

# Bioakumulacija esencijalnih i toksičnih elemenata u mišićnom tkivu bijelog klena (*Squalius squalus* Bonaparte, 1837) iz rijeke Raše

---

Šebešćen, Dora

Master's thesis / Diplomski rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:911578>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-06**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno - matematički fakultet  
Biološki odsjek

Dora Šebešćen

**Bioakumulacija esencijalnih i toksičnih elemenata u  
mišićnom tkivu bijelog klena (*Squalius  
squalus* Bonaparte, 1837) iz rijeke Raše**

Diplomski rad

Zagreb, 2021.

Ovaj rad je izrađen u Laboratoriju za analitičku toksikologiju i mineralni metabolizam na Institutu za medicinska istraživanja i medicinu rada, pod vodstvom prof. dr. sc. Davor Zanella i dr. sc. Zorane Kljaković-Gašpić. Rad je predan na ocjenu Biološkom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu radi stjecanja zvanja magistra ekologije i zaštite prirode.

*Veliku zahvalnost dugujem svojim mentorima dr. sc. Davoru Zanelli i dr. sc. Zorani Kljaković - Gašpić na velikoj pomoći, strpljenju, uloženom vremenu i dostupnosti za moje upite. Hvala za nesebično preneseno znanje te za svaki stručni i prijateljski savjet.*

*Zahvaljujem se prof. dr. sc. Gordani Medunić na susretljivosti i realizaciji ovog diplomskog rada.*

*Zahvaljujem se Institutu za medicinska istraživanja koji mi je omogućio izradu ovog rada, a posebno hvala Laboratoriju za analitičku toksikologiju i mineralni metabolizam na ljubaznosti i ugodnom okruženju.*

*Za kraj, najveća hvala mojoj obitelji posebice mojim roditeljima bez kojih ovo postignuće ne bi bilo moguće. Hvala na razumijevanju, strpljenju, ljubavi i velikoj potpori tijekom cijelog studiranja.*

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

---

Sveučilište u Zagrebu

Prirodoslovno-matematički fakultet

Biološki odsjek

Diplomski rad

## BIOAKUMULACIJA ESENCIJALNIH I TOKSIČNIH ELEMENATA U MIŠIĆNOM TKIVU BIJELOG KLENA (*SQUALIUS* *SQUALUS* BONAPARTE, 1837) IZ RIJEKE RAŠE

Dora Šebešćen

Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

Područje istočno od rijeke Raše stotinama je godina korišteno za rudarske aktivnosti zbog velikih naslaga ugljena koji je specifičan po sastavu kojeg karakteriziraju visoke koncentracije toksičnih metala i selenija. Ispiranje cjelokupnog područja kišama i podzemnim vodama može nataložiti esencijalne i toksične elemente u rijeke i negativno utjecati na cijeli vodeni ekosustav. Iako se na tom području provode ispitivanja tla, vode i sedimenta, nedostaje upotreba bioindikatora za procjenu stanja okoliša. Zbog toga je cilj ovog rada bio istražiti koncentracije 14 esencijalnih i 7 neesencijalnih (toksičnih) elemenata u mišićnom tkivu bijelog klena (*Squalius squalus* Bonaparte, 1837) i u riječnim sedimentima rijeke Raše. Jedinke i sediment uzorkovani su na dvije postaje u rijeci Raši te su koncentracije ispitane metodom masene spektrofotometrije uz induktivno spregnutu plazmu. U mišićnom tkivu svi elementi su normalnih vrijednosti te su ispod granica koje su propisane odredbama. Vrijednosti u sedimentu su u skladu sa sastavom okolnog tla, a povećane vrijednosti elemenata Fe, Cr, Mg, Ni i Se prirodnog su podrijetla te odražavaju geološku podlogu slivnog područja. To potvrđuju dubinski profili svih elemenata osim za Mo, Se i U koji su malo povišeni u površinskom sloju što ukazuje na mogući antropogeni utjecaj koji treba dodatno istražiti.

(55 stranica, 18 slika, 3 tablice, 102 literaturna navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici

**Ključne riječi:** ugljen, teški metali, bioindikator

**Voditelj 1:** prof. dr. sc. Davor Zanella

**Voditelj 2:** dr. sc. Zorana Kljaković-Gašpić

**Ocjenitelji:** prof. dr. sc. Davor Zanella

doc. dr. sc. Sandra Hudina

izv. prof. dr. sc. Jasna Lajtner

Zamjena: prof. dr. sc. Ivana Maguire

**Rad prihvaćen:**

## BASIC DOCUMENTATION CARD

---

University of Zagreb

Faculty of science

Department of Biology

Master Thesis

### BIOACCUMULATION OF ESSENTIAL AND TOXIC ELEMENTS IN MUSCLE TISSUE OF ITALIAN CHUB (*SQUALIUS SQUALUS* BONAPARTE, 1837) FROM THE RAŠA RIVER

Dora Šebešćen

Rooseveltovej trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

The area east of the Raša River has been used for mining activities for hundreds of years due to its large coal deposits, which are specific in composition and are characterized by high concentrations of metall(oid)s. Flushing of the entire area with rain and groundwater can deposit heavy metals in rivers and negatively affect entire aquatic ecosystem. Although soil, water and sediment tests were carried out in the area, the use of bioindicators to assess the state of the environment is lacking. Therefore, the aim of this study was to investigate the concentrations of 14 essential and 7 non-essential (toxic) elements in the muscle tissue of white chub (*Squalius squalus* Bonaparte, 1837) and in the river sediments of the Raša River. Fish and sediment were sampled at two stations in the Raša River, and concentrations were examined with inductively coupled plasma mass spectrophotometry. In muscle tissue, all elements are of normal values that are below the limits set by regulations. Values in sediments are in accordance with the elemental composition of the surrounding soil. The increased values of Fe, Cr, Mg, Ni and Se are of natural origin, reflecting the geological baseline values of the catchment area. This is confirmed by the depth profiles of all elements except Mo, Se and U, whose elevated concentrations in surface layer indicate possible anthropogenic impact that merits further investigation.

(55 pages, 18 figures, 3 tables, 102 references, original in: Croatian)

Thesis is deposited in the Central Biological Library

**Keywords:** coal, heavy metals, bioindicators

**Supervisor 1:** prof. dr. sc. Davor Zanella

**Supervisor 2:** dr. sc. Zorana Kljaković-Gašpić

**Reviewers:** prof. dr. sc. Davor Zanella

doc. dr. sc. Sandra Hudina

izv. prof. dr. sc. Jasna Lajtner

Zamjena: prof. dr. sc. Ivana Maguire

**Thesis accepted:**

# Sadržaj

1. Uvod.....	1
1.1 Rudarska povijest Labinštine .....	2
1.2 Raški ugljen.....	6
1.3 Utjecaj rudarstva na okoliš.....	7
1.4 Utjecaj esencijalnih i neesencijalnih elemenata .....	7
1.5 Bioindikatori.....	12
2. Cilj istraživanja .....	14
3. Materijali i metode.....	15
3.1 Područje istraživanja .....	15
3.2 Bijeli klen ( <i>Squalius squalus</i> ) .....	16
3.3 Uzorkovanje .....	19
3.4 Određivanje masenih udjela elemenata metodom masene spektrometrije uz induktivno spregnutu plazmu (ICP-MS) .....	20
3.5 Obrada podataka.....	22
4. Rezultati .....	23
4.1 Bijeli klen ( <i>Squalius squalus</i> ) .....	23
4.2 Sediment.....	33
5. Rasprava.....	41
6. Zaključak.....	44
7. Literatura i izvori .....	45
7.1 Literatura .....	45
7.2 Izvori .....	54
8. Prilozi.....	55
Životopis	

## 1. Uvod

Voda je esencijalna te čitavi ekosustavi ovise o čistom i zdravom vodenom okolišu. Potrebna je da bismo je pili, uzgajali hranu te podržavali razna staništa. Povećanjem populacije i potreba povećali su se i pritisci na ekosustav, a jedan od takvih pritisaka je rudarstvo. Rudarstvo je djelatnost kojom se čovjek bavi još od brončanog doba vađenjem ugljena, metalnih ruda i minerala. Rudarska proizvodnja dosegla je vrhunac u 18. i 19. stoljeću nakon industrijske revolucije kada je potražnja za ugljenom i metalnim rudama bila najveća. S vremenom je potražnja za ugljenom i rudama drastično smanjena te kao rezultat toga danas postoje mnogi rudnici koji su napušteni i kao takvi predstavljaju potencijalnu prijetnju vodenom ekosustavu. Najveći problem kod napuštenih rudnika je ispiranje stijena. Kada se velike količine stijena koji sadrže sulfidne minerale iskopaju ili otvore u podzemnom rudniku, one reagiraju s vodom i kisikom stvarajući sumpornu kiselinu. Ona se kišnicom ili podzemnim vodama odvodi u obližnje potoke, rijeke i jezera ozbiljno pogoršavajući kvalitetu vode. Taj proces se odvija sve dok je izvorna stijena izložena zraku i vodi i dok se sulfidi ne isperu u potpunosti - proces koji može trajati stotinama, pa i tisućama godina. Osim sulfida, iz stijena se mogu isprati i toksični metali poput arsena, kobalta, bakra, kadmija, olova, srebra i cinka uzrokujući kontaminaciju okolnog tla i vode metalima koji imaju štetni utjecaj na organizme (Johnston i sur. 2008).

U Hrvatskoj je Istra bila rudarski vrlo značajno područje na kojem rudarska djelatnost seže još u 17. stoljeće. Najznačajnije je u tom pogledu područje Labinštine. Labinština je povijesno-geografski naziv za istočni dio Istre, između rijeke Raše, Čepićkoga polja, Plominskoga zaljeva, južnog dijela masiva Učke i Kvarnerskoga zaljeva. Područje Labinštine danas čine područja grada Labina, te općina Kršan, Sveta Nedelja i Raša (Slika 1). Povijest industrije na Labinštini vezana je prvenstveno i najvećim dijelom na eksploataciju ugljena (Vorano 1997).



## 1.1 Rudarska povijest Labinštine

Prema povijesnim istraživanjima i brojnim pisanim dokumentima, rudarstvo na području Labinštine je započelo u bivšem rudarskom naselju Krapan, današnjoj općini Raša, 1420. godine pod mletačkom vlašću. Pronađeni su izdanci ugljena sličnog katranu, koji su potom korišteni kao smola koja se koristi u impregnaciji donjeg dijela čamaca i jedrenjaka. Sljedećih godina bilo je nekoliko, uglavnom neuspješnih, pokušaja pronalaska ugljena. Nakon industrijske revolucije došlo je do potpisivanja koncesije za upravljanje podzemnim rezervatima Raše. Vjeruje se da je sredina 18. stoljeća označila prekretnicu u razvoju rudnika ugljena, jer je tada intenzivnim rudarski radom pronadjen kameni ugljen, pa je rudarstvo postalo neophodna gospodarska djelatnost. Godine 1785. započela je kontinuirana proizvodnja ugljena, s daljnjim rastom u narednim godinama i desetljećima. Prvi ozbiljniji ugovor potpisan je između rudnika i tadašnje riječke rafinerije šećera, što je stvorilo uvjete za veću proizvodnju. Riječka rafinerija šećera bila je tvornica koja je ugljen tražila kao glavni izvor energije u proizvodnim djelatnostima. U 18. stoljeću Mlečani su bili vrlo zainteresirani za rudnike ugljena na području Labina, a prava na proizvodnju dobili su deset godina prije pada poznate Mletačke Republike. To je razdoblje bilo prekratko za stvaranje ekonomskih koristi, ali je zasigurno stvorilo osnovu za daljnji razvoj i rast proizvodnje.

Dolaskom Napoleona potpisana su dva vrlo važna dekreta. Prvi je potpisan 1807. godine, koji je omogućavao izvoz ugljena iz Istre te pravila koja reguliraju prodaju ugljena na tržištu, dok je drugi 1808. godine rudarsku industriju regulirao kao profesiju. Glede stalne i kontinuirane proizvodnje ugljena na području današnje Općine Raša, treba spomenuti da je 1830. godine u Krapanu započela sustavna proizvodnja. Početkom 1879. godine započela je proizvodnja u rudarskom oknu Vinež.

U drugoj polovici 19. stoljeća, zbog porasta industrijalizacije u austrougarskoj ekonomiji, potražnja za ugljenom drastično se povećala. Angažiran je sve veći broj radnika, zajedno s otvaranjem novih jama u okolici. Stoga je postojala potreba za opremom u procesu rudarstva, posebno u transportnom sektoru i čišćenju ugljena. Godine 1881. svi labinski rudnici stupili su u jednu proizvodno-tehnološku cjelinu, što je rezultiralo povećanjem proizvodnje i konkurentnosti na tržištu ugljena.



Slika 1. Kartografski prikaz Istre s istaknutim općinama koje čine Labinštinu (www.istra.lzmk.hr)

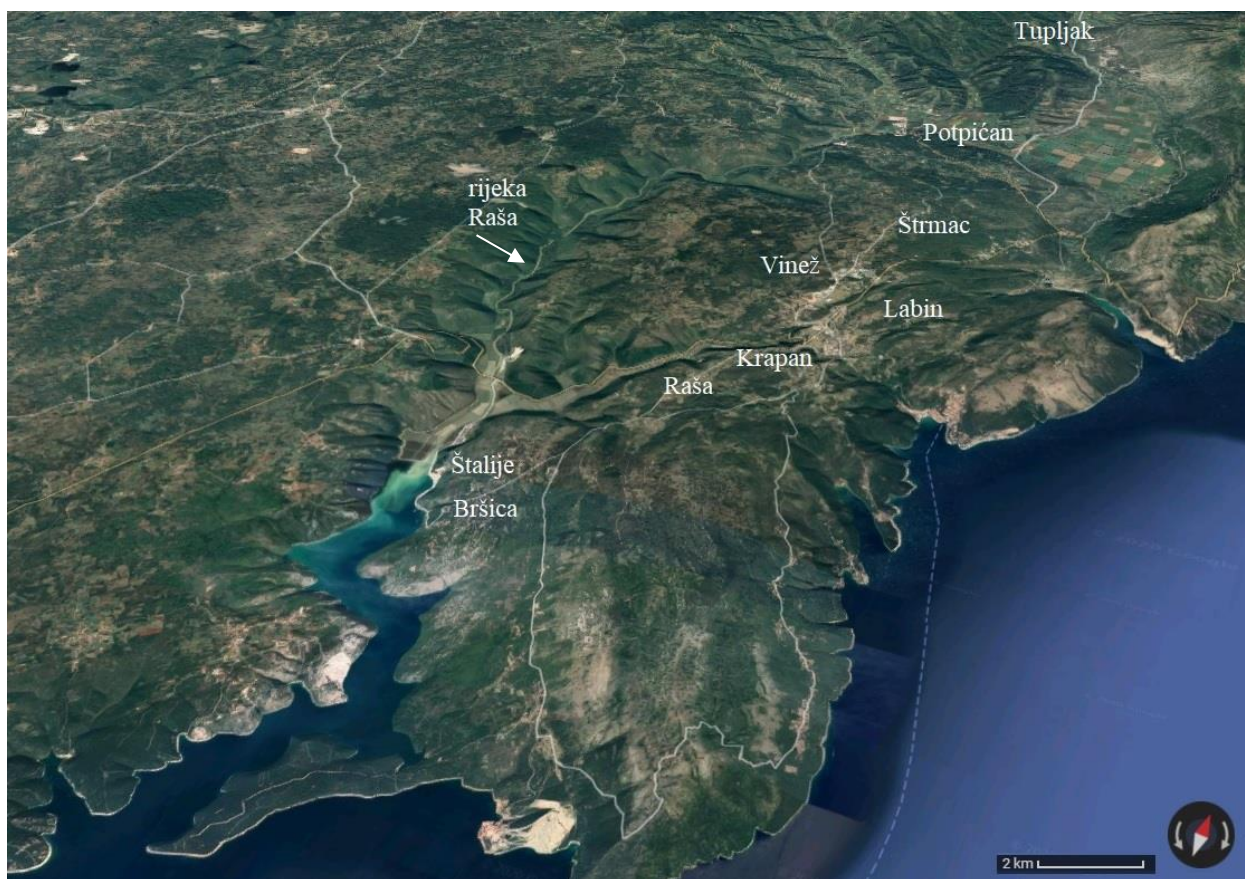
U to je vrijeme uprava bila usmjerena pretežito samo na rastući profit što je rezultiralo niskim plaćama i lošim uvjetima rada. Prvi štrajkovi u rudarstvu zabilježeni su 1876. i 1878. godine, zbog ogorčenosti zbog niskih plaća i loših radnih uvjeta. S obzirom na to da isplate plaća nisu bile u skladu s dogovorom uprave i rudara, rudari su odmah reagirali i krenuli u akciju u obliku štrajka 1883. Nakon prvog štrajka, čitav niz štrajkova na kraju je evoluirao u najveći štrajk 1921. godine, u regiji poznatoj kao Labinska republika. Prvi svjetski rat donio je nove nevolje jer su mnogi rudari išli na prvu liniju, a smanjena radna snaga u rudnicima utjecala je na rad rudnika. Rudari su bili strateški važni jer su rudnici ugljena bili u nadležnosti austrougarske vojske. Nakon sloma Austro-Ugarske monarhije, pod talijanskom vlašću od 1918. do 1945. godine, osnovana je tvrtka ARSA, koja je započela velikim ulaganjem u modernizaciju i elektrifikaciju rudnika.

Razdoblje između 1936. i 1940. zabilježeno je kao najproduktivnije razdoblje u pogledu proizvodnje, kao i prodaje ugljena, posebno zbog otvaranja novog rudnika u Podlabinu koji je teritorijalno bio dio tadašnje općine Raša. U isto vrijeme, potreba za novim smještajnim

kapacitetima za tehničare rezultirala je izgradnjom novog rudarskog naselja u Raši (1936.), koje je ubrzo postalo općina.

Drugi svjetski rat donio je iste probleme kao tijekom Prvog svjetskog rata. Rastuća ekonomska kriza, inflacija i nedostatak radne snage gotovo su doveli do propasti rudnika. Nakon oslobođanja Istre 1943. osnovana je nova organizacija rada u novoosnovanim istarskim rudnicima ugljena Raša. Tvrtka Istarski rudnici ugljena Raša obuhvaćala je niz rudnika na području Labina čineći zajedničku cjelinu u okviru sliva ugljena Raša (Slika 2).

Poslijeratne godine obilježio je evidentan nedostatak radnika zbog masovnog iseljavanja. Tih je godina vlada pokušala riješiti ovaj problem priljevom stanovništva sa ruralnih i nerazvijenih područja bivše Jugoslavije na područje Labina. Rezultat ovog pristupa doveo je do povećanja broja radnika, a također i do širenja proizvodnje ugljena. Unatoč svim sigurnosnim mjerama, nepravilna prethodna iskopavanja i složeni tektonski geološki uvjeti rezultirali su brojnim rudarskim nesrećama. Rudarska djelatnost patila je od značajne krize u 1960-ima, a postupno je zamijenjena metalno-prerađivačkom industrijom, dok je proizvodnja ugljena prepolovljena. Na tržištu je bila i izuzetno niska cijena najlona, što je dovelo do zamjene ugljena uljem zbog visokih cijena i neprihvatljivosti za okoliš. Zbog bezizlaznosti situacije i gomilanja viška ugljena, uprava rudnika i poduzeće Elektroprivreda otvorili su novu elektranu na ugljen u Plominu 1971. godine. Tim je činom sačuvana radna snaga i proizvodnja, te je pridoneseno energetske neovisnosti bivše države. Tijekom 1970-ih došlo je do postupnog zatvaranja sliva ugljena Raša. Rudnik ugljena Raša bio je jedan od prvih rudnika koji je okončao eksploataciju 1976. Ostali rudnici zabilježili su sve veće gubitke, a 1987. razočarani rudari započeli su 33-dnevni štrajk koji je konačno doveo do zatvaranja nerentabilnih rudnika Labin i Ripenda.



