <sub>1</sub> : 9.67<br>pKa <sub>2</sub> : 14.03<br>pKa <sub>3</sub> : 15.00 | 2.71  |
| Metoprolol          | β-Blockers                     |  | 268 [M+H] <sup>+</sup> | Atenolol-d <sub>7</sub>            | pKa <sub>1</sub> : 9.67<br>pKa <sub>2</sub> : 14.09                             | 1.76  |
| Nadolol             | β-Blockers                     |  | 310 [M+H] <sup>+</sup> | Atenolol-d <sub>7</sub>            | pKa <sub>1</sub> : 9.76<br>pKa <sub>2</sub> : 13.59<br>pKa <sub>3</sub> : 14.22 | 0.87  |
| Propanolol          | β-Blockers                     |  | 260 [M+H] <sup>+</sup> | Atenolol-d <sub>7</sub>            | pKa <sub>1</sub> : 9.67<br>pKa <sub>2</sub> : 14.09                             | 2.58  |
| Sotalol             | β-Blockers                     |  | 273 [M+H] <sup>+</sup> | Atenolol-d <sub>7</sub>            | pKa <sub>1</sub> : 9.43<br>pKa <sub>2</sub> : 10.07<br>pKa <sub>3</sub> : 14.10 | 0.05  |
| Carbamazepine       | Psychiatric drugs              |  | 237 [M+H] <sup>+</sup> | Carbamazepine-d <sub>10</sub>      | pKa: 13.94  | 2.77  |
| Citalopram          | Psychiatric drugs              |  | 325 [M+H] <sup>+</sup> | Citalopram-d <sub>4</sub>          | pKa: 9.78   | 3.76  |
| Diazepam            | Psychiatric drugs              |  | 285 [M+H] <sup>+</sup> | Diazepam-d <sub>5</sub>            | pKa: 2.92   | 3.08  |

Prilog 3. Tabela 4.4.4.2 Fizičko-hemijska svojstva i hemijske strukture ciljnih jedinjenja

| Physical-chemical properties and chemical structures of target compounds. |                  |           |                                  |                    |                                 |
|---|------------------|-----------|----------------------------------|--------------------|---------------------------------|
| Compound  | Family           | Structure | pKa <sup>a</sup>                 | log P <sup>b</sup> | Corresponding internal standard |
| 1H-benzotriazole  | Triazoles        |           | 0.58<br>8.63                     | 1.30               | 1H-benzotriazole-d4             |
| Caffeine  | Stimulants       |           | -9.36<br>-0.92                   | -0.55              | Caffeine-d3                     |
| Progesterone  | Hormones         |           | -7.36<br>-4.82<br>18.92<br>19.56 | 4.15               | Progesterone-d8                 |
| Levonorgestrel  | Hormones         |           | -4.73<br>-1.53<br>17.91<br>19.28 | 3.66               | Progesterone-d8                 |
| Tolytriazole  | Triazoles        |           | -2.96<br>-0.03<br>9.04           | 1.78               | 1H-benzotriazole-d4             |
| TCDFTris(2-chloroethyl) phosphate   | Flame retardants |           | -9.06                            | 2.11               | Triphenyl phosphate-d15         |
| Estroste-3-sulfate  | Hormones         |           | -1.75<br>-7.48                   | 3.83               | Estroste-d4                     |
| Bisphenol A   | Plasticizers     |           | -5.46<br>9.78<br>10.39           | 4.04               | Bisphenol A-d4                  |
| Triclosan   | Antibacterials   |           | -9.20<br>-6.67<br>7.68           | 4.98               | Triclosan methyl-d3 ether       |
| Methylparaben   | Preservatives    |           | -6.87<br>-6.06<br>8.50           | 1.67               | Methylparaben-d4                |
| Ethylparaben  | Preservatives    |           | -6.88<br>-6.06<br>8.50           | 2.03               | Methylparaben-d4                |
| Propylparaben   | Preservatives    |           | -6.88 - 6.06/8.50                | 2.55               | Methylparaben-d4                |
| Benzylparaben   | Preservatives    |           | -6.89 - 6.06/8.50                | 3.40               | Methylparaben-d4                |