Slika 2. Kartografski prikaz rijeke Raše, rudnika Vinež, Raša, Krapan, Štrmac, Tupljak, separacije Štalijske, luka Bršica, grada Labina te naselja Potpićan na području Labinštine (karta: Google karte)

Time je tvrtka Istarski rudnici ugljena Raša potpuno ugašena, što je uslijedilo osnivanjem nove tvrtke koja se naziva Istarski rudnici ugljena Tupljak, ali ona nije mogla osigurati rezerve ugljena koje bi bile dovoljne za elektranu Plomin. Tada je tvrtka Elektroprivreda kao jedini otkupljivač ugljena predložila zatvaranje rudnika, tvrdeći da je proizvodnja skupa, a ugljen ekološki neprihvatljiv. Umjesto planiranog zatvaranja 1993. godine, odlučeno je nastaviti s iskopavanjem pripremljenih rezervi ugljena, bez dodatnih ulaganja u novu proizvodnju i infrastrukturu. Godine 1999. zatvoren je rudnik ugljena Tupljak te je time okončana gotovo šest stoljeća duga tradicija vađenja ugljena na ovom području (Vorano 1997).

## 1.2 Raški ugljen

Ugljen je najsloženiji geološki materijal koji se sastoji od organske tvari, vode, ulja, metana i gotovo svih elemenata u periodnom sustavu, posebno sumpora, zajedno sa širokim spektrom minerala (Rađenović 2006). To je zapaljiva, sedimentna stijena nastala iz vegetacije koja se milijunima godina formirala između slojeva stijena. Početne reakcije u procesu koalfikacije uključuju mikrobnu razgradnju biljnih ostataka, bilo aerobno ili anaerobno, u humine i treset. Povećani tlak i temperatura mijenjaju fizikalne i kemijske karakteristike nastalog sedimenta koji se zatim metamorfizira u ugljen (Speight 2005).

Iako se sadržaj sumpora u ugljenima znatno razlikuje, njegove razine najčešće se kreću od 0,5 % do 5 % (Chou 1997, 2012; Rađenović 2006). Općenito, u ugljenu se sumpor pojavljuje u obliku pirita, sulfata i u organskom obliku. Prema Chou (1997), varijacije sumpora u ugljenu kontroliraju geološki uvjeti. Kod ugljena s niskim udjelima sumpora, glavni izvor istog je biljni materijal dok je u ugljenima s srednjim i visokim udjelom sumpora veći dio sumpora dobiven iz sulfata morske vode. Također, sumpor u ugljenu važan je parametar u procjeni resursa ugljena (Chou 2012).

Raški ugljen spada u kategoriju SHOS (Super High Organic Sulfur) ugljena koja je posebna klasa ugljena. Karakteriziraju je izrazito povišene vrijednosti sumpora u rasponu od 4 do 11%. Obično ih karakterizira sastav uranij-selen-molibden-vanadij-renij i, u nekim slučajevima, povišene koncentracije rijetkih zemnih elemenata i itrija (Medunić i sur. 2016a; Fiket i sur. 2018). Prema istraživanjima White i sur. (1990) te Sinninghe Damsté i sur. (1999) ugljen iz kasnog paleocena sa područja Labinštine je izniman zbog visokog udjela sumpora, koji je većinom u organskom obliku. Kalcit i dolomit su glavne mineralne faze, a ukupni sumpor iznosi 10,77 % težine, uključujući 0,02 % sulfata, 0,3-0,63 % pirita i 10,45 % organskog sumpora.

Uz visoke vrijednosti sumpora, raški ugljen karakterizira i povećana radioaktivnost. Prema istraživanju Marović i sur. (2004), aktivnost U-238 bila je 10-15 puta više od prosjeka ostalih vrsta ugljena u svijetu. Ostali elementi pronađeni u raškom ugljenu su kalij, kalcij, titanij, krom, željezo, nikal, bakar, cink, astat, rubidij, stroncij i selenij (Medunić 2016b; Medunić 2018a).

### 1.3 Utjecaj rudarstva na okoliš

Rudarstvo ima nekoliko puteva štetnog utjecaja na okoliš ukoliko se ne upravlja na pravilan način. Prvo i osnovno je degradacija staništa brojnim vrstama zbog samog iskopa rudnika. Izgaranjem ugljena oslobađaju se zagađivala poput sumpora i aerosolnih čestica obogaćenih potencijalno toksičnim elementima u tragovima (Banerjee i sur. 2016). Osim izgaranja do onečišćenja može doći i ispiranjem naslaga ugljena i pepela (Harkness i sur. 2016; Medunić i sur. 2018b) prirodnim putem kišnicama i podzemnim vodama čime može doći do kontaminacije okolnog i vodenog područja (polu)metalima.

### 1.4 Utjecaj esencijalnih i neesencijalnih elemenata

Toksični učinci metala mogu varirati od potpunog gubitka biote do utjecaja na stopu razmnožavanja, rasta i ponašanja vodenih organizama (Bradth 2005). Poznato je da toksični metali uzrokuju oksidacijski stres te mogu imati citotoksične, mutanogene i kancerogene učinke na različite razine biološke organizacije (Erickson 1994). Općenito, metali se mogu kategorizirati kao biološki esencijalni i neesencijalni. Neesencijalni metali nemaju dokazanu biološku funkciju, a njihova toksičnost raste s povećanjem koncentracije. Esencijalni metali imaju poznatu važnu biološku vrijednost, a toksičnost se javlja ili pri metaboličkim nedostacima ili pri visokim koncentracijama (Sivaperumal i sur. 2007). Nedostatak esencijalnih metala stoga može uzrokovati nepovoljan učinak na zdravlje, dok njihova visoka koncentracija također može rezultirati negativnim utjecajima koji su ekvivalentni ili gori od onih uzrokovanih neesencijalnim metalima (Kennedy 2011). Štoviše, štetno djelovanje metala na ribe značajno ovisi o obliku u kojem se pojavljuju u vodi (Basha i Rani 2003). Ionski oblici metala ili jednostavni anorganski spojevi toksičniji su od složenih anorganskih ili organskih spojeva. Toksično djelovanje metala osobito je izraženo u ranim fazama razvoja ribe (Vinodhini i Narayanan 2008) i nepovoljno utječe na različite metaboličke procese u razvoju riba osobito embrija, što rezultira zaostatkom u razvoju, morfološkim i funkcionalnim deformacijama ili smrću najosjetljivijih jedinki (Sfakianakis i sur. 2015). Utjecaji nekih od esencijalnih i toksičnih elemenata na organizme opisani su u nastavku.

Aluminij (Al) je treći najčešći i najrasprostranjeniji metal na zemlji nakon kisika i silicija. Sličan je mnogim drugim metalima po tome što se općenito smatra iznimno toksičnim u svom topljivom ionskom obliku (Rose i sur. 2015). Toksičnost aluminija za ribe uvelike ovisi o

fizikalno -kemijskim svojstvima vode, a osobito o njezinom pH. Aluminij je topljiv pri pH vrijednostima ispod 6,0 (Svobodová 1993). Kod riba je izloženost Al povezana s ometanjem ionske i osmotske ravnoteže te s respiratornim problemima koji su posljedica zgrušavanja sluznice na škragama kod riba, a utvrđeno je da uzrokuje jaku fuziju lamela i niti u škragama. Korištenje niskih koncentracija od 0,52 mg/l aluminija dovelo je do značajnog smanjenja rasta ribe (Bjerknes i sur. 2003). Fiziološke promjene koje se često opažaju kod različitih vrsta riba izloženih Al uglavnom se odnose na kardiovaskularne, hematološke, respiratorne, ionoregulacijske, reproduktivne, metaboličke i endokrine smetnje, izvan strukturalna oštećenja škrge (Peuranen i sur. 1993).

Arsen (As) dopire do vodenih ekosustava iz različitih izvora, uključujući proizvodna poduzeća, rudnike minerala i ruda te ispusne vode elektrana. As se može akumulirati u velikim količinama u sedimentima na koritu vodotoka i rezervoara te u vodenim organizmima (Svobodová 1993). U vodenim sustavima anorganski arsen se pojavljuje u dva oksidacijska stanja, kao As(III) i As (V). Spojevi As(III) (arseniti) prilično se brzo apsorbiraju u ribe i toksičniji su od arsenata (spojeva As(V)) (Liao i sur. 2004). Arsen se aktivno metabolizira u tkivu riba, posebno u organima kao što je jetra. Akutna izloženost može rezultirati trenutnom smrću zbog povećanja proizvodnje sluzi izazvanog As, uzrokujući gušenje ili izravne štetne učinke na škržni epitel. Kronična izloženost može rezultirati nakupljanjem metaloida do razine toksičnosti i odgovorna je za nekoliko bolesti. Kod izloženih riba uzrokuje degenerativne promjene u jetri kao što su submasivna heparička i fokalna nekroza te proliferacija žučnih kanala. Druge promjene uključuju stvaranje nekrotičnih tijela, vlaknastih tijela te citoplazmatske i intranuklearne inkluzije unutar parenhimskih hepatocita (Sorensen 1991). Uočeno je da, iako se arsen nakuplja prvenstveno u mrežnici, jetri i bubrezima riba, može utjecati na imunološki sustav ribe potiskivanjem antitijela. Također je zabilježeno da kratkotrajna izloženost riba maloj koncentraciji arsena može izazvati osjetljivost riba na infekcije (Liao i sur. 2004).

Kadmij (Cd) je prirodni neesencijalni element a zbog njegove sklonosti bioakumulaciji u živim organizmima često izaziva zabrinutost za okoliš (Sfakianakis i sur. 2015). Kao nerazgradivi toksikant smatra se da je Cd sposoban stoljećima utjecati na vodeni ekosustav (Sorensen 1991). Istraživanja su dokazala da se ovaj teški metal uglavnom (oko 75 %) nakuplja u bubrezima, jetri i škragama slatkovodne ribe, ali se također može taložiti u srcu i drugim tkivima te uzrokovati patološke promjene različite težine u gore navedenim organima. Dokumentirane su morfološke i histološke promjene u jetri riba izloženim kadmiju. Također je zabilježen štetan utjecaj dugog izlaganja kadmiju na sazrijevanje i razvoj ličinki riba (Giari i sur. 2007).

Krom (Cr) je esencijalni metal, neophodan za metabolizam ugljikohidrata. Osim iz prirodnih izvora, u vodeni ekosistem ulazi putem otpadnih voda ispuštenih iz tekstilnih industrija, završne obrade metala, rudarstva, tiskarske, keramičke, fotografske, farmaceutske industrije itd. Ribe asimiliraju Cr apsorpcijom kroz škrge te se nakuplja u tkivima, uglavnom u jetri, u većim koncentracijama od onih u okolišu (Pacheco i sur. 2013). Ima utjecaj na organe poput škrge, bubrega i jetre te može ozbiljno utjecati na metaboličke i fiziološke aktivnosti te na rast i ponašanje riba (Vinodhini i Narayanan 2008). Toksični učinci Cr na ribe uključuju: hematološke, histološke i morfološke promjene, inhibiciju/smanjenje rasta i oslabljenu imunološku funkciju (Reid 2011).

Bakar (Cu) je esencijalni element u tragovima i mikronutrijent za stanični metabolizam u živim organizmima jer je ključni sastojak metaboličkih enzima. Međutim, može biti izuzetno toksičan za unutarstanične mehanizme u vodenim životinja pri visokim koncentracijama koje prelaze normalne razine. Javlja se kao prirodni element sa širokom upotrebom (Sfakianakis i sur. 2015). Čak i pri niskim koncentracijama u okolišu, bakar pokazuje izrazit afinitet za nakupljanje u ribljim jetri (Jeziarska i Witeska 2006). Histološke promjene uzrokovane bakrom nalaze se u škragama, hematopoetskom tkivu bubrega, mehanoreceptorima, kemoreceptorima i drugim tkivima (Sorensen 1991). Kronični toksični učinci mogu izazvati slab rast, smanjeni imunološki odgovor, skraćeni životni vijek, reproduktivne probleme, nisku plodnost i promjene u izgledu i ponašanju (Yacoub i Gad 2012).

Željezo (Fe) je prevladavajuća komponenta industrijskih i rudarskih otpadnih voda koji se često ispuštaju u vodeno okruženje. Fe u oksidacijskom stanju  $Fe^{2+}$  smatra se toksičnijim za ribe od oblika  $Fe^{3+}$  (Decker i Menende 1974). Najveća biokoncentracija željeza u tkivima riba pronađena je u jetri i spolnim žlijezdama, a smanjena u mozgu, mišićima i srcu. Kao posljedica izloženosti povećanim koncentracijama željeza dolazi do poremećaja disanja zbog fizičkog začepjenja škrge. Budući da škržna površina ribe ima tendenciju biti alkalna, topivo željezo može se oksidirati u netopljive spojeve željeza koji zatim prekrivaju škržne lamele i inhibiraju disanje. Istaloženi spojevi željeza imaju ozbiljan učinak počevši od smanjenja škržnog prostora dostupnog za disanje, oštećenja respiratornog epitela, pa do gušenja ribe i smrti (Abbas i sur. 2002). Također, spojevi željeza mogu se taložiti na površini ribljih jaja uzrokujući smrt zbog nedostatka kisika (Svobodová 1993).

Olovo (Pb) je metal koji je okarakteriziran kao prioritetno opasna tvar (Sfakianakis i sur. 2015). Iako je Pb prirodni element, koncentracije u okolišu značajno su povećane zbog brojnih



antropogenih izvora koji uključuju rudarenje metala, proizvodnju baterija, boje na bazi Pb i olovni benzin. Koncentracija i bioraspoloživost Pb uglavnom ovise o apsorpciji u sedimentu i sadržaju prirodnih organskih tvari u vodi, kao i pH, alkalnosti i tvrdoći (Mager 2011). Akumulira se u jetri, bubrezima i slezeni, ali i probavnom traktu i škragama. Povećane koncentracija Pb dovode do vakuolizacije hepatocita, ciroze jetre, nekroze, degeneracije parenhima i nuklearne piknoze. Akutnu toksičnost olova u početku karakterizira oštećenje škržnog epitela i na kraju gušenje. Pb iscrpljuje glavne antioksidanse u stanici, osobito antioksidanse i enzime koji sadrže tiol, te može uzrokovati značajno povećanje proizvodnje reaktivnih vrsta kisika (ROS), nakon čega slijedi situacija poznata kao "oksidativni stres" što dovodi do različitih disfunkcija u lipidima, proteinima i DNA (Ercal i sur. 2001). Također je utvrđeno da olovo inhibira impulsnu vodljivost inhibirajući aktivnosti monoaminooksidaze i acetilkolin esteraze, izazivajući patološke promjene u tkivu i organima te narušavajući embrionalni i ličinki razvoj vrsta riba (Dave i Xiu 1991).

Voda koja nije onečišćena sadrži niske koncentracije ukupne žive (THg) koje ne prelaze 0,1 µg/l žive (Hg). Podaci istraživanja ukazuju na to da je organski oblik Hg, metilživa (MeHg) najviše toksičan od živinih spojeva, a procjenjuje se da je 70 – 100 % Hg u ribi prisutno kao MeHg (Nøstbakken i sur. 2015). Porast temperature vode pripisan klimatskim promjenama može potaknuti metilaciju Hg. Primarni način izlaganja ribe je unošenjem kontaminirane hrane (Drevnick i sur. 2006). Jetra ima središnju ulogu u vezivanju, skladištenju i redistribuciji Hg. Pri povišenim koncentracijama uočena su oštećenja u škržnim lukovima, jetri, bubrezima, parametrima krvi, mirisnom epitelu i živčanom sustavu. Neki izvještaji pokazuju da se spojevi žive mogu dugo zadržati u tkivima životinja, što rezultira nepovratnim oštećenjima, poput neuroloških oštećenja i lezija, promjena u ponašanju i spoznaji, ataksije, kao i konvulzija, uz štetan učinak na reprodukciju. U vrlo niskim koncentracijama živa smanjuje održivost spermatozoida, smanjuje proizvodnju jajašaca i utječe na preživljavanje u fazi razvoja (Raldúa i sur. 2007).

Nikal (Ni) je sveprisutan metal u tragovima i nalazi se u tlu, vodi, zraku i u biosferi. Ni se oslobađa tijekom vađenja i u industrijama koje koriste Ni i njegove spojeve radi ispuštanja Ni u otpadne vode. Nikal oslobađaju i elektrane na naftu, termoelektrane na ugljen i spalionice smeća (Al-Attar 2007). Nakon što se otpusti u okoliš, Ni lako stvara komplekse s ligandima, čineći ga pokretnijim od većine metala. Iako je bitan element u niskim koncentracijama za mnoge organizme, otrovan je u većim koncentracijama (Magyarosy i sur. 2002). Izloženost može dovesti do različitih štetnih učinaka na zdravlje, poput alergije na Ni, kontaktnog

dermatitisa i toksičnosti za organski sustav. Kao i kod toksičnosti drugih metala, na toksičnost spojeva Ni za vodene organizme značajno utječu fizikalno kemijska svojstva vode (Svobodová 1993). Istraživanje (Al-Attar 2007) je dokazalo neke histološke promjene u strukturi ribljih škrga koje su uključivale hiperplaziju, hipertrofiju, skraćivanje sekundarnih lamela i fuziju susjednih lamela.

Emisija vanadija (V) u okoliš uglavnom je povezana s industrijskim izvorima, osobito rafinerijama nafte i elektranama koje koriste loživo ulje i ugljen bogat vanadijem (Minelli i sur. 2000). Takvi izvori mogu osloboditi značajne količine V u kombinaciji s trošenjem stijena i ispiranjem sedimenta (Sepe i sur. 2003). V je neophodan za normalan rast, gdje je ustanovljeno da regulira aktivnost različitih enzima koji izazivaju izražene promjene u metaboličkim funkcijama. Pri većim koncentracijama ( $> 1-10$  nM) vanadij postaje toksičan za stanice jetre i bubrega, izazivajući oksidativna oštećenja, peroksidaciju lipida i promjene u hematološkom, reproduktivnom i dišnom sustavu (Zaporowska i Wasilewsk 1992).

Selenij (Se) je esencijalni element potreban u prehrani za normalan rast i fiziološke funkcije životinja, uključujući i ribe. Ovaj je element potreban za normalan razvoj, rast i održavanje homeostatskih funkcija pri koncentracijama u tragovima. Dio je antioksidacijskog obrambenog sustava i uključen je u metabolizam hormona štitnjače, u spermatogenezu, funkcioniranje imunološkog sustava i prevencije raka, djelujući izravno kao potpora zdravlju organizma (Chien i sur. 2003). Široko je rasprostranjen u okolišu i nalazi se u većini podzemnih i površinskih voda u koncentracijama između 0,1 i 0,4  $\mu\text{g/L}$  Se. Poljoprivredne odvodne vode, mulj iz kanalizacije, pepeo iz termoelektrana na ugljen, rafinerije nafte i vađenje fosfata i metalnih ruda izvori su onečišćenja selena u vodenom okolišu (Lemly 2002). Potencijalno je kancerogen i teratogen te postaje vrlo otrovan za ribe kada je povišen iznad granične koncentracije (Deng i sur. 2007). Razlika između prehranbenih potreba i razine toksičnosti vrlo je mala za Se. Za većinu riba, raspon zahtjeva iznosi 0,25–0,70  $\mu\text{g Se/g}$  prehrane, a razine toksičnosti s produljenom izloženošću mogu biti čak 3  $\mu\text{g Se/g}$  prehrane (NRC 2005). Američka agencija za zaštitu okoliša (USEPA) predložila je da koncentracija Se u ribi bude 7,91  $\mu\text{g/g}$  suhe težine (USEPA 2004). Višak Se, čak i do 3–8  $\mu\text{g/L}$ , u vodi može uzrokovati brojne promjene opasne po život kod slatkovodnih riba (Sorensen 1991). Međutim, još uvijek postoje kontroverze u vezi s predloženim pragom selena za zaštitu riblje populacije (Muscatello i sur. 2008). Najznačajniji učinak viška Se u ribi je inhibicija rasta, oštećenje tkiva, oštećenje većine biomolekula (lipida, proteina i DNA), reproduktivno oštećenje, deformiteti ličinki i

smrtnost. Ostali dokumentirani učinci na ribe uključuju lezije kože, kataraktu, natečene lamele škržnih niti, miokarditis te nekroza jetre i bubrega (Miller i sur. 2007).

## 1.5 Bioindikatori

U prirodnim uvjetima metali su otporni na razgradnju i mogu se akumulirati u mikroorganizmima, vodenoj flori i fauni te kroz prehrambene lance u kopnenim organizmima (uključujući i ljude) (Che i sur. 2006; Jarup 2003; Milošković i sur. 2013). Stanje vodenih ekosustava u pogledu opterećenosti teškim metalima procjenjuje se pretežno na temelju kemijskih ispitivanja komponenti kao što su voda i sediment no sve se više koriste bioindikatori za procjenu stanja okoliša (Milošković i sur. 2013; Giulivio i sur. 2017).

Bioindikator je organizam (ili dio organizma ili zajednica organizama) koji sadrži informacije o kvaliteti okoliša. Smisao bioindikatora je opisivanje stanja okoliša, otkrivanje i procjena utjecaja na ljude i procjena mjera sanacije (Chovanec i sur. 2003). Učinkovitost bioindikacije ovisi o poznavanju ekoloških zahtjeva i fiziologije bioindikatora (Schiemer i sur. 2001). Riba se smatraju najznačajnijim biomonitorima u vodenim sustavima za procjenu razine onečišćenja metalima (Rashed 2001) jer nude nekoliko specifičnih prednosti u opisivanju prirodnih karakteristika vodenih sustava i u procjeni promjena staništa (Lamas i sur. 2007). To su mogućnost prikupljanja velikog broja uzoraka, jednostavnost uzorkovanja, dugi životni vijek radi koje su povećani određeni indikacijski učinci te odgovarajuća veličina (i veličina njihovih organa) na kojima se mogu provesti razni analitički postupci, uključujući patološke, hematološke i histopatološke analize. Sadržaj metala u ribama ovisi o ekologiji vrste, metabolizmu i karakteristikama okoliša kao što su razina onečišćenja vode, dostupna hrana i kvaliteta sedimenta (Anim-Gyampo i sur. 2013; Djikanović i sur. 2018). Kod riba su dva različita puta unosa; prvi i glavni put unosa je izravno iz vode putem škrge i kože, a drugi je unosom kontaminirane hrane (Chovanec i sur. 2003). Uneseni elementi akumuliraju se u organima i tkivima riba (Kock i sur. 1996), a ta akumulacija ovisi o načinu unosa, skladištenju i uklanjanju iz tijela. Jetra, bubrezi i škrge glavna su mjesta nakupljanja većine (polu)metala nakon čega se transportiraju krvotokom gdje se akumuliraju u kostima i mišićima. Povećane koncentracije (polu)metala u tkivima odražavaju dugotrajniju izloženost istima.

Bioraspoloživost i toksičnost anorganskih elemenata u vodenom okolišu kontrolirana je raznim parametrima vode poput tvrdoće, pH, temperature, koncentracije kisika, alkaliteta i otopljenog organskog ugljika (Benaduce i sur. 2008). Kontaminacija metala i metaloida u vodi i sedimentu, kada se javlja u većim koncentracijama, ozbiljna je prijetnja zbog njihove

toksičnosti, dugog postojanja te bioakumulacije i biomagnifikacije u prehrambenom lancu (Has-Schön i sur. 2006)

## 2. Cilj istraživanja

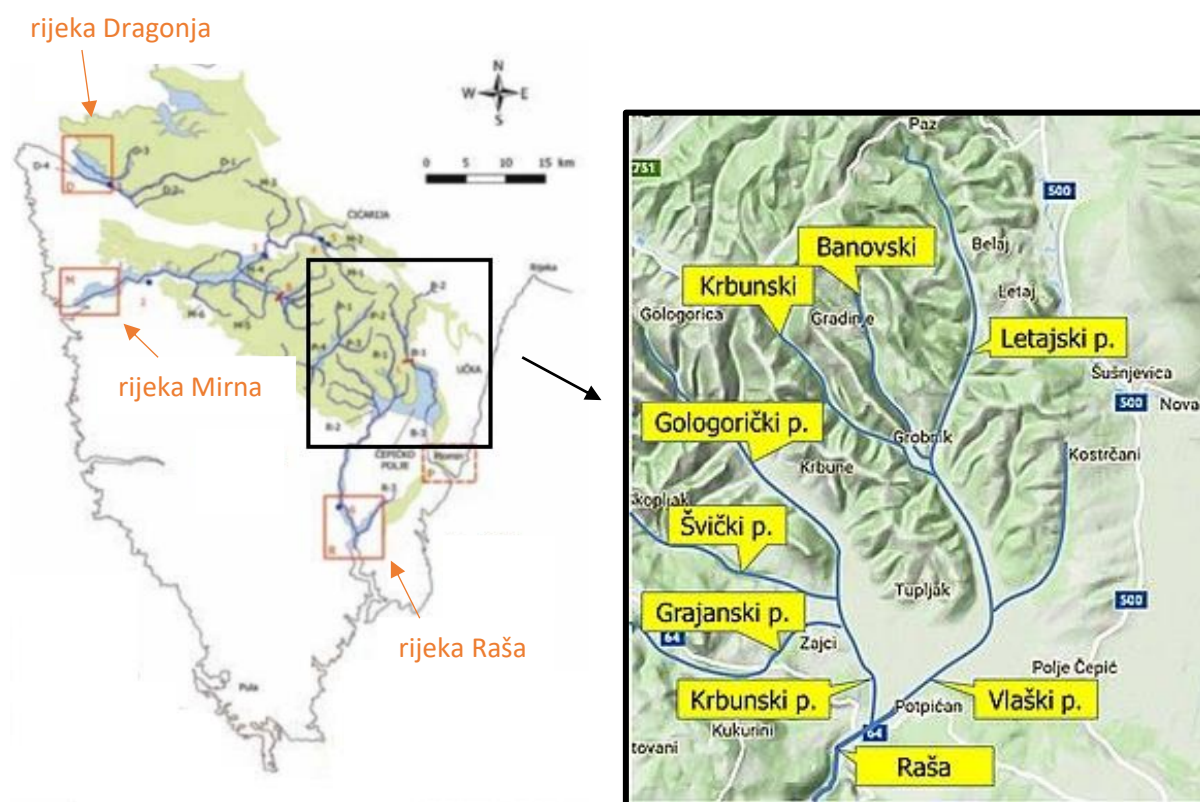
Osnovni cilj ovoga istraživanja bio je istražiti sadržaj elemenata (As, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Pb, Se, Sr, Tl, U, V, Zn) u mišićnom tkivu bijelog klena (*Squalius squalus* Bonaparte, 1837) i u riječnim sedimentima rijeke Raše potencijalno onečišćene raškim ugljenom.

Mjerenjem masenih udjela elemenata u mišićnom tkivu bijelog klena s različitih lokacija istražile bi se razlike u izloženosti između riba koje obitavaju u gornjem i donjem toku rijeke Raše. Mjerenjem koncentracija elemenata u sedimentu istražilo bi se dugotrajno onečišćenje te bi se pomoću vertikalnih profila uzoraka odredilo da li su elementi biogenog ili antropogenog porijekla. Temeljem dobivenih rezultata istražila bi se izloženost bijelog klena u rijeci Raši esencijalnim i toksičnim elementima i odredio potencijalni antropogeni utjecaj na vodene organizme te bi se procijenila mogućnost korištenja mišićnog tkiva bijelog klena kao biološkog indikatora zagađenja vodenih okoliša esencijalnim i neesencijalnim elementima. Konačno, osnovna namjena ovog rada jest da se na temelju stečenih spoznaja procijeni u kojoj je mjeri ekosistem opterećen s pojedinim toksičnim i esencijalnim elementima i kakva opasnost prijeti čovjeku ako konzumira vodene organizme iz takvog okoliša.

### 3. Materijali i metode

#### 3.1 Područje istraživanja

Raša je rijeka u Istri duga 23 km te obuhvaća površinu od 279 km<sup>2</sup> a njezino porječje je vrlo složeno. Najsjevernija pritoka je Letajski potok, koji ima izvorište na visini oko 300 m/nv i koji nizvodno prima čitav niz povremenih bujičnih tokova. Slijede Banovski i Krbunski potoci koji zajedno s Letajskim tvore Vlaški potok a spajaju se na visini od 50m n/v. Desni pritoci su Gologorički, Švički i Grajanski potoci koji zajedno daju južni Krbunski potok. Na desnim pritokama nalazimo tri zanimljiva slapa: Benkovski slap, kod mjesta Most Pićan na Grajanskom potoku (16m); Slap Sopot, kod sela Floričići na Švičkom potoku (8m); Gologorički slap (3m) i jezero god zaseoka Lukačići. Rijeka Raša nastaje spajanjem potoka Krbuna i Vlaškog potoka kod mjesta Potpićan (Slika 3). Ima nadzeman tok zbog debelih kvartarnih naslaga koje prekrivaju krš.



Slika 3. Pregledna geološka i hidrografska karta Istre (Benac i sur. 2017) (lijevo) gdje je u crnom kvadratu istaknuto porječje rijeke Raše (www.istrapedia.hr) (desno)

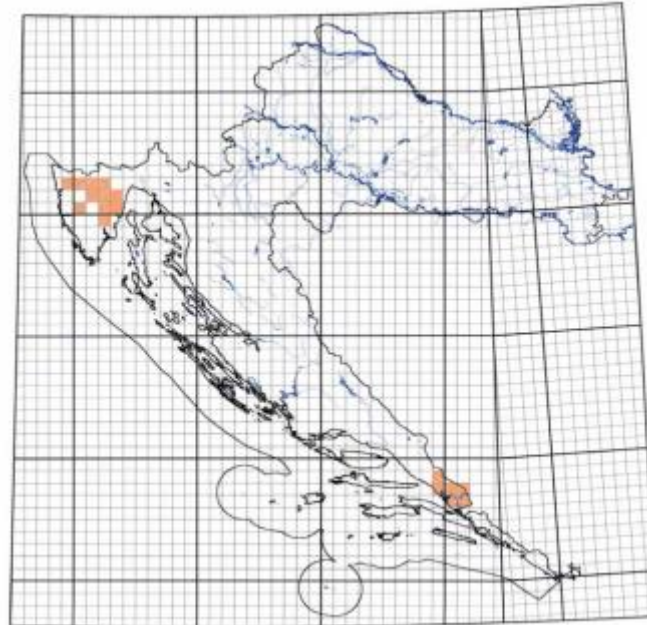
Rijeka Raša ulijeva se u more u Raškom zaljevu, koji je potopljen ranim postglacijalnim izdizanjem morske razine. Zaljev je dug 12 km, širok i do 1 km, a plimni val utječe na pojavu bočate vode u donjem dijelu toka Raše. Dubina Raškog zaljeva varira od 44 metra na ulazu u zaljev do 10 metara kraj luke Bršica; dalje prema ušću nastavljaju se plitka područja s dubinama manjim od 3 metra. Raša svojim nanosima polako zatrpava zaljev, što je pogotovo primjetno duž zapadne obale. Strane Raškog zaljeva su strme i nepristupačne, građene uglavnom od vapnenca, a obrasle su oskudnom sredozemnom vegetacijom ([www.istra.lzmk.hr](http://www.istra.lzmk.hr)).

Područje Labinštine nalazi se na krškom terenu koji je zbog svoje složene hidrodinamike, niskog filtracijskog kapaciteta i brzog prijenosa onečišćenja podzemnim vodama vrlo osjetljiv na zagađenje. Uslijed ispiranja cjelokupnog terena kišama, u donjem toku rijeke Raše i Raškom zaljevu je istaložena velika količina ugljena i drugog terigenog materijala. Dodatni problem stvara činjenica da je taj zaljev, kao i područje uzvodno od njega, dom mnogim životinjskim i biljnim vrstama te ribolovno vrlo aktivno područje zbog velike bioraznolikosti (Medunić i sur. 2018a).

### 3.2 Bijeli klen (*Squalius squalus*)

Vrsta koja je velikim djelom zastupljena na području Istre je bijeli klen *Squalius squalus*. Bijeli klen je slatkovodna riba roda *Squalius* iz porodice Cyprinidae (Lorenzoni 2011). Naziv roda *Squalius* dolazi od latinske riječi *squaleo*, *squalidus* - s grubom kožom. Vrste roda *Squalius* donedavno su bile ubrajane u rod *Leuciscus*, no novijim analizama utvrđeno je da je riječ o morfološki i genetski odvojenoj skupini riba. Taksonomski i sistematski položaj ove skupine još se razmatra (Čaleta i sur. 2015). Jedna je od najčešćih riba u Italiji te se nalazi u cijeloj zemlji, osim na otocima, s toliko brojnim populacijama da je u pogledu biomase dominantna vrsta u mnogim ekosustavima (Zerunian 2004). Osim u Italiji možemo ju pronaći i na području Slovenije, Bosne i Hercegovine, Švicarske i Hrvatske (Pompei 2011). U Hrvatskoj je bijeli klen endem jadranskog slijeva i prema IUCN-u ubraja se u kategoriju osjetljivih vrsta. Nestajanje staništa i onečišćenje vodotoka osnovni su razlozi ugroženosti bijelog klena. Ugrožava ga i pregrađivanje jadranskih rijeka koje usporava njihov tijek, dovodi do oscilacija razine vode i nestajanja povoljnih mrijestilišta. Nastanjuje krške tekućice s brzim protokom vode i jezera s vrlo čistom vodom temperature od 5 do 25°C, no zalaze i u mirnije i ujezerene dijelove rijeka. U Hrvatskoj se zadržava u manjim jatima u donjim dijelovima rijeka

jadranskog slijeva (Ćaleta i sur. 2015). Zabilježen je u Istri, u rijekama Mirni i Pazinčici, te u Dalmaciji, u rijekama Neretvi i Matici, te u Baćinskim jezerima (Slika 4).



Slika 4. Rasprostranjenost bijelog klena na području Hrvatske (Mrakovčić i sur. 2006)

Juvenilni jedinke se nalaze u grupama u plitkim djelovima potoka, rijeka i jezera. Hrane se vodenim beskralježnjacima (rakovi, mekušci, maločetinaši, ličinke kukaca i sl.) i manjom količinom biljnog materijala. Odrasle jedinke su solitarne te se uglavnom hrane manjom ribom (Mrakovčić i sur. 2006). Spolna zrelost postiže se u trećoj godini života, a mrijest se odvija između travnja i lipnja. Mužjaci se okupljaju na mrijestilištima, poput šljunkovitih područja na rubovima jezera. Ženke rade udubljenja u sedimentu u koje odlažu mukozna jajašca koja muškarci potom oplođuju. Mogu narasti do maksimalne duljine od 60 cm i dostići težinu od 3 kg, a poznato je da žive oko 15 godina. Morfološke karakteristike bijelog klena su duguljasta glava s velikim očima narančastog obojenja, šiljasta njuška s dugom blago zakrivljenom, koso nagnutom usnom pukotinom, izbočena gornja čeljust i donja čeljust koja je kraća ili jednake duljine. Leđa su sivoplavo do sivosmeđeg obojenja, a bokovi žutkasti. Trbuh je bjelkast. Peraje su sivkaste, iako su u vrijeme mrijesta lagano crvenkasto ili narančasto obojene. Tijelo je vretenasta oblika i lagano bočno spljošteno, s cjelovitom bočnom prugom te prekriveno izraženim velikim ljuskama. Na bokovima nema izražene tamne pruge što ih razlikuje od vrsta roda *Telestes* (Ćaleta i sur. 2015) (Slika 5).

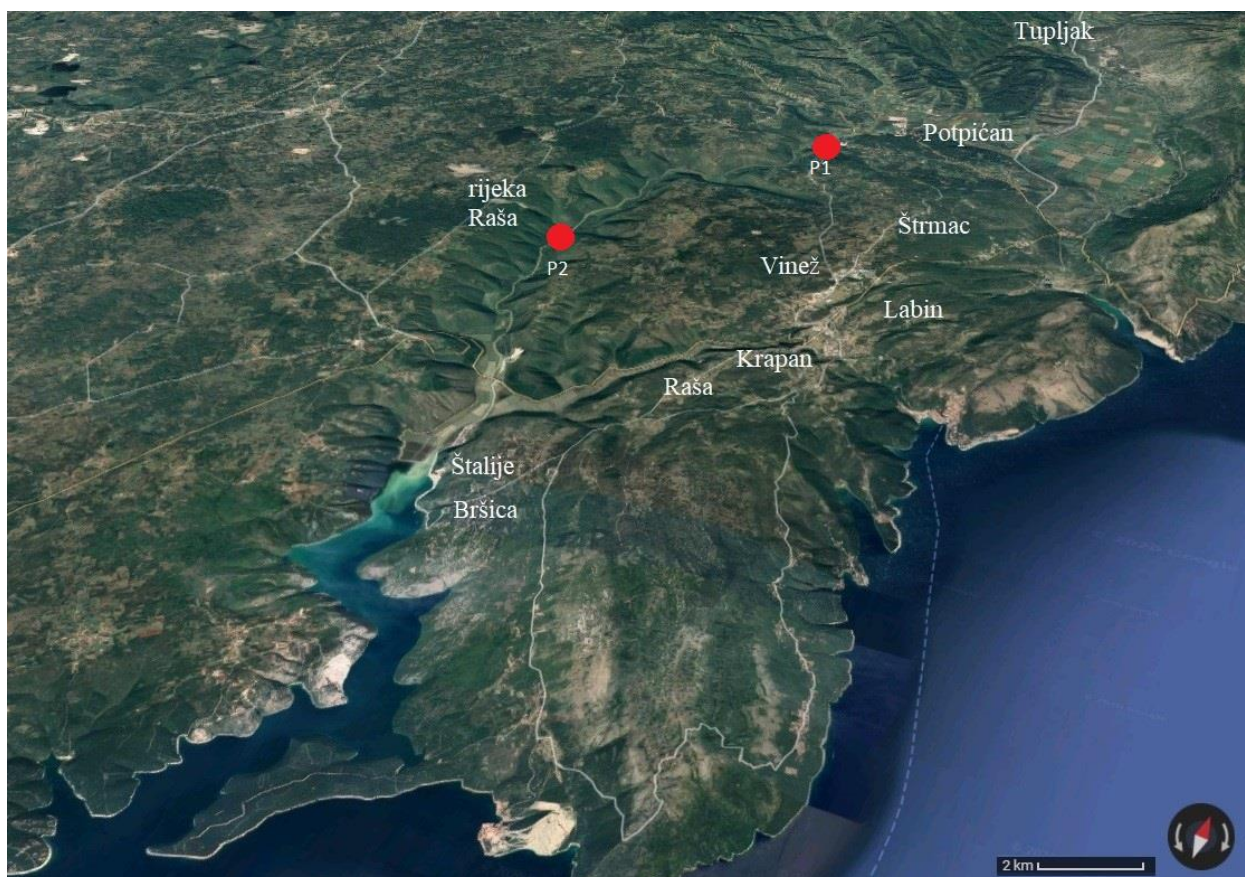




Slika 5. Bijeli klen (*Squalius squalus*) (Mrakovčić i sur. 2006)

### 3.3 Uzorkovanje

Uzorci sedimenta i bijelog klena prikupljeni su na dvije lokacije u rijeci Raši prikazani na Slici 6. Postaja P1 smještena je uzvodno od područja bogatog s naslagama ugljena te iako se nalazi nizvodno od rudnika Tupljak njegova udaljenost od postaje je velika. Postaja P2 nalazi se na slivnom području gdje je s istočne strane područje bogato naslagama ugljena.