|                                       |                  |  |  |      |                             |
|---------------------------------------|------------------|--|--|------|-----------------------------|
| TBEP Tris (2-butoxyethyl) phosphate   | Flame retardants |  | -9.09<br>-4.62<br>-4.14<br>-3.66                   | 3.94 | Trisphenyl<br>phosphate-d15 |
| TCPPTris(2-chloroisopropyl) phosphate | Flame retardants |   | -9.06  | 3.36 | Trisphenyl<br>phosphate-d15 |
| Estrone                               | Hormones         |   | -7.48<br>-5.45<br>10.33<br>19.96                   | 4.31 | Estrone-d4                  |
| 17β-Estradiol                         | Hormones         |   | -5.45<br>-0.88<br>10.33<br>19.38                   | 3.75 | 17β-Estradiol-d2            |
| Estriol                               | Hormones         |   | -5.45<br>-3.34<br>-3.16<br>10.33<br>13.62<br>15.16 | 2.67 | Estrone-d4                  |
| 17α-Ethinylestradiol                  | Hormones         |   | -1.66<br>-5.45<br>10.33<br>17.59                   | 3.90 | 17α-Ethinylestradiol-<br>d4 |

Prilog 3. Tabela 4.4.4.3. Target komponente analizirane po terapijskim grupama i izotopno označeni interni standardi dodijeljeni za njihovu kvantifikaciju.