Slika 6. Prikaz mjesta uzorkovanja jedinki bijelog klena i sedimenta označene su crvenom točkom: P1- postaja smještena uzvodno od rudnika u blizini naselja Potpićan; P2 - postaja smještena 6 kilometara uzvodno od ušća Raše, područje istočno od postaje je bogato naslagama ugljena (Karta: Google karte)

Uzorci bijelog klena (Slika 7) uzorkovani su u lipnju i srpnju 2020. godine standardnim ihtiološkim metodama uz korištenje elektro ribolovnog agregata marke Briggs & Stratton 9,5 kW. Svi uzorci su označeni i do analize čuvani u čistim polietilenskim vrećicama pri temperaturi od - 18°C. Vrste riba određene su prema ključu Kottelat i Freyhof (2007). Nakon

što su u laboratoriju odmrznutim jedinkama riba određene dužina (standardna dužina (SL) - mjereno od najizbočenijeg dijela glave do granice mesa ili zadnjih ljustica bočne pruge i repne peraje) i težina (tehnička vaga MS303 (Mettler Toledo, Švicarska); preciznosti  $\pm 0,001$  g), tretirane su sa deioniziranom Milli-Q vodom (ultra čista voda specifične vodljivosti  $0,059 \mu\text{S}/\text{cm}$  (GenPure TKA System GmbH; Njemačka) te su disekcijom uzeti uzorci mišićnog tkiva. Uzorci mišićnog tkiva stavljeni su u plastične posude i liofilizirani 96 h u liofilizatoru modela CD 13-2&cd3056 HETOSIC (HETO Ltd., Danska). Nakon liofilizacije, uzorci mišićnog tkiva su ponovno izvagani da bi se mogao odrediti postotak vode u tkivu, nakon čega su homogenizirani u sitan prah pomoću homogenizatora (Mixer Mill MM 400; Retsch, Njemačka). Liofilizirani i homogenizirani uzorci su pohranjeni u čistim plastičnim posudicama na sobnoj temperaturi.

Na istim lokacijama ronilac je uzorkovao po jednu jezgru riječnog sedimenta korištenjem čistih plastičnih uzorkivača, i to jednokratno, u lipnju 2020. godine. Na postaji P1 jezgra sedimenta duljine 19,5 cm izrezana je redom od površinskog sloja na kriške debljine 2 cm (0-2 cm dubine), 1 cm (2-5 cm dubine), 2,5 cm (5-15 cm dubine) i 4,5 cm (15-19,5 cm dubine). Na postaji P2 jezgra sedimenta duljine 14 cm je redom od površinskog sloja izrezana na kriške debljine 2 cm (0-8 cm dubine) te 3 cm (8-14 cm dubine). Uzorci su zatim pohranjeni u plastične posude na  $-18^{\circ}\text{C}$ .

### 3.4 Određivanje masenih udjela elemenata metodom masene spektrometrije uz induktivno spregnutu plazmu (ICP-MS)

U uzorcima mišićnog tkiva i sedimenta analizirao se ukupno 21 element (As, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Pb, Se, Sr, Tl, U, V, Zn). Za mineralizaciju uzoraka mišićnog tkiva za analizu elemenata metodom masene spektrometrije uz induktivno spregnutu plazmu (ICP-MS) korišten je mokri postupak razgradnje. U teflonske epruvete odvagano je 0,250 – 0,300 g homogeniziranog uzorka. U svaku epruvetu je dodano 3 ml 65 %-tne dušične kiseline te 2 ml deionizirane Milli-Q vode. Uzorci su zatim razarani u visokotlačnom mikrovalnom uređaju ULTRAClave IV (Milestone S.r.l., Italija) prema implementiranom programu za tkiva (maksimalna temperatura  $250^{\circ}\text{C}$ , maksimalni tlak od 160 bara, maksimalna snaga od 1000 W). Nakon toga je sadržaj toksičnih i esencijalnih elemenata u uzorcima određen metodom masene spektrometrije uz induktivno spregnutu plazmu (ICP-MS) pomoću uređaja

Agilent 7500cx (Agilent Technologies, Waldbronn, Njemačka). Četiri standardna referentna materijala (DORM-2, IAEA-350, IAEA-407, IAEA-436) razgrađena su i analizirana istim postupkom kao i uzorci radi kontrole kvalitete postupka pripreme i analize. Certificirane vrijednosti referentnih materijala nalaze se u Prilogu 1.

Uzorci riječnog sedimenta za analizu elemenata metodom ICP-MS također su razgrađeni mokrim postupkom razgradnje. U teflonske epruvete odvagano je 250 mg uzorka te je dodano 3 ml 65%-tne dušične kiseline i 2 ml 48%-tne fluorovodične kiseline. Uzorci su zatim razarani u visokotlačnom mikrovalnom uređaju ULTRAClave IV (Milestone S.r.l., Italija) prema implementiranom programu za sediment (maksimalna temperatura 240°C, maksimalni tlak od 160 bara, maksimalna snaga od 1000 W). Nakon toga je sadržaj toksičnih i esencijalnih elemenata u uzorcima određen metodom masene spektrometrije uz induktivno spregnutu plazmu (ICP-MS) pomoću uređaja Agilent 7500cx (Agilent Technologies, Waldbronn, Njemačka). Četiri standardna referentna materijala (NIST-2709, NRCC MESS-3, IAEA SL-2, IAEA-405) razgrađena su i analizirana istim postupkom kao i uzorci radi kontrole kvalitete postupka pripreme i analize. Certificirane vrijednosti referentnih materijala nalaze se u Prilogu 2.



Slika 7. Ulovljene jedinke bijelog klena (*Squalius squalus*)

### 3.5 Obrada podataka

Budući da varijable nisu normalno raspodijeljene (testirano Kolmogorov-Smirnov testom), primijenjeni su neparametarski statistički testovi. Mann-Whitey U test korišten je za ispitivanje razlika između koncentracija elemenata u tkivima između dvije postaje. Ovisnost sadržaja elemenata u mišićnom tkivu riba o veličini ribe (ukupne duljine i težine) ispitana je Spearmanovim koeficijentom korelacije. Za ispitivanje razlike u koncentraciji elemenata sedimenta između dvije postaje primjenjen je Mann-Whitey U test. Statističke analize provedene su pomoću TIBCO® Statistica™ softvera. Vrijednost  $p < 0,05$  procijenjena je kao statistički značajna.

## 4. Rezultati

### 4.1 Bijeli klen (*Squalius squalus*)

Biološki parametri (dužina i težina) uzoraka klena prikazani su u Tablici 1. Na postaji P1 uzorkovano je 5 jedinki bijelog klena, čije dužine su varirale od 8,40 do 24,90 cm (prosjeak: 13,96 cm), a težine su varirale u rasponu od 8,09 do 203,49 g s prosječnom težinom od 58,58 g. Na postaji P2 ulovljena su 3 veća primjerka bijelog klena. Dužina im je varirala od 22,20 cm do 27,90 cm s prosjekom od 25,27 cm, a težina im se kretala u rasponu od 155,55 g do 317,04 g s prosjekom od 229,80 g. Razlog zbog kojeg je više jedinki ulovljeno na postaji P1 je taj što bijelom klenu više odgovara područje koje je uzvodno od ušća i gdje ne dolazi do mješanja s morskom vodom. Također, izlasci na teren po dodatne uzorke bili su onemogućeni zbog SARS-CoV-2 epidemije.

Tablica 1. Tablični prikaz dužine (SL) i težine ulovljenih uzoraka bijelog klena.

Postaja	Oznaka uzorka	Dužina (cm)	Težina (g)
P1	6A-1	8,40	8,09
	6A-2	9,95	12,89
	6A-3	15,85	55,23
	6A-4	10,70	13,24
	6A-5	24,90	203,49
P2	6B-1	22,20	155,55
	6B-2	25,70	216,82
	6B-3	27,90	137,04

Medijan te raspon koncentracija 14 esencijalnih (Ca, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Se, Sr, Zn) i 7 toksičnih (As, Cd, Hg, Pb, Tl, U, V) elementa u mišićnom tkivu klena iz rijeke Raše prikazani su u Tablici 2. Na postaji P1 najveći raspon vrijednosti koncentracija imaju Ca

(369,22 – 3854,51 mg/kg) i Hg (42,49 – 193,52 µg/kg), dok na postaji P2 nisu zabilježene velike oscilacije u vrijednostima koncentracija (Tablica 2).

Rezultati statističke analize su pokazali da su prosječne vrijednosti koncentracija Ca (Mann-Whitney U-test = 0;  $p < 0,05$ ) u mišićnom tkivu bijelog klena statistički značajne na postaji P1 u odnosu na postaju P2. Ostali elementi nisu pokazali statistički značajnu razliku između postaja (Prilog 3).

Korelacijski odnosi između težine i dužine uzorkovanih jedinki i koncentracije elemenata prikazani su na Slikama 8-13. Statistička analiza pokazala je da su odnosi između težine i ukupne duljine jedinki i sadržaja K, Ca, Fe, Mn, Sr, Co, Ni i Pb statistički značajni ( $p < 0,05$ ). Pozitivna korelacija primjećena je kod K (Spearmanov koeficijent korelacije  $r = 0,8$ ) i Fe ( $r = 0,8$ ) dok je negativna korelacija primjećena kod Ca ( $r = -0,8$ ), Mn ( $r = -0,8$ ), Sr ( $r = -0,7$ ), Co ( $r = -0,7$ ), Ni ( $r = -0,9$ ) i Pb ( $r = -0,7$ ). Kod Na ( $r = 0$ ), Zn ( $r = -0,4$ ), V ( $r = -0,5$ ), Mo ( $r = -0,5$ ), Cd ( $r = -0,5$ ), Hg ( $r = -0,1$ ), Tl ( $r = -0,2$ ) i U ( $r = -0,6$ ) postoji slaba negativna korelacija koja nije statistički značajna dok Mg ( $r = 0$ ), Cr ( $r = 0,3$ ), Cu ( $r = 0,2$ ), As ( $r = 0$ ) i Se ( $r = 0,2$ ) imaju blagu pozitivnu korelaciju koja također nije statistički značajna ( $p > 0,5$ ) (Prilog 4 i 5).

Tablica 2. Prosječne koncentracije [medijan (raspon)] anorganskih elemenata u mišiću bijelog klena iz rijeke Raše (elementi označeni zvjezdicom (\*) izraženi su u jedinici  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , dok su ostali elementi izraženi u jedinici  $\text{mg}/\text{kg}$  mokre mase). Različita nadnapisana slova (ab) unutar retka ukazuju na značajne razlike u razinama elemenata između mjesta uzorkovanja.

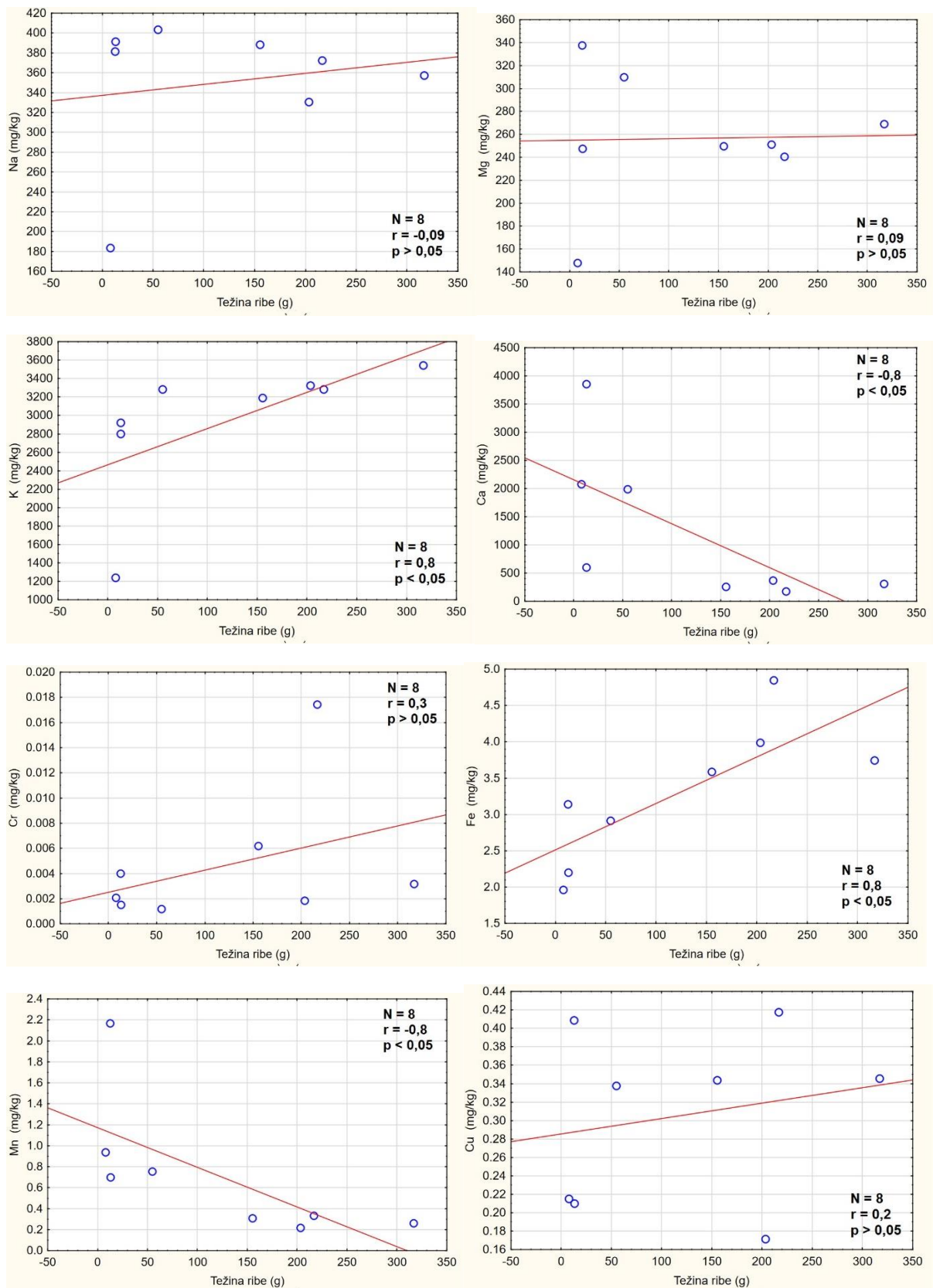
Element	P1	P2
As	0,034 (0,020-0,057)	0,036 (0,031-0,046)
Ca	1777 <sup>a</sup> (369-3855)	244 <sup>b</sup> (171-310)
Cd*	0,83 (0,37-1,32)	0,95 (0,61-1,33)
Co*	174 (2,84-713)	31,9 (26,8-36,3)
Cr	0,002 (0,001-0,004)	0,009 (0,003-0,017)
Cu	0,27 (0,17-0,41)	0,37 (0,34-0,42)
Fe	2,84 (1,96-3,98)	4,06 (3,59-4,84)
Hg*	100 (42,5-194)	69,2 (59,9-74,1)
K	2712 (1236-3324)	3335 (3186-3539)
Mg	259 (148-337)	253 (240-269)
Mn	0,95 (0,21-2,17)	0,30 (0,26-0,33)
Mo*	4,96 (2,91-7,45)	4,51 (3,97-5,47)
Na	338 (183-403)	372 (357-388)
Ni*	11,3 (1,94-23,6)	6,42 (3,84-8,81)
Pb*	2,38 (0,87-3,59)	0,83 (0,63-1,16)



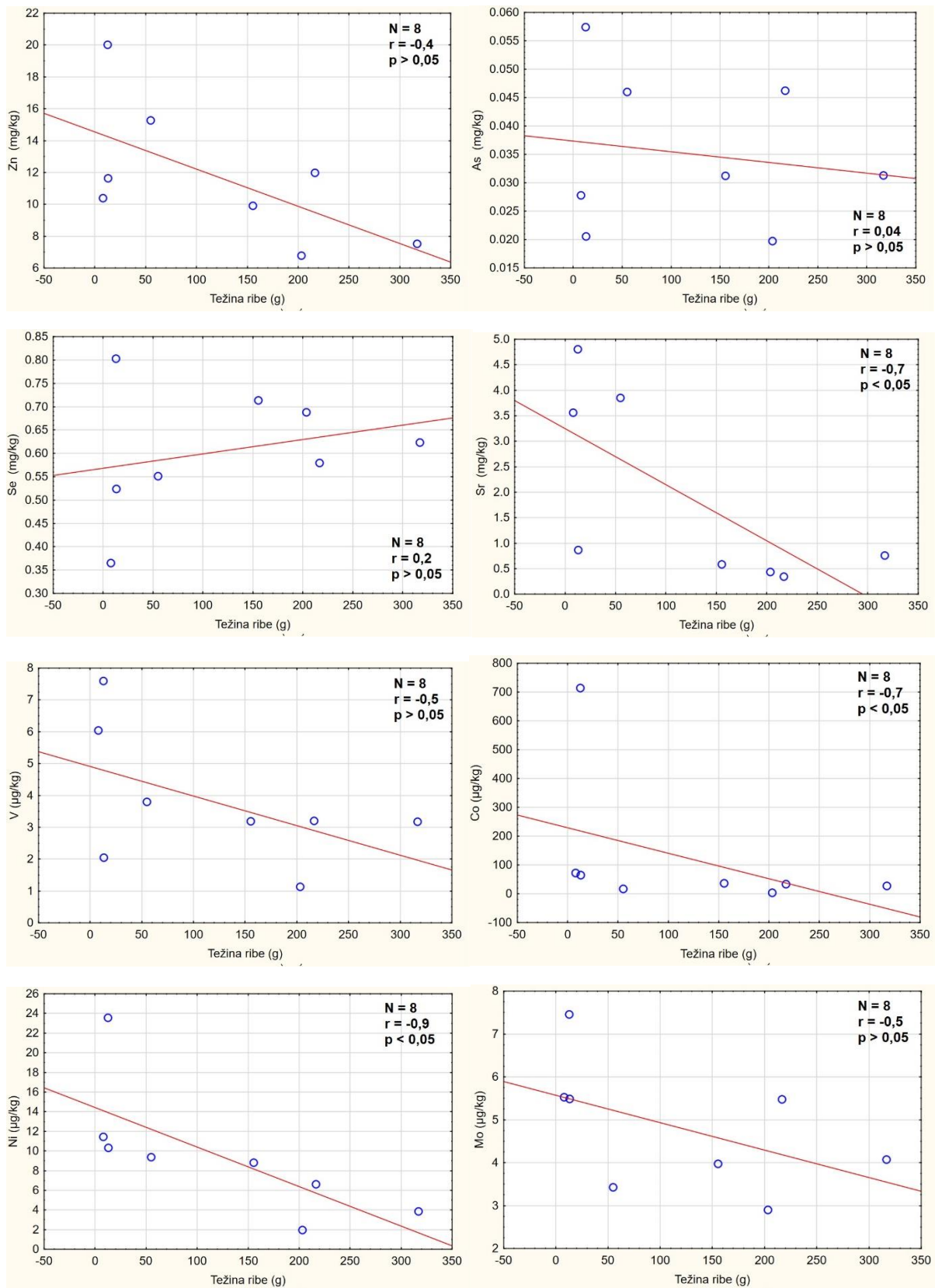
Nastavak Tablica 2

Se	0,57 (0,37-0,81)	0,64 (0,58-0,71)
Sr	2,71 (0,43-4,81)	0,56 (0,34-0,76)
Tl*	0,79 (0,38-1,41)	0,96 (0,58-1,47)
U*	0,13 (0,026-0,26)	0,056 (0,034-0,098)
V*	4,11 (1,13-7,59)	3,19 (3,18-3,21)
Zn	12,8 (6,78-20,1)	9,80 (7,51-11,9)

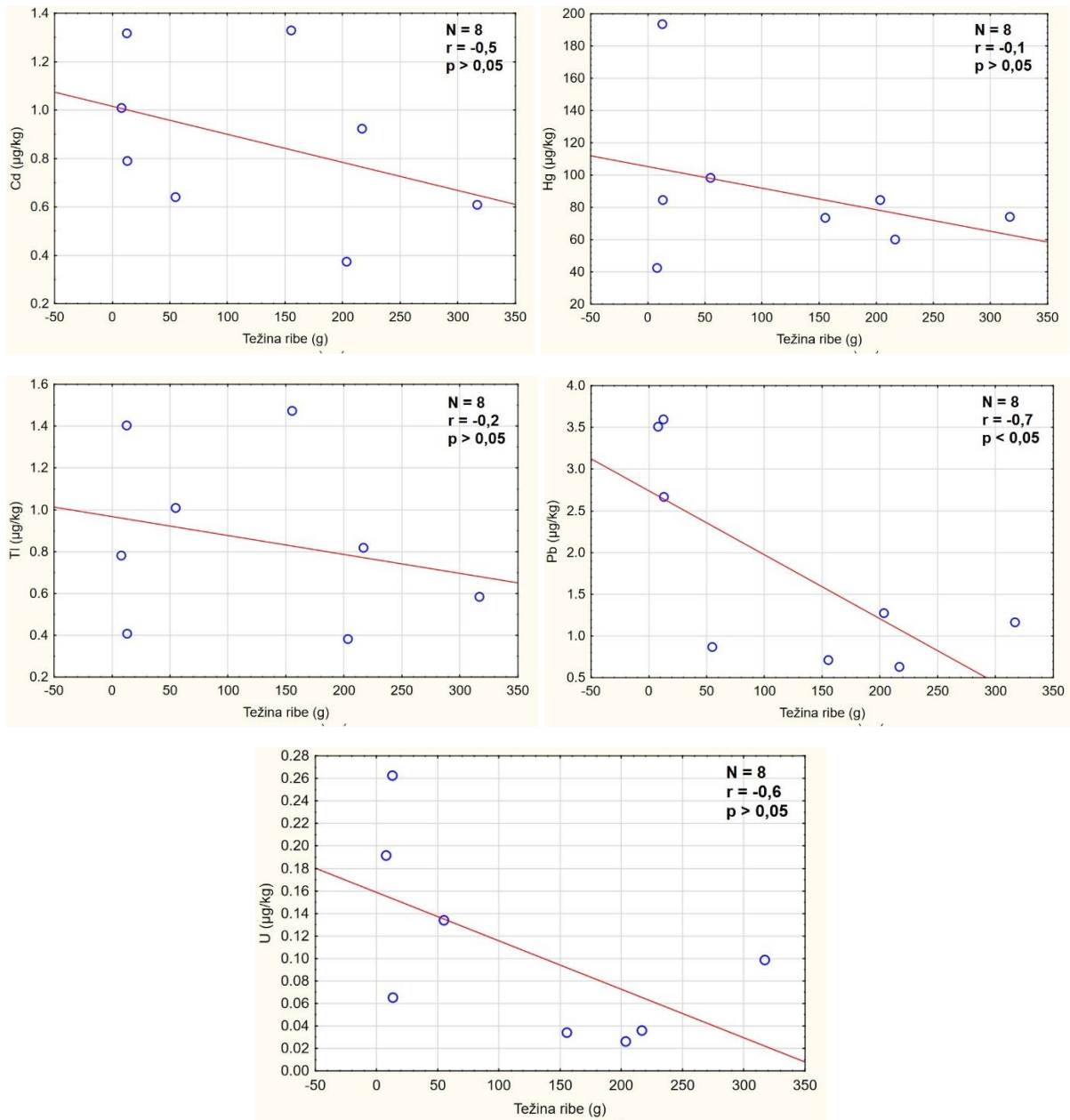
---



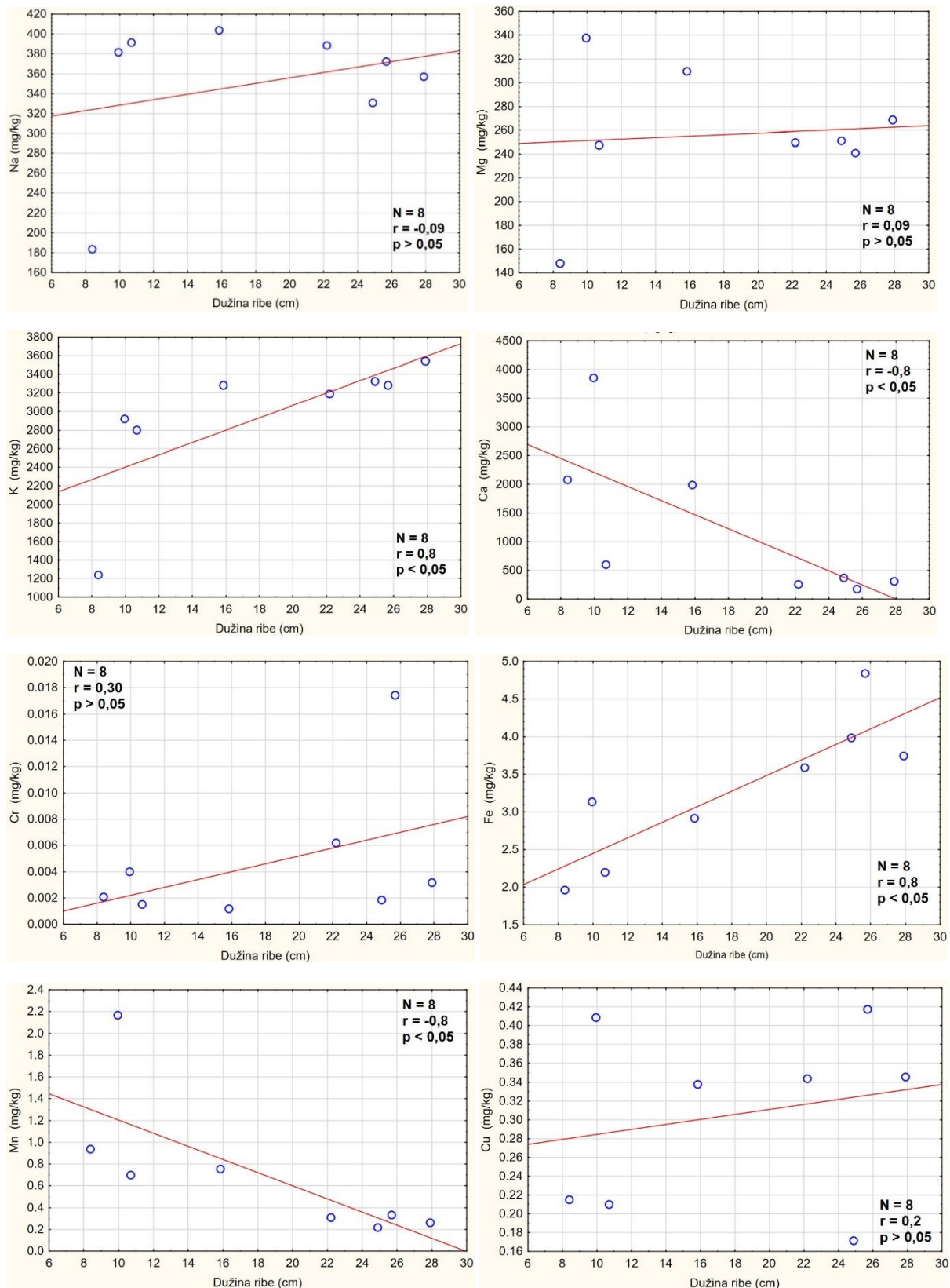
Slika 8. Korelacije između Na, Mg, K, Ca, Cr, Fe, Mn i Cu (mg/kg m.m.) u mišićnom tkivu bijelog klena i težine jedinki (g). N = broj uzoraka; r = koeficijent korelacije; p = statistička značajnost; plavi krugovi predstavljaju uzorke; crvena linija predstavlja optimalnu korelaciju između varijabli.



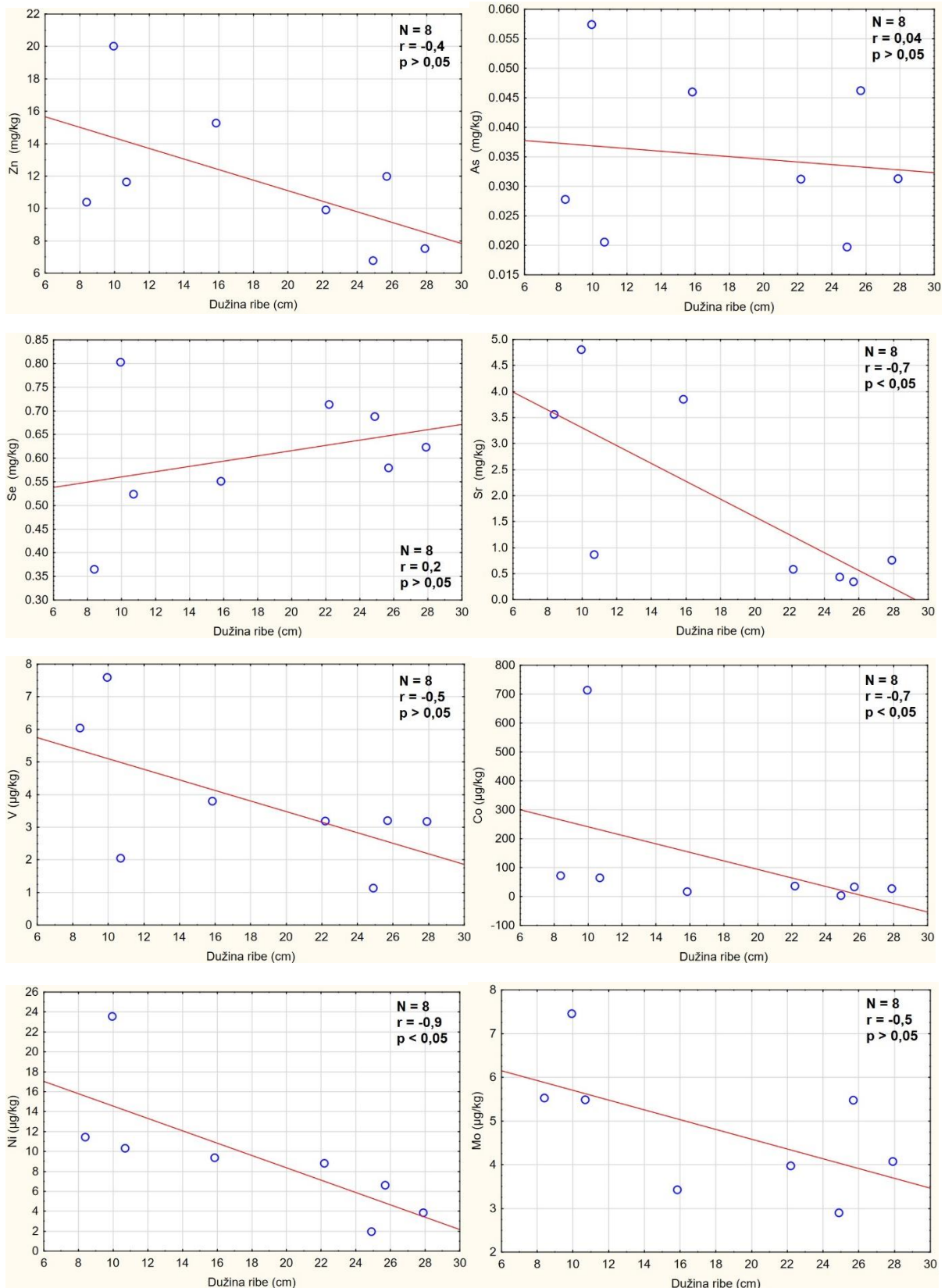
Slika 9. Korelacije između Zn, As, Se, Sr (mg/kg m.m.), V, Co, Ni i Mo (µg/kg m.m.) u mišićnom tkivu bijelog klena i težine jedinki (g). N = broj uzoraka; r = koeficijent korelacije; p = statistička značajnost; plavi krugovi predstavljaju uzorke; crvena linija predstavlja optimalnu korelaciju između varijabli.



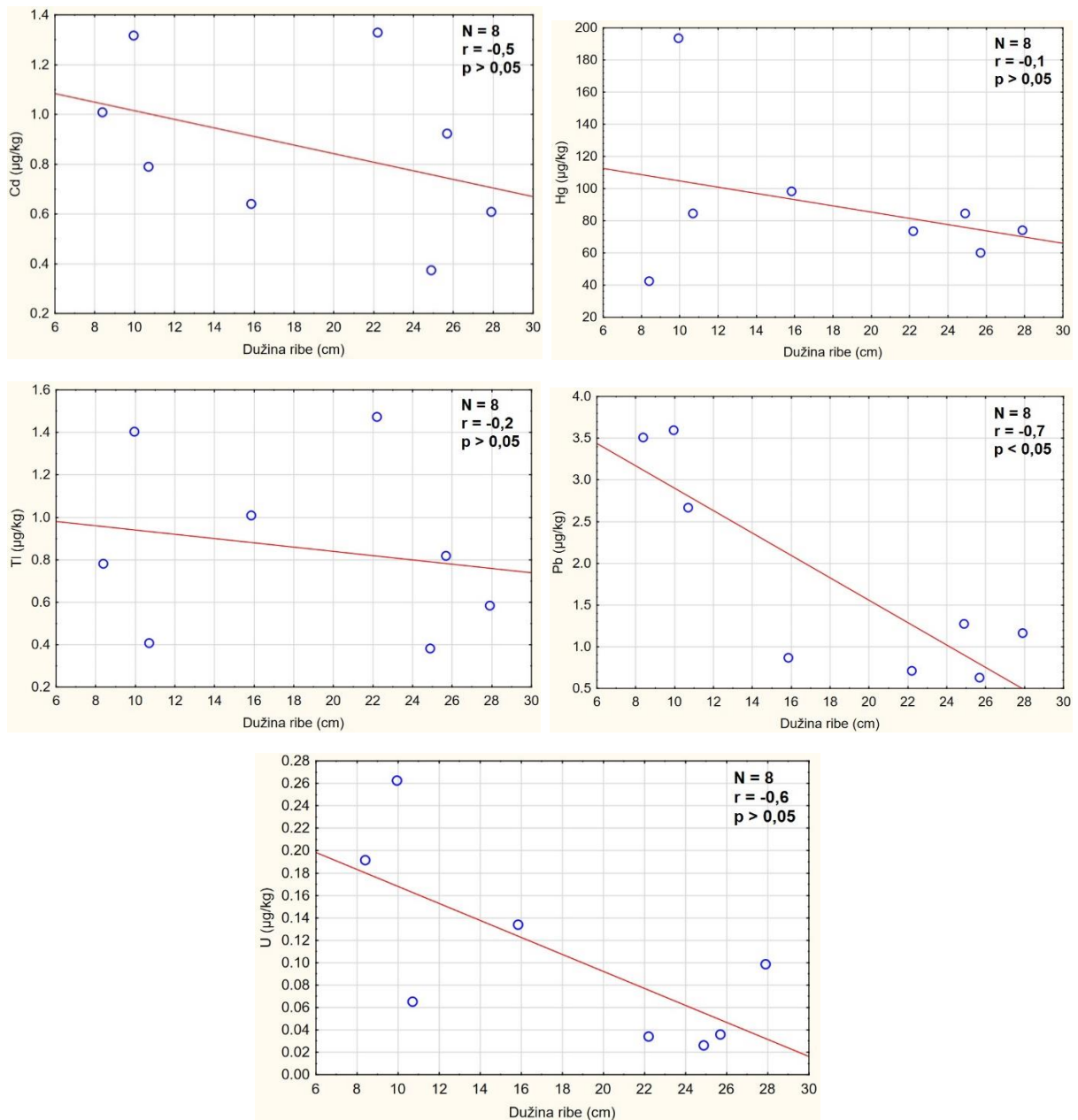
Slika 10. Korelacije između Cd, Hg, Tl, Pb i U ( $\mu\text{g}/\text{kg}$  m.m.) u mišićnom tkivu bijelog klena i težine jedinki (g). N = broj uzoraka; r = koeficijent korelacije; p = statistička značajnost; plavi krugovi predstavljaju uzorke; crvena linija predstavlja optimalnu korelaciju između varijabli.



Slika 11. Korelacije između Na, Mg, K, Ca, Cr, Fe, Mn i Cu (mg/kg m.m.) u mišićnom tkivu bijelog klena i dužine jedinki (cm). N = broj uzoraka; r = koeficijent korelacije; p = statistička značajnost; plavi krugovi predstavljaju uzorke; crvena linija predstavlja optimalnu korelaciju između varijabli.



Slika 12. Korelacije između Zn, As, Se, Sr (mg/kg m.m.), V, Co, Ni i Mo (µg/kg m.m.) u mišićnom tkivu bijelog klena i dužine jedinki (cm). N = broj uzoraka; r = koeficijent korelacije; p = statistička značajnost; plavi krugovi predstavljaju uzorke; crvena linija predstavlja optimalnu korelaciju između varijabli.



Slika 13. Korelacije između Cd, Hg, Tl, Pb i U ( $\mu\text{g/kg}$  m.m.) u mišićnom tkivu bijelog klana i dužine jedinki (cm). N = broj uzoraka; r = koeficijent korelacije; p = statistička značajnost; plavi krugovi predstavljaju uzorke; crvena linija predstavlja optimalnu korelaciju između varijabli.

## 4.2 Sediment

Rezultati sadržaja 21 elementa u sedimentu iz rijeke Raše prikazani su u Tablici 3. Rezultati statističke analize su pokazali da se koncentracije većine elemenata (osim Cr, Se i Hg) značajno razlikuju između postaja (Tablica 3) (Prilog 6). Koncentracije As (Mann-Whitney U-test = 0), Cd (U = 0), Co (U = 0), Cu (U = 0), Fe (U = 0), K (U = 0), Mg (U = 0), Ni (U = 0), Pb (U = 3), U (U = 6), V (U = 0), Tl (U = 0) i Zn (U = 0) su bile značajno povišene ( $p < 0,05$ ) u donjem toku rijeke, na postaji P2. Suprotno tome, određeni elementi geogenog (litogenog) porijekla Ca (U = 54), Na (U = 47), Mn (U = 48), Mo (U = 54) i Sr (U = 54) bili su značajno viši ( $p < 0,05$ ) na lokaciji P1 smještenoj u blizini izvora rijeke Raše i Čepićkog polja. Za sve elemente na lokaciji P2 i većinu elemenata na lokaciji P1 varijabilnost koncentracija bila je prilično mala (0,9-19,9 % na lokaciji P2; 2,0-14,6 % na lokaciji P1). Veće varijacije na postaji P1 zabilježene su samo za Se (25 %) i Na (65 %).