| Therapeutic groups   | Compounds                             | Number | CAS number  | Corresponding internal standard               |
|--|---------------------------------------|--------|-------------|---|
| Analgesics/anti-inflammatories (14)                                  | Ketoprofen                            | 1      | 22071-15-4  | Ibuprofen-d <sub>3</sub>                      |
|  | Naproxen                              | 2      | 22204-53-1  | Ibuprofen-d <sub>3</sub>                      |
|  | Ibuprofen                             | 3      | 15687-27-1  | Ibuprofen-d <sub>3</sub>                      |
|  | Indomethacin                          | 4      | 53-86-1     | Indomethacin-d <sub>4</sub>                   |
|  | Acetaminophen                         | 5      | 103-90-2    | Acetaminophen-d <sub>4</sub>                  |
|  | Salicylic acid                        | 6      | 69-72-7     | Acetaminophen-d <sub>4</sub>                  |
|  | Diclofenac                            | 7      | 15307-79-6  | Ibuprofen-d <sub>3</sub>                      |
|  | Phenazone                             | 8      | 60-80-0     | Phenazone-d <sub>3</sub>                      |
|  | Propyphenazone                        | 9      | 479-92-5    | Phenazone-d <sub>3</sub>                      |
|  | Piroxicam                             | 10     | 36322-90-4  | Meloxicam-d <sub>3</sub>                      |
|  | Tenoxicam                             | 11     | 59804-37-4  | Meloxicam-d <sub>3</sub>                      |
|  | Meloxicam                             | 12     | 71125-39-8  | Meloxicam-d <sub>3</sub>                      |
|  | Oxycodone                             | 13     | 124-90-3    | Carbamazepine-d <sub>10</sub>                 |
|  | Codeine                               | 14     | 76-57-3     | Carbamazepine-d <sub>10</sub>                 |
| Lipid regulators and cholesterol lowering statin drugs (5)           | Bezafibrate                           | 15     | 41859-67-0  | Bezafibrate-d <sub>5</sub>                    |
|  | Gemfibrozil                           | 16     | 25812-30-0  | Gemfibrozil-d <sub>6</sub>                    |
|  | Pravastatin                           | 17     | 81131-70-6  | Gemfibrozil-d <sub>6</sub>                    |
| Psychiatric drugs (15)   | Fluvastatin                           | 18     | 93957-54-1  | Gemfibrozil-d <sub>6</sub>                    |
|  | Atorvastatin                          | 19     | 134523-03-8 | Gemfibrozil-d <sub>6</sub>                    |
|  | Carbamazepine                         | 20     | 298-46-4    | Carbamazepine-d <sub>10</sub>                 |
|  | 2-Hydroxycarbamazepine <sup>a</sup>   | 21     | 68011-66-5  | Carbamazepine-d <sub>10</sub>                 |
|  | 10,11-epoxycarbamazepine <sup>a</sup> | 22     | 36507-30-9  | Carbamazepine-d <sub>10</sub>                 |
|  | Acridone <sup>a</sup>                 | 23     | 578-95-0    | Carbamazepine-d <sub>10</sub>                 |
|  | Setraline                             | 24     | 79559-97-0  | Fluoxetine-d <sub>5</sub>                     |
|  | Citalopram                            | 25     | 59729-32-7  | Citalopram-d <sub>4</sub>                     |
|  | Venlafaxine                           | 26     | 99300-78-4  | Venlafaxine-d <sub>4</sub>                    |
|  | Olanzapine                            | 27     | 132539-06-1 | Carbamazepine-d <sub>10</sub>                 |
|  | Trazodone                             | 28     | 25332-39-2  | Fluoxetine-d <sub>5</sub>                     |
|  | Fluoxetine                            | 29     | 56296-78-7  | Fluoxetine-d <sub>5</sub>                     |
|  | Norfluoxetine <sup>a</sup>            | 30     | 83891-03-6  | Fluoxetine-d <sub>5</sub>                     |
|  | Paroxetine                            | 31     | 110429-35-1 | Fluoxetine-d <sub>5</sub>                     |
| Histamine H <sub>1</sub> and H <sub>2</sub> receptor antagonists (5) | Diazepam                              | 32     | 439-14-5    | Diazepam-d <sub>5</sub>                       |
|  | Lorazepam                             | 33     | 846-49-1    | Diazepam-d <sub>5</sub>                       |
|  | Alprazolam                            | 34     | 28981-97-7  | Diazepam-d <sub>5</sub>                       |
|  | Loratadine                            | 35     | 79794-75-5  | Cimetidine-d <sub>3</sub>                     |
|  | Desloratadine <sup>a</sup>            | 36     | 100643-71-8 |   |
| β-Blocking agents (6)  | Ranitidine                            | 37     | 66357-59-3  |   |
|  | Famotidine                            | 38     | 76824-35-6  |   |
|  | Cimetidine                            | 39     | 51481-61-9  |   |
|  | Atenolol                              | 40     | 29122-68-7  | Atenolol-d <sub>3</sub>                       |
|  | Sotalol                               | 41     | 959-24-0    |   |
|  | Propranolol                           | 42     | 318-98-9    |   |
|  | Metoprolol                            | 43     | 56392-17-7  |   |
|  | Nadolol                               | 44     | 42200-33-9  |   |
|  | Carazolol                             | 45     | 57775-29-8  |   |
| Diuretic (3)   | Hydrochlorothiazide                   | 46     | 58-93-5     | Hydrochlorothiazide-d <sub>3</sub>            |
|  | Furosemide                            | 47     | 54-31-9     | Furosemide-d <sub>5</sub>                     |
| Antidiabetic (1)<br>Antihypertensives (4)                            | Furosemide                            | 47     | 54-31-9     | Furosemide-d <sub>5</sub>                     |
|  | Torsemide                             | 48     | 56211-40-6  | Furosemide-d <sub>5</sub>                     |
|  | Glibenclamide                         | 49     | 10238-21-8  | Glyburide-d <sub>3</sub>                      |
|  | Amlodipine                            | 50     | 111470-99-6 | Amlodipine-d <sub>4</sub>                     |
|  | Losartan                              | 51     | 124750-99-8 | Valsartan-d <sub>4</sub>                      |
|  | Irbesartan                            | 52     | 138402-11-6 |   |
|  | Valsartan                             | 53     | 137862-53-4 |   |
|  | Clopidogrel                           | 54     | 135046-48-9 | Glyburide-d <sub>3</sub>                      |
|  | Tamsulosin                            | 55     | 106463-17-6 | Sulfamethoxazole-d <sub>4</sub>               |
|  | Salbutamol                            | 56     | 18559-94-9  | Atenolol-d <sub>3</sub>                       |
|  | Warfarin                              | 57     | 81-81-2     | Warfarin-d <sub>5</sub>                       |
|  | Iopromide                             | 58     | 73334-07-3  | Sulfamethoxazole-d <sub>4</sub>               |
|  | Albendazole                           | 59     | 54965-21-8  | Ronidazole-d <sub>3</sub>                     |
| X-ray contrast agents (1)<br>Antihelmintics (3)                      | Thiabendazole                         | 60     | 148-79-8    |   |
|  | Levamisole                            | 61     | 16595-80-5  |   |
|  | Dexamethasone                         | 62     | 50-02-2     | Dexamethasone-d <sub>4</sub>                  |
|  | Xylazine                              | 63     | 23076-35-9  | Xylazine-d <sub>6</sub>                       |
|  | Azaperone                             | 64     | 1649-18-9   | Azaperone-d <sub>4</sub>                      |
|  | Azaperol <sup>a</sup>                 | 65     | 2804-05-9   |   |
|  | Erythromycin                          | 66     | 59319-72-1  | Erythromycin-N,N <sup>13</sup> C <sub>2</sub> |
|  | Azithromycin                          | 67     | 83905-01-5  | Azithromycin-d <sub>3</sub>                   |
|  | Clarithromycin                        | 68     | 81103-11-9  | Azithromycin-d <sub>3</sub>                   |
|  | Tetracycline                          | 69     | 64-75-5     | Sulfamethoxazole-d <sub>4</sub>               |
|  | Ofloxacin                             | 70     | 82419-35-1  | Ofloxacin-d <sub>3</sub>                      |
|  | Ciprofloxacin                         | 71     | 85721-33-1  | Ofloxacin-d <sub>3</sub>                      |
|  | Sulfamethoxazole                      | 72     | 723-46-6    | Sulfamethoxazole-d <sub>4</sub>               |
|  | Trimethoprim                          | 73     | 738-70-5    | Sulfamethoxazole-d <sub>4</sub>               |