Na Slikama 14-18 prikazane su koncentracije elemenata ovisno o dubini u sedimentu na obe postaje. Vertikalni profili konzervativnih litogenih elemenata (Fe i K) bili su prilično ujednačeni na obje lokacije (Slika 15). Slično tome, brojni drugi litogeni elementi (Ca, Mg, Na, Sr) i elementi u tragovima (Cd, Cr, Cu, Ni, Tl, V, Zn) također su pokazali ujednačenu raspodjelu duž dubinskih profila na obje lokacije. Koncentracije U (Slika 17), Mo i Se (Slika 18) bile povišene u površinskom sloju (0-5 cm) na lokaciji P1.



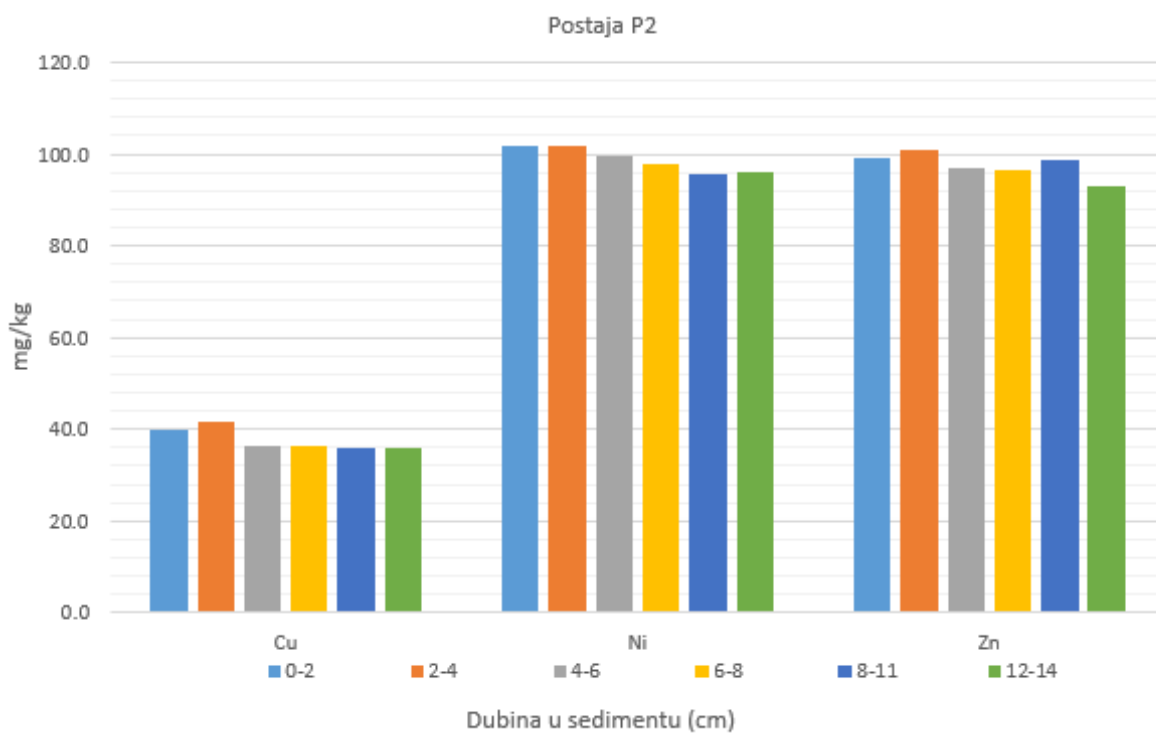
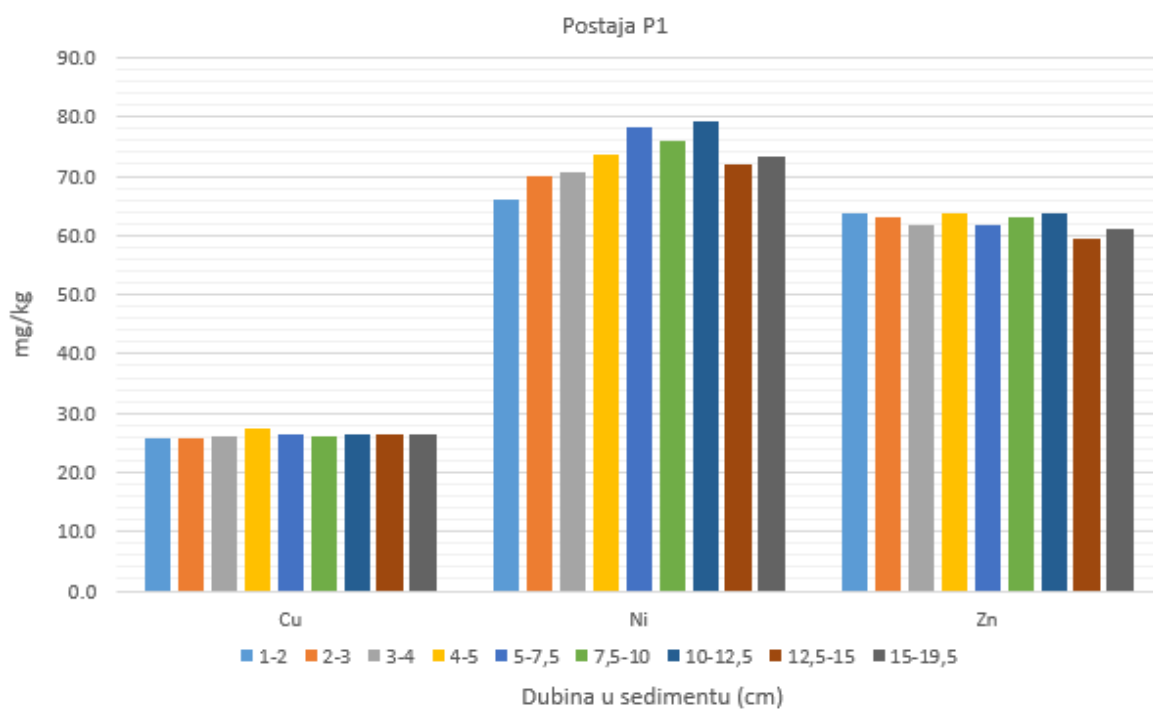
Tablica 3. Prosječne koncentracije [medijan (raspon)] anorganskih elemenata u sedimentima iz rijeke Raše (u mg/kg suhe mase). Različita nadnapisana slova (ab) unutar retka ukazuju na značajne razlike u razinama elemenata između mjesta uzorkovanja.

Element	P1	P2
As	5.88 <sup>a</sup> (4.74-7.25)	7.52 <sup>b</sup> (6.72-8.21)
Ca	137040 <sup>a</sup> (131567-143567)	85275 <sup>b</sup> (81007-88628)
Cd	0.28 <sup>a</sup> (0.24-0.32)	0.47 <sup>b</sup> (0.43-0.51)
Co	14 <sup>a</sup> (11.6-16)	16.8 <sup>b</sup> (16.3-17.4)
Cr	140 (127-165)	149 (144-155)
Cu	26.3 <sup>a</sup> (25.8-27.6)	37.4 <sup>b</sup> (35.8-41.8)
Fe	24320 <sup>a</sup> (20466-27962)	36170 <sup>b</sup> (35761-36796)
Hg	0.15 (0.12-0.18)	0.18 (0.13-0.23)
K	9481 <sup>a</sup> (8133-10200)	13991 <sup>b</sup> (13816-14150)
Mg	6549 <sup>a</sup> (6264-6865)	8064 <sup>b</sup> (7896-8163)
Mn	758 <sup>a</sup> (599-895)	653 <sup>b</sup> (580-733)
Mo	2.01 <sup>a</sup> (0.94-3.2)	0.59 <sup>b</sup> (0.57-0.63)
Na	3667 <sup>a</sup> (3211-3876)	3322 <sup>b</sup> (3235-3416)
Ni	73.2 <sup>a</sup> (65.9-79.1)	98.8 <sup>b</sup> (95.8-102)
Pb	14 <sup>a</sup> (12.8-16.5)	16.6 <sup>b</sup> (15.4-17.9)

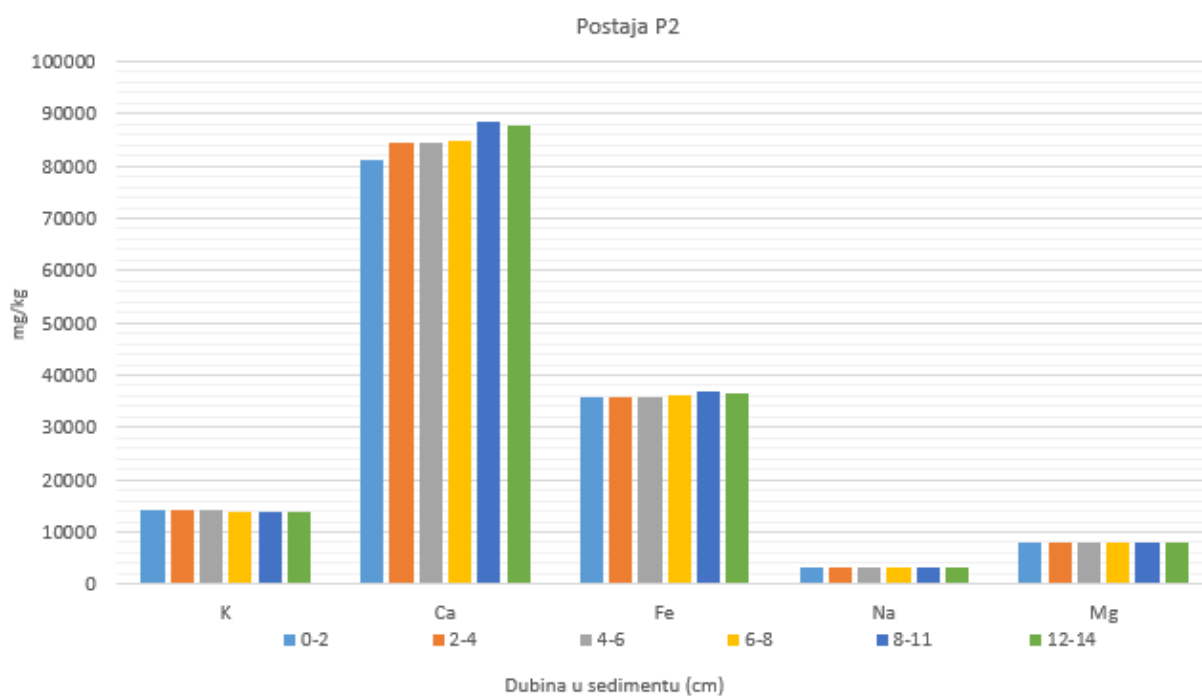
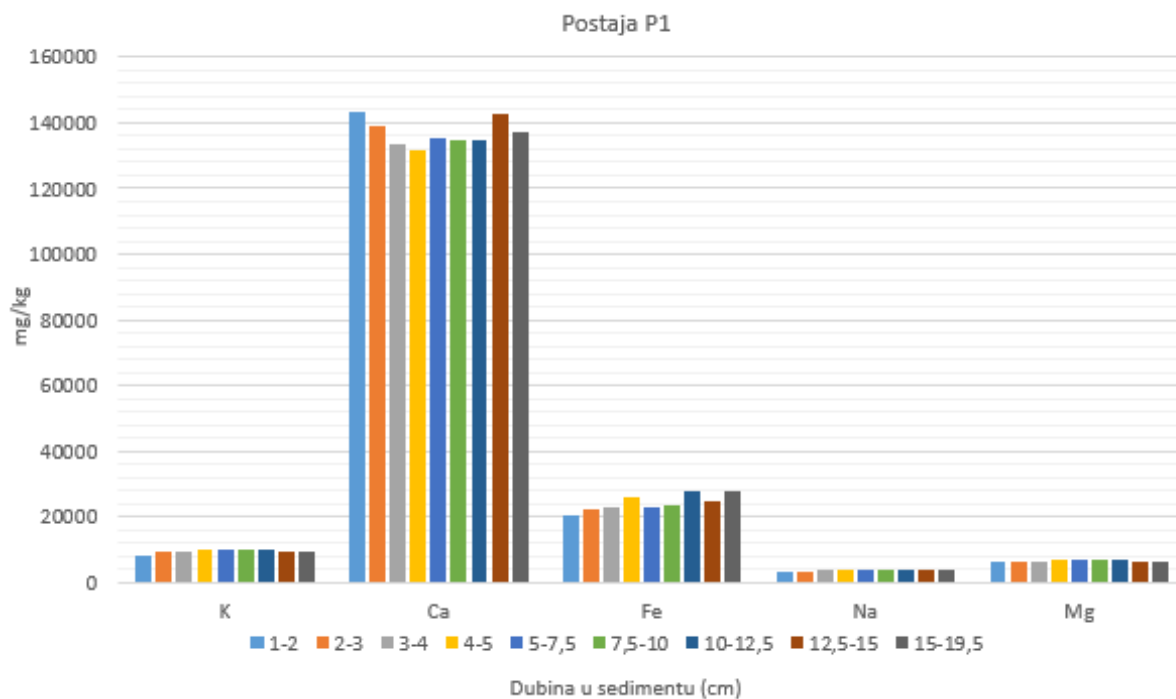
Nastavak Tablica 3.

Se	0.87 (0.37-2.17)	0.63 (0.54-0.79)
Sr	361 <sup>a</sup> (345-374)	256 <sup>b</sup> (253-260)
Tl	0.35 <sup>a</sup> (0.32-0.37)	0.66 <sup>b</sup> (0.62-0.69)
U	1.75 <sup>a</sup> (1.60-2.26)	2.15 <sup>b</sup> (2.05-2.22)
V	77.9 <sup>a</sup> (73-81.6)	121 <sup>b</sup> (117-125)
Zn	62.4 <sup>a</sup> (59.5-63.8)	97.5 <sup>b</sup> (92.9-101)

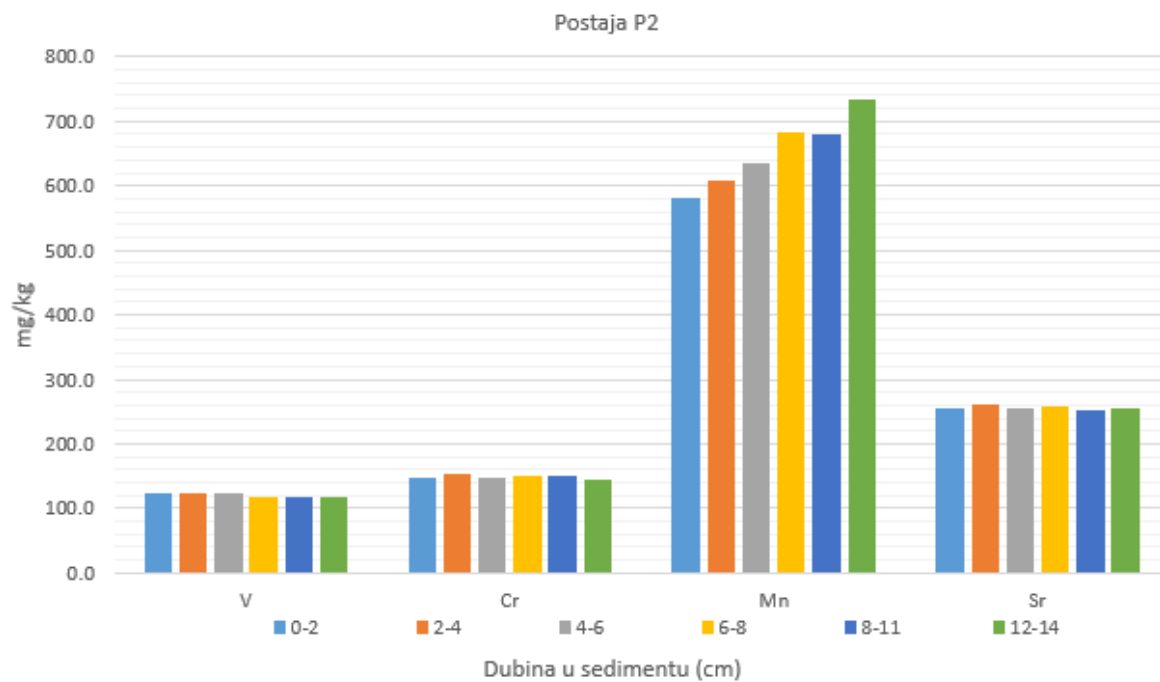
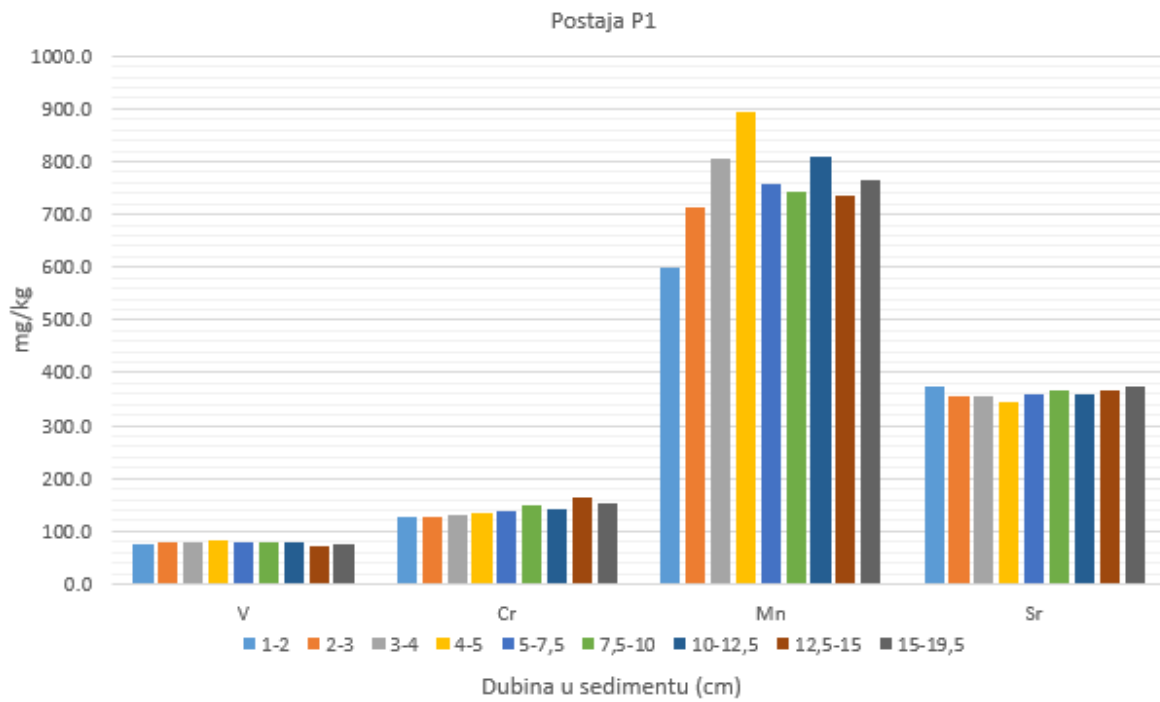
---



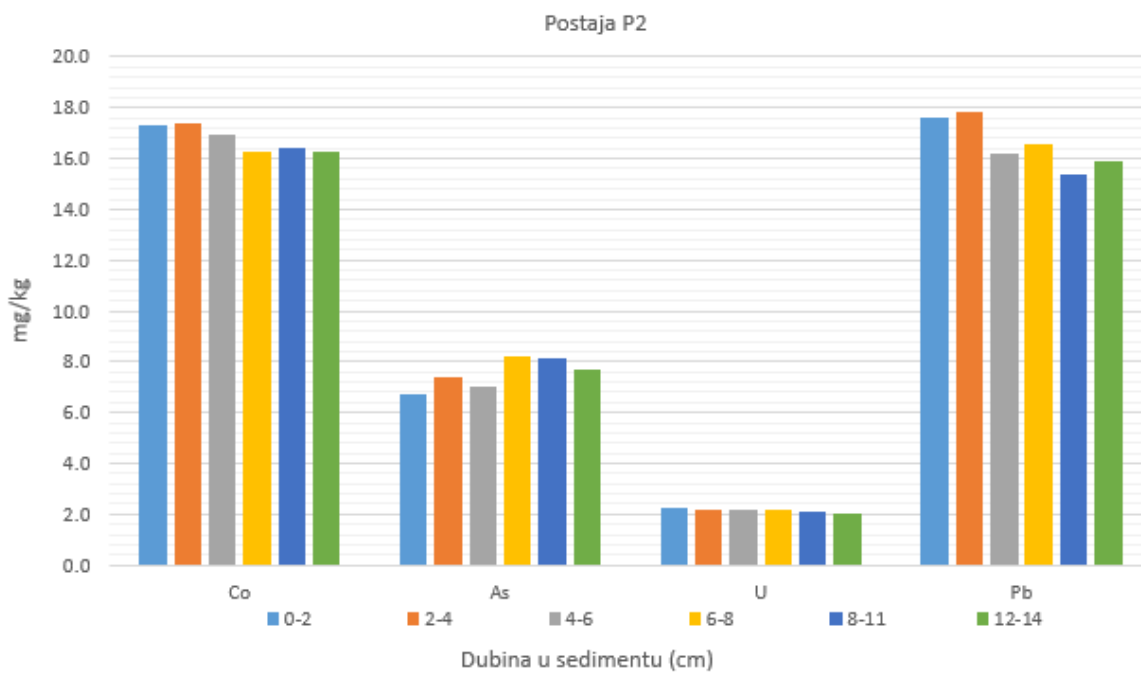
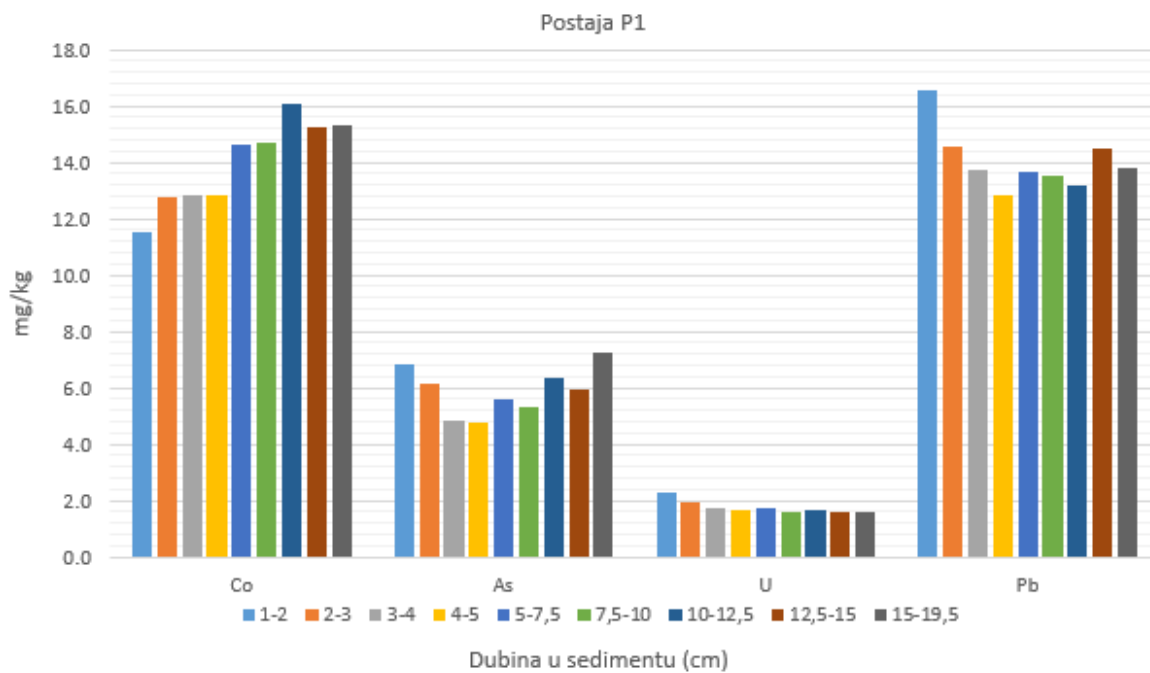
Slika 14. Grafički prikaz koncentracija Cu, Ni, Zn u sedimentu na postaji P1 i P2 ovisno o dubini uzorkovanja.



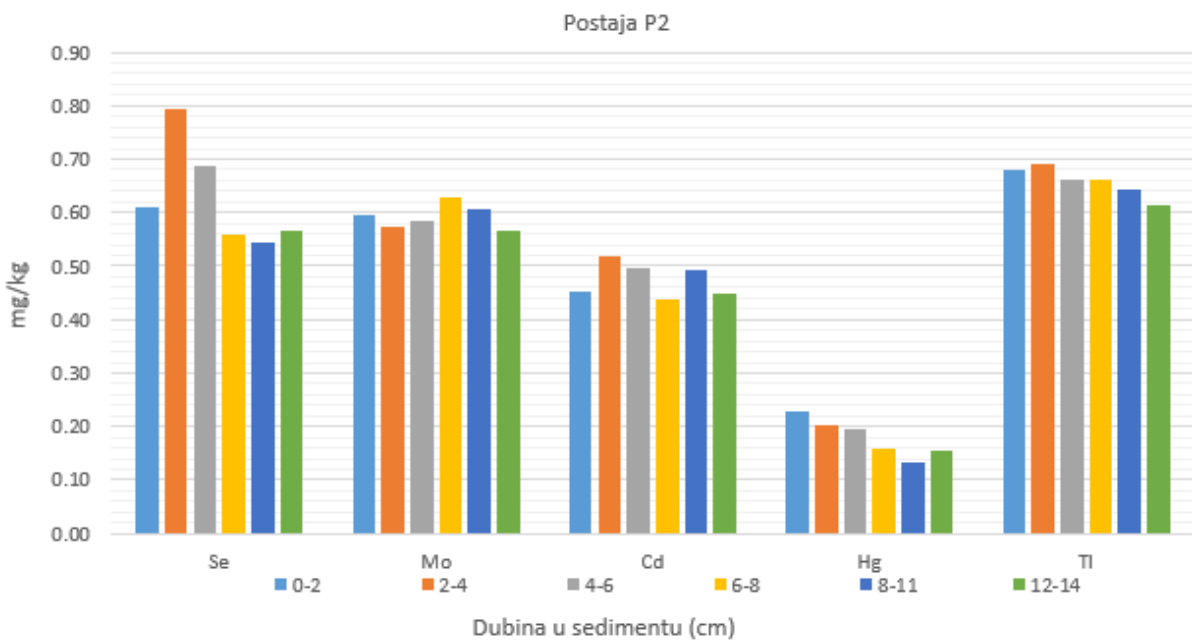
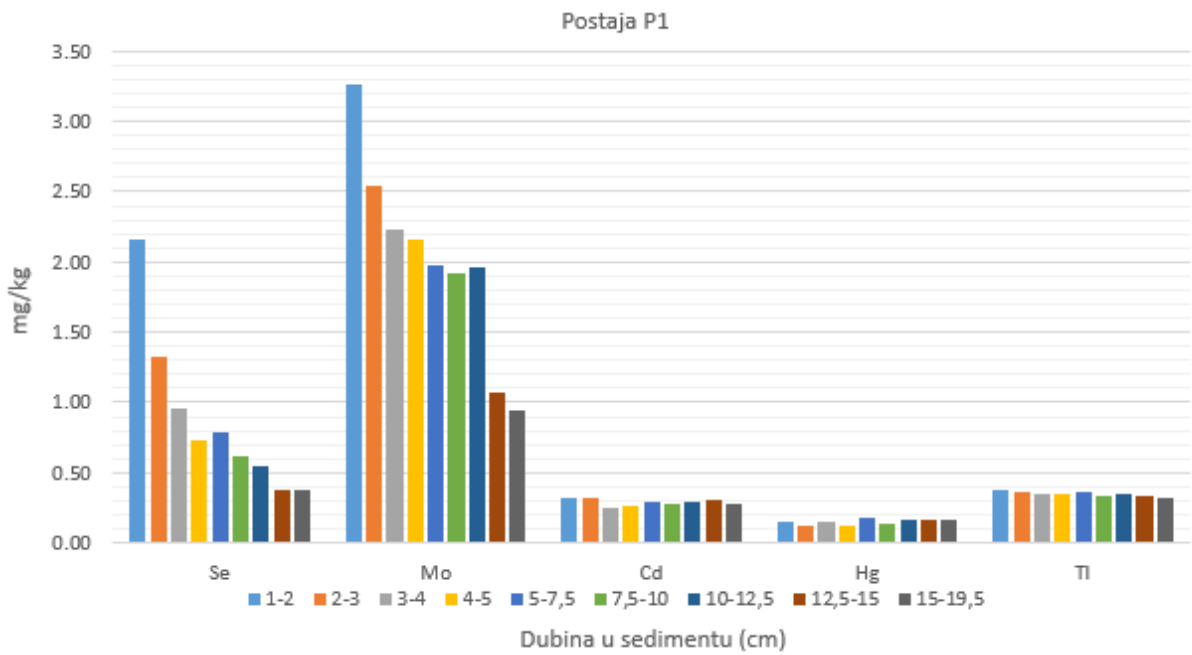
Slika 15. Grafički prikaz koncentracija K, Ca, Fe, Na i Mg u sedimentu na postaji P1 i P2 ovisno o dubini uzorkovanja.



Slika 16. Grafički prikaz koncentracija V, Cr, Mn, Sr u sedimentu na postaji P1 i P2 ovisno o dubini uzorkovanja.



Slika 17. Grafički prikaz koncentracija Co, As, U i Pb u sedimentu na postaji P1 i P2 ovisno o dubini uzorkovanja.



Slika 18. Grafički prikaz koncentracija Se, Mo, Cd, Hg i Tl u sedimentu na postaji P1 i P2 ovisno o dubini uzorkovanja.

## 5. Rasprava

Istraživanja sadržaja esencijalnih i neesencijalnih elemenata u organizmima iz rijeke Raše još nisu sustavno provođena. Prosječne koncentracije elemenata (Na, Mg, K, Ca, Cr, Fe, Mn, Cu, Zn, Se, Sr, Ni, Mo, Co, As, V, Cd, Hg, Pb) u mišićnom tkivu bijelog klena izmjerene u ovom radu su slične drugim istraživanjima na područjima gdje nema antropogenog utjecaja (Harkabusova i sur. 2012; Sunjong i sur. 2016). Nadalje, koncentracija toksičnih elemenata (As, V, Cd, Hg, Tl, Pb, U) značajno su niže u usporedbi s rezultatima drugih istraživanja na područjima gdje se u prošlosti postojale rudarske aktivnosti (Pidgeon i sur. 2002; Ashraf i sur. 2012) te na područjima gdje postoji antropogeni utjecaj poljoprivrede (Rashed 2001; Andreji i sur. 2012; Zrnčić i sur. 2013) i otpadnih voda industrija (Djikanović i sur. 2016). To nam ukazuje na činjenicu da, što se tiče zagađenja s anorganskim elementima, na ispitivanom području nema antropogenog utjecaja koji bi imao negativan utjecaj na organizme. Tome također ide u prilog da na uzorkovanim jedinkama nisu primijećene morfološke deformacije kože, peraja niti škrge koje su česte kod zasićenja organizma toksikantima.

Kod usporedbe veličine i težine ribe s koncentracijama elemenata primjećeno je da su kod manjih riba koncentracije biološki dostupnih elemenata više što se podudara s istraživanjem Başığit i Tekin-Özan (2013). Tome ide u prilog činjenica da je metabolička aktivnost mlađih jedinki puno veća te su puno aktivnije od odraslih jedinki što znači da je potreba za unosom kisika veća (Canpolat i Çalta 2003).

Vrijednosti koncentracija metala za koje postoje sigurnosne odredbe (Cd, Hg i Pb) su bili ispod maksimalno dopuštene razine prema Pravilniku o najvećim dopuštenim količinama određenih kontaminanata u hrani (NN 146/2012) što sugerira da nema opasnosti za čovjeka prilikom konzumacije riba iz ovog područja (Prilog 7).

Prosječne koncentracije elemenata u sedimentima rijeke Raše bile su nešto veće od prethodno dobivenih podataka za sedimente rijeke Raše ili sedimente istarskih rijeka općenito (Frančišković-Bilinski i sur. 2014), slične ili niže od prosječne vrijednosti za tla na zemljopisno sličnim lokalitetima, poput tla regije Raša (Peh i sur. 2003; Halamić i Miko 2009) i kontrolnog tla u okolici termoelektrane Plomin (Medunić i sur. 2016b), i istog reda veličine kao svjetski medijani podataka za potočni sediment (Reimann i Caritat 1998). Podaci za Cu, Hg, Se i Zn te djelomično Cd i Pb su bili značajno niži od podataka za sediment iz dva kanala koji su primali otpadne vode od odvajanja ispiranja ugljena, komunalnih gradskih otpadnih voda i otpadnih voda rudnika ugljena (Medunić i sur. 2018a) i od podataka o zagađenom tlu iz industrijske zone



iz luke Raša (Peh i sur. 2003). To ukazuje na činjenicu da sedimenti rijeke Raše nisu značajno kontaminirani antropogenim elementima i da su u skladu sa sastavom okolnog tla. Za sve elemente na lokaciji P2 i većinu elemenata na lokaciji P1 varijabilnost koncentracija bila je prilično mala što ukazuje na relativno konstantne razine elemenata tijekom ispitivanog razdoblja.

Usporedba sadržaja elemenata s Kanadskim smjernicama za kvalitetu sedimenta za zaštitu vodenih životinja (CCME 2014) i USEPA (Američka agencija za zaštitu okoliša) mjerilima za ispitivanje slatkovodnih sedimenta (USEPA 2006) pokazala je da su koncentracije Fe, Cr, Mn i Ni na obje lokacije te Cu i Hg na lokaciji P2 premašile koncentracije praga učinka (TEC) ( $TEC_{Fe} = 2 \%$ ;  $TEC_{Cr} = 43,4 \text{ mg/kg}$ ;  $TEC_{Cu} = 31,6 \text{ mg/kg}$ ;  $TEC_{Hg} = 0,180 \text{ mg/kg}$ ;  $TEC_{Mn} = 460 \text{ mg/kg}$ ;  $TEC_{Ni} = 22,7 \text{ mg/kg}$ ), dok su koncentracije As i Cr na obje lokacije te Cu i Hg na lokaciji P2 premašile vrijednosti Privremenih smjernica za kvalitetu slatkovodnih taloga (ISQGA) ( $ISQG_{As} = 5,9 \text{ mg/kg sm}$ ;  $ISQG_{Cr} = 37,3 \text{ mg/kg sm}$ ;  $ISQG_{Cu} = 35,7 \text{ mg/kg sm}$ ;  $ISQG_{Hg} = 0,170 \text{ mg/kg sm}$ ). Međutim, izmjerene vrijednosti za As, Cu i Hg bile su niže od koncentracije vjerojatnog učinka (PEL) ( $PEL_{As} = 17 \text{ mg/kg sm}$ ;  $PEL_{Cu} = 197 \text{ mg/kg sm}$ ;  $PEL_{Hg} = 0,486 \text{ mg/kg sm}$ ) (CCME, 2014). Jedina iznimka bio je Cr, čije su koncentracije na oba mjesta bile veće od odgovarajućih vrijednosti TEC ( $43,4 \text{ mg/kg sm}$ ), ISQG ( $37,3 \text{ mg/g sm}$ ) i PEL ( $90 \text{ mg/kg sm}$ ). Međutim, prilično ujednačeni profili koncentracija Cr s dubinom na obje lokacije, koji su također bili slični profilima Co, Ni, Mg i Fe (tj. s elementima s kojima se obično povezuje u Zemljinoj kori) (Halamić i Miko 2009), sugerira da je visok sadržaj Cr vjerojatno prirodnog podrijetla. Naime, visoke koncentracije Cr (do  $163 \text{ mg/kg sm}$ ) nađene su u tlima iz regije Raša (Halamić i Miko 2009; Peh i sur. 2003), što također djelomično podržava pretpostavku da koncentracije Cr u sedimentu Raše odražavaju geološku podlogu slivnog područja. Koncentracije ostalih elemenata za koje postoje smjernice (Ag, Cd, Co, Pb i Zn) bile su niže od vrijednosti TEC i ISQG u svim sedimentima rijeke Raše, osim za Se, čija je vrijednost bila veća od TEC vrijednost ( $2 \text{ mg/kg sm}$ ) samo u najgornjem sloju na lokaciji P1.

Vertikalni profili konzervativnih litogenih elemenata (Fe i K) bili su prilično ujednačeni na obje lokacije, što ukazuje na relativno stalan terigeni unos. Slično tome, brojni drugi litogeni elementi (Ca, Mg, Na, Sr) i elementi u tragovima (Cd, Cr, Cu, Ni, Tl, V, Zn) također su pokazali ujednačenu raspodjelu duž dubinskih profila na obje lokacije, što ukazuje na pretežno geogeno (prirodno) podrijetlo ovih elemenata u vremenskom rasponu koji pokrivaju jezgre sedimenta. Jedino su koncentracije Mo, Se i U bile povišene u površinskom sloju (0-5 cm) na lokaciji P1, što ukazuje na mogući antropogeni utjecaj koji treba dodatno istražiti.

Vrste roda *Squalius*, posebice *Squalius chephalus* i *Squalius vardarensis*, sustavno se koriste za biomonitoring u europskim vodotocima što su potvrdila mnoga istraživanja (Poleksić i sur. 2010; Višnjic-Jeftić i sur. 2010; Jarić i sur. 2011; Lenhardt i sur. 2012; Subotić i sur. 2013; Jovičić i sur. 2015; Djikanović i sur. 2018). Bijeli klen još nije korišten kao bioindikator iz razloga što je ova vrsta endem jadranskog slijeva te je u Hrvatskoj rasprostranjen samo na području Istre i Dalmacije. Područje istraživanja ovog rada nije bilo značajno onečišćeno stoga se ne može sa sigurnošću reći da li je bijeli klen dobra bioindikatorska vrsta. Također broj uzoraka je bio mali te je analizirano samo mišićno tkivo. Daljna istraživanja su svakako potrebna te prilikom uzorkovanja treba uzeti u obzir metabolički aktivne organe kao što su jetra, bubrezi (Papagiannis i sur. 2004; Velcheva 2006) te škrge (Romeo i sur. 1999) kako bi se procijenila koncentracija biološki dostupnih elemenata u vodi.