Table 1 (Continued)

| Therapeutic groups           | Compounds                     | Number | CAS number | Corresponding internal standard |
|------------------------------|-------------------------------|--------|------------|---------------------------------|
| Calcium channel blockers (3) | Metronidazole                 | 74     | 443-48-1   | Ronidazole-d <sub>3</sub>       |
|                              | Metronidazole-OH <sup>a</sup> | 75     | 4812-40-2  | Ronidazole-d <sub>3</sub>       |
|                              | Dimetridazole                 | 76     | 551-92-8   | Ronidazole-d <sub>3</sub>       |
|                              | Ronidazole                    | 77     | 7681-76-7  | Ronidazole-d <sub>3</sub>       |
|                              | Cefalexin                     | 78     | 15686-71-2 | Sulfamethoxazole-d <sub>4</sub> |
|                              | Diltiazem                     | 79     | 42399-41-7 | Carbamazepine-d <sub>10</sub>   |
|                              | Verapamil                     | 80     | 152-11-4   | Verapamil-d <sub>6</sub>        |
|                              | Norverapamil <sup>a</sup>     | 81     | 67812-42-4 | Verapamil-d <sub>6</sub>        |

## BIOGRAFIJA

Dražana Radonjić je rođena 05.09.1973, u Podgorici. Prve četiri godine Osnovne škole (OŠ) je završila u OŠ "Zarija Vujošević" u Matagužima, a ostale četiri u OŠ "Milan Vukotić" u Golubovcima, Zeta, Podgorica. Srednju školu Gimnaziju "Slobodan Škerović" završila je u Titogradu 1991. godine. Osnovne Studije završila je u Podgorici na Prirodno-matematičkom fakultetu, studijska grupa za biologiju, 1997. godine. Specijalističke studije završila na Biološkom fakultetu u Beogradu. Magistrarske Studije je završila na Prirodno-matematičkom fakultetu, studijska grupa za biologiju 2007 odbranivši temu: "Utvrđivanje kvaliteta vode na nekim lokacijama Skadarskog jezera i rijeka Morače i Bojane". Doktorske studije je upisala 2013. godine.

Svoju karijeru počela je u Institutu za javno zdravlje u Podgorici kao samostalni saradnik na mikrobiologiji, 1998. godine, nastavila je u Hemomontu d.o.o STADA ARZNEIMITTEL AG kao Šef odjeljenja biološke kontrole, do 2017. godine. Neko vrijeme nakon toga radila je kao toksikolog u Laboratoriji za sudsku medicinu u Kliničkom centru Crne Gore uporedo sa poslom Laboratorijskog kordinatora na Univerzitetu Donja Gorica u Podgorici. Od 2020 godine je Vođa mikrobiološkog laboratorija na Biaseparationscro, Labena d.o.o, u Ljubljani, Slovenia.

Oblast kojom se bavi i koju proučava je biologija mikroorganizama. Predstavljala je radove na nacionalnim i međunarodnim kongresima, objavila više naučnih radova iz ove oblasti.





### **Izjava o autorstvu**

Podpisana \_\_\_\_\_ Dražana Radonjić \_\_\_\_\_

Broj indeksa/upisa \_\_\_\_\_ 1/2012 \_\_\_\_\_

### **Izjavljujem**

Da je doktorska disertacija pod naslovom

“DINAMIKA EMERGENTNIH SUPSTANCI U VODI (EmS) I ENDOKRINO-  
UZNEMIRAVAJUĆIH HEMIKA LIJA (EDCs) U EKOSISTEMIMA RIJEKE MORAČE I  
SKADARSKOG JEZERA”

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,
- da predložena disertacija ni u cjelini ni u djelovima nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih ustanova visokog obrazovanja,
- da su rezultati korektno navedeni, i
- da nijesam povrijedila autorska druga prava intelektualne svojine koja pripadaju trećim licima.

Potpis doktoranda

U Podgorici, 28.08.2022 \_\_\_\_\_

 \_\_\_\_\_

### Izjava o istovjetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora \_\_Dražana Radonjić\_\_

Broj indeksa/upisa \_\_1/2012\_\_

Studijski program \_\_Biologija\_\_

Naslov rada \_\_“DINAMIKA EMERGENTNIH SUPSTANCI U VODI (EmS) I ENDOKRINO-  
UZNEMIRAVAJUĆIH HEMIKAJIJA (EDCs) U EKOSISTEMIMA RIJEKE MORAČE I  
SKADARSKOG JEZERA”\_\_

Podpisana \_\_Dražana Radonjić\_\_

Izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovjetna elektronskoj verziji koju sam predala za elektronsko objavljivanje u Digitalni arhiv Univerziteta Crne Gore.

Istovremeno izjavljujem da dozvoljavam objavljivanje mojih ličnih podataka u vezi sa dobijanjem akadaemskog naziva doktora nauka, odnosno zvanja doktora umjetnosti, kao što su ime i prezime, godina i mjesto rođenja, naziv disertacije i datum odbrane rada.

Potpis doktoranda

U Podgorici, 28.08.2022\_\_

  
\_\_\_\_\_

## IZJAVA O KORIŠĆENJU

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku da u Digitalni arhiv Univerziteta Crne Gore pohrani moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

\_\_\_ "Dinamika Emergentnih supstanci u vodi (EmS) i endokrino-uznemiravajućih hemikalija (EDCs) U ekosistemima rijeke Morače i Skadarskog jezera" \_\_\_\_\_

Koja je moje autorsko djelo.

Disertaciju sa svim prilogima predala sam u elektronskom format pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalni arhiv Univerziteta Crne Gore mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (creative Commons) za koju sam se odlučila.

1. Autorstvo
2. Autorstvo -nekomercijalno
3. Autorstvo -nekomercijalno -bez prerade
4. **Autorstvo -nekomercijalno-djeliti pod istim uslovima**
5. Autorstvo - bez prerade
6. Autorstvo – dijeliti pod istim uslovima

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci, kratak opis licenci je dat na poledini lista).

Potpis doktoranda



U Podgorici, 28.08.2022