Područje istočno od rijeke Raše specifično je po velikim naslagama ugljena koje su se iskorištavale stotinama godina no tek su nedavno postala tema istraživanja. Istraživanja koja su se provela uglavnom se baziraju na kakvoći sedimenta i okolnog tla termoelektrana dok istraživanja na vodenim organizmima tog slivnog područja još nisu provedena. Iako iz ovog istraživanja nije uočen antropogeni utjecaj smatram da je broj uzorkovanih jedinki bio mali kako bi se moglo to u potpunosti zaključiti. Svakako je potrebno provoditi kontinuirana istraživanja na većem broju uzoraka vode i sedimenta te drugih vrsta na više lokacija kako bi rezultati pouzdano odrazili stanje vodenog okoliša na području rijeke Raše.

## 6. Zaključak

- Koncentracije esencijalnih (Ca, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Se, Sr, Zn) i toksičnih (As, Cd, Hg, Pb, Tl, U, V) elemenata u mišićnom tkivu bijelog klena se podudaraju s rezultatima istraživanjima provedenim na područjima bez antropogenog utjecaja.
- Prosječne vrijednosti sadržaja elemenata u sedimentu rijeke Raše su u skladu sa sastavom okolnog tla, a povećane vrijednosti elemenata Fe, Cr, Mg, Ni i Se koji su prešli propisane vrijednosti smjernica za kvalitetu sedimenta prirodnog su podrijetla te odražavaju geološku podlogu slivnog područja.
- Vertikalni profili konzervativnih litogenih elemenata (Fe i K), drugih litogenih elemenata (Ca, Mg, Na, Sr) i elemenata u tragovima (Cd, Cr, Cu, Ni, Tl, V, Zn) pokazali su ujednačenu raspodjelu duž dubinskih profila na obje lokacije, što ukazuje na prirodno podrijetlo ovih elemenata u vremenskom rasponu koji pokrivaju jezgre sedimenta.
- Vrijednosti koncentracija metala za koje postoje sigurnosne odredbe (Cd, Hg i Pb) su bili ispod maksimalno dopuštene razine prema Pravilniku o najvećim dopuštenim količinama određenih kontaminanata u hrani (NN 146/2012) što sugerira da nema opasnosti za čovjeka prilikom konzumacije riba iz ovog područja.
- Prema drugim istraživanjima provedenim na europskim vodotocima, vrste roda *Squalius* sustavno se koriste za ispitivanja bioindikacije. Za buduća istraživanja potrebno je ispitati koncentraciju elemenata u metabolički aktivnim organima kao što su jetra i škrge te na većem broju uzoraka.

## 7. Literatura i izvori

### 7.1 Literatura

Abbas H.H., Zaghloul K.H., Mousa M.A. (2002): Effect of some heavy metal pollutants on some biochemical and histopathological changes in Blue tilapia *Oreochromis aureus*. The Egyptian Journal of Agricultural Research 80: 1395-1411.

Al-Attar A.M. (2007): The influences of nickel exposure on selected physiological parameters and gill structure in the teleost fish, *Oreochromis niloticus*. Journal of Biological Sciences 7: 77-85.

Andreji J., Dvorak P., Dvorakova Liskova Z., Massányi P., Stranai I., Nad P., Skalicka M. (2012): Content of selected metals in muscle of cyprinid fish species from the Nitra River, Slovakia. Neuro endocrinology 33: 84-9.

Anim-Gyampo M., Kumi M., Zango M.S. (2013): Heavy Metals Concentrations of some selected Fish Species in Tono Irrigation Reservoir in Navorong, Ghana. Journal of Environment and Earth Science 3: 109-119.

Ashraf M.A., Maah M.J., Yusoff I. (2012): Bioaccumulation of Heavy Metals in Fish Species Collected From Former Tin Mining Catchment. International Journal of Environmental Research 6: 209-218.

Banerjee T., Kumar M., Mall R.K., Singh R.S. (2016): Airing 'clean air' in Clean India Mission. Environmental Science and Pollution Research 24(7): 6399-6413.

Basha P.S., Rani A.U. (2003): Cadmium-induced antioxidant defense mechanism in freshwater teleost *Oreochromis mossambicus* (Tilapia). Ecotoxicology Environmental Safety 56: 218-221.

Başığit B., Tekin-Özan S. (2013): Concentrations of Some Heavy Metals in Water, Sediment, and Tissues of Pikeperch (*Sander lucioperca*) from Karataş Lake Related to Physico-Chemical Parameters, Fish Size, and Seasons. Polish Journal of Environmental Studies 22: 633-644.

Benac Č., Rubinić J., Ružić I., Radišić M. (2017): Geomorfološka evolucija riječnih dolina i ušća na istarskom poluotoku. Hrvatske vode 100: 71-80.

Benaduce A.P.S., Kochhann D., Flores É.M.M., Dressler V.L., Baldisserotto B. (2008): Toxicity of cadmium for silver catfish *Rhamdia quelen* (Heptapteridae) embryos and larvae at different alkalinities. Archives of Environmental Contamination and Toxicology 54: 274-282.

Bjerknes V., Fyllingen I., Holtet L., Teien H.C., Rosseland B.O. (2003): Aluminium in acidic river water causes mortality of farmed Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.) in Norwegian fjords. *Marine Chemistry* 83: 169-174.

Bradth H. (2005): Heavy metals in the environment: origin interaction and remediation. Elsevier/Academic Press, London, str. 1067–1075.

Canpolat Ö., Çalta M. (2003): Heavy metals in some tissues and organs of *Capoeta capoeta umbla* (Heckel, 1843) fish species in relation to body size, age, sex and seasons. *Fresenius Environmental Bulletin* 12: 961-966.

CCME (Canadian Council of Ministers of the Environment) (2014): Canadian Sediment Quality Guidelines for the Protection of Aquatic Life. Canadian environmental quality guidelines, 1999, Canadian Council of Ministers of the Environment, Winnipeg.

Che D., Meagher R.B., Rugh C.L., Kim T., Heaton A.C.P., Merkle S.A., (2006): Expression of organomercurial lyase in Eastern Cottonwood enhances organomercury resistance. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*, 42: 228–234.

Chien L.C., Yeh C.Y., Huang S.Y., Shieh M.J., Han B.C. (2003): Pharmacokinetic model of daily selenium intake from contaminated seafood in Taiwan. *Science of the Total Environment* 311: 57-64.

Chou C.L. (1997): Geologic factors affecting the abundance, distribution, and speciation of sulfur in coals. *Proceedings of the 30th International Geological Congress* 8: 47-57.

Chou C.L. (2012): Sulfur in coals: A review of geochemistry and origins. *International Journal of Coal Geology* 100: 1-13.

Chovanec A., Hofer R., Schiemer F. (2003): Chapter 18 Fish as bioindicators. *Trace Metals and Other Contaminants in the Environment* 6: 39–67.

Ćaleta, M., Buj, I., Mrakovčić, M., Mustafić, P., Zanella, D., Marčić, Z., Duplić, A., Mihinjač, T., Katavić, I. (2015): Hrvatske endemske ribe. Agencija za zaštitu okoliša, Zagreb, 116 str.

Dave G., Xiu R. (1991): Toxicity of mercury, copper, nickel, lead, and cobalt to embryos and larvae of zebrafish, *Brachydanio rerio*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 21: 126-134.

Decker C., Menendez R. (1974): Acute toxicity of iron and aluminium to brook trout. The Proceedings of the West Virginia Academy of Science 46: 159-167.

Deng D.F., Hung S.S.O., Teh S.J. (2007): Selenium depuration: Residual effects of dietary selenium on Sacramento splittail (*Pogonichthys macrolepidotus*). Science of the Total Environment 377: 224-232.

Djikanović V., Skorić S., Jarić I., Lenhardt M, (2016): Age-specific metal and accumulation patterns in different tissues of nase (*Chodrostoma nasus*) from the Medjuvršje Reservoir. Science of the Total Environment 566: 185-190.

Djikanović V., Skorić S., Spasić S., Naunovic Z., Lenhardt M. (2018): Ecological risk assessment for different macrophytes and fish species in reservoirs using biota sediment accumulation factors as a useful tool. Environmental Pollution 241: 1167-1174.

Drevnick P.E., Sandheinrich M.B, Oris J.T. (2006): Increased ovarian follicular apoptosis in fathead minnows (*Pimephales promelas*) exposed to dietary methylmercury. Aquatic Toxicology 79: 49-54.

Ercal N., Gurer-Orhan H., Aykin-Burns N. (2001): Toxic metals and oxidative stress Part I: Mechanisms involved in metal-induced oxidative damage. Current Topics in Medicinal Chemistry 1: 529-539.

Erickson R.J., Bills T.D., Clark J.R., Hansen D.J., Knezovich J.P., Mayer Fi., McElroy A.E. (1994): Synopsis of discussion session on physico-chemical factors affecting toxicity. Bioavailability: Physical, Chemical, and Biological Interactions 6: 31-38.

Fiketa Ž., Medunić G. , Furdek Turka M., Kniewald G. (2018): Rare earth elements in superhigh-organic-sulfur Raša coal ash (Croatia). International Journal of Coal Geology 194: 1–10.

Francisković - Bilinski S.; Scholger R.; Bilinski H.; Tibljas D. (2014): Magnetic, geochemical and mineralogical properties of sediments from karstic and flysch rivers of Croatia and Slovenia. Environmental Earth Sciences 72: 3939-3953.

Giari L., Manera M., Simoni E., Dezfuli B.S. (2007): Cellular alterations in different organs of European sea bass *Dicentrarchus labrax* (L.) exposed to cadmium. Chemosphere 67: 1171-1181.

- Giulivio M., Capri E., Kalogianni E., Milacic R., Majone B., Ferrar F., Eljarrat E., Barceló D. (2017): Occurrence of halogenated and organophosphate flame retardants in sediment and fish from three European river basins. *Science of the Total Environment* 586: 782–791.
- Halamić J., Miko S. (2009): *Geokemijski atlas Republike Hrvatske*. Hrvatski Geološki Institut
- Harkabusová V., Čelechovská O., Lavičková A., Svobod Z. (2012): Monitoring of risk metals in chub (*Leuciscus cephalus* L.) from the Svitava and Svratka rivers in the urban area of Brno, Czech Republic. *Acta Veterinaria Brunensis* 81: 069–073.
- Harkness J.S., Sulkin B., Vengosh A. (2016): Evidence for coal ash ponds leaking in the Southeastern United States. *Environmental Science and Technology* 50: 6583–6592.
- Has-Schön E., Bogut I., Strelec I. (2006): Heavy metal profile in five fish species included in human diet, domiciled in the end flow of River Neretva. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 50: 545-551.
- Jarić I., Višnjić-Jeftić Ž., Cvijanović G., Gačić Z., Jovanović Lj., Skorić S., Lenhardt M. (2011): Determination of differential heavy metal and trace element accumulation in liver, gills, intestine and muscle of starlet (*Acipenser ruthenus*) from the Danube River in Serbia by ICP-OES. *Microchemical Journal* 98: 77-81.
- Jarup L. (2003): Hazards of heavy metals contamination. *British Medical Bulletin*, 68: 167-182.
- Jeziarska B., Witeska M. (2006): *The metal uptake and accumulation in fish living in polluted waters*. NATO Science Series Springer, Netherlands.
- Johnston D., Potter H., Jones C., Rolley S., Watson I., Pritchard J. (2008): Abandoned mines and the water environment. *The Environment Agency* 5: 1-40.
- Jovičić K., Nikolić D.M., Višnjić-Jeftić Ž., Djikanović V., Skorić S., Stefanović S.M., Lenhardt M., Hegediš A., Krpo-Četković J., Jarić I. (2015): Mapping differential elemental accumulation in fish tissues: assessment of metal and trace element concentrations in wels catfish (*Silurus glanis*) from the Danube River by ICP-MS. *Environmental Science and Pollution Research* 22: 3820-3827.
- Kennedy C.J. (2011): *The toxicology of metals in fishes*. Academic Press, San Diego, California, USA.

- Kock G., Triendl M., Hofer R. (1996): Seasonal patterns of metal accumulation in Arctic char (*Salvelinus alpinus*) from oligotrophic Alpine lakes related to temperature. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 53: 780-786.
- Kottelat M., Freyhof J. (2007): Handbook of European freshwater fishes. Kottelat, Cornol Switzerland and Freyhof, Berlin, Germany.
- Lamas S., Fernández J.A., Aboal J.R., Carballeira A. (2007): Testing the use of juvenile *Salmo trutta* L. as biomonitors of heavy metal pollution in freshwater. *Chemosphere* 67:221-228.
- Lemly A.D. (2002): Symptoms and implications of selenium toxicity in fish: the Belews Lake case example. *Aquatic Toxicology* 57: 39-49.
- Lenhardt M., Jarić I., Višnjić-Jeftić Ž., Skorić S., Gačić Z., Pucar M., Hegediš A. (2012): Concentrations of 17 elements in muscle, gills, liver and gonads of five economically important fish species from the Danube River. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems* 407: 1-10.
- Liao C.M., Tsai J.W., Ling M.P., Laing H.M., Chou Y.H. (2004): Organspecific toxicokinetics and dose-response of arsenic in tilapia *Oreochromis mossambicus*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 47: 502-510.
- Lorenzoni M., Carosi A., Pedicillo G., Pompei L., Rocchini M. (2011): Reproductive properties of the chub *Squalius squalus* (Bonaparte, 1837) in the Assino Creek (Umbria, Italy). *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems* 403: 1-10.
- Mager E.M. (2011): Lead. Academic Press, New York, USA. Academic Press, New York, USA, Elsevier Inc.
- Magyarosy A., Laidlaw R.D., Kilaas R., Echer C., Clark D.S. (2002): Nickel accumulation and nickel oxalate precipitation by *Aspergillus niger*. *Applied Microbiology and Biotechnology* 59: 382-388.
- Marović G., Senčar J., Kovač J. and Prlić I. (2004): Improvement of the radiological environmental situation due to remedial actions at a coal-fired power plant. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 261: 451-455.
- Medunić G., Rađenović A., Bajramović M., Švec M., Tomac M. (2016a): Once grand, now forgotten: what do we know about the superhigh-organic-sulphur raša coal?. *Rudarsko-geološko-naftni zbornik* 31: 27-44.



- Medunić G., Ahel M., Božičević Mihalić I., Gaurina Srček V., Kopjar N., Fiket Ž., Bituh T., Mikac I. (2016b): Toxic airborne S, PAH, and trace element legacy of the superhigh-organic-sulphur Raša coal combustion: Cytotoxicity and genotoxicity assessment of soil and ash. *Science of the Total Environment* 566: 306-319.
- Medunić G., Kuharić Ž., Krivohalek A., Fiket Ž., Rađenović A., Gödel K., Kampić Š. (2018a): Geochemistry of Croatian superhigh-organic-sulphur Raša coal, imported low-S coal and bottom ash: their Se and trace metal fingerprints in seawater, clover, foliage and mushroom specimens. *International Journal of Oil, Gas and Coal Technology* 18: 3-24.
- Medunić G., Kuharić Ž., Fiket Ž., Bajramović M., Singh A.L., Krivohlavek A., Kniewald G., Dujmović L. (2018b): Selenium and other potentially toxic elements in vegetables and tissues of three non-migratory birds exposed to soil, water, and aquatic sediment contaminated with seleniferous Raša coal. *Rudarsko-geološko-naftni zbornik* 33: 53-62.
- Miller L.L., Wang F., Palace V.P., Hontela A. (2007): Effects of acute and subchronic exposures to waterborne selenite on the physiological stress response and oxidative stress indicators in juvenile rainbow trout. *Aquatic Toxicology* 83: 263-271.
- Milošković A., Branković S., Simić V., Kovačević S., Cirković M., Manojlović D. (2013): The accumulation and distribution of metals in water, sediment, aquatic macrophytes and fishes of the Gruža Reservoir, Serbia. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 90: 563–569.
- Minelli L., Veschetti E., Giammanco S., Mancini G., Ottaviani M. (2000): Vanadium in Italian waters: monitoring and speciation of V(IV) and V(V). *Microchemistry Journal* 67: 83-90.
- Mrakovčić M., Brigić A., Buj I., Čaleta M., Mustafić P., Zanella D. (2006): *Crvena knjiga slatkovodnih riba Hrvatske*. Ministarstvo kulture, Državni zavod za zaštitu prirode, Republika Hrvatska, Zagreb, 256 str.
- Muscatello J.R., Belknap A.M., Janz D.M. (2008): Accumulation of selenium in aquatic systems downstream of a uranium mining operation in northern Saskatchewan, Canada. *Environmental Pollution* 156: 387-393.
- Narodne novine (2012): Pravilnik o najvećim dopuštenim količinama određenih kontaminanata u hrani. Narodne novine d.d Zagreb.

NRC (National Research Council) (2005): Selenium: Mineral tolerance of animals. Committee on Minerals and Toxic Substances. National Academies Press, Washington, DC, USA

Nøstbakken O.J., Hove H.T., Duinker A., Lundebye A.K., Berntssen M.H.G. (2015): Contaminant levels in Norwegian farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*) in the 13-year period from 1999 to 2011. *Environment International* 74:274-280.

Pacheco M., Santos M.A., Pereira P., Martínez J.I., Alonso P.J., Soares M.J., Lopes J.C. (2013): EPR detection of paramagnetic chromium in liver of fish (*Anguilla anguilla*) treated with dichromate(VI) and associated oxidative stress responses-Contribution to elucidation of toxicity mechanisms. *Comparative Biochemistry & Physiology* 157: 132-140.

Papagiannis I., Kagalou I., Leonardos J., Petridis D., Kalfakakou V. (2004): Copper and zinc in four freshwater fish species from lake Pamvotis (Greece). *Environment International* 30: 57–362

Peh Z., Miko S., Bukovec, D. (2003): The geochemical background in Istrian soils. *Natura Croatica* 12: 195-232.

Peuranen S., Vuorinen P.J., Vuorinen M., Tuurala H. (1993): Effects of acidity and aluminium on fish gills in laboratory experiments and in the field. *Science of the Total Environment* 134: 979-988.

Pidgeon R., Bouckaert F., Boyden J. (2002): Diagnosis of a fish kill in Georgetown Billabong near Ranger Uranium Mine on 11 October 2001. Department of the Environment and Heritage. Internal Report.

Poleksić V., Lenhardt M., Jaric I., Djordjevic D., Gačić Z., Cvijanović G., Rasković B. (2010): Liver, gills and skin histopathology and heavy metal content of the Danube sterlet (*Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758). *Environmental Toxicology and Chemistry* 29: 515-521.

Pompei L., Carosi A., Pedicillo G., Rocchini E., Lorenzoni M. (2011): Age and growth analysis of the chub, *Squalius squalus* (Bonaparte, 1837), in the Assino Creek (Umbria, Italy). *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems* 400: 1-11.

Radenočić A. (2006): Inorganic constituents in coal. *Kemija u industriji* 55: 65–71.

Raldúa D., Diez S., Bayona J.M., Barceló D. (2007): Mercury levels and liver pathology in feral fish living in the vicinity of a mercury cell chlor-alkali factory. *Chemosphere* 66: 1217-1225.

- Rashed M.N. (2001): Monitoring of environmental heavy metals in fish from Nasser Lake. *Environment International* 27: 27-33.
- Reid S.D. (2011): Molybdenum and chromium. Academic Press, New York, USA.
- Reimann C., Caritat P. (1998): *Chemical Elements in the Environment. Factsheets for the Geochemist and Environmental Scientist.* Springer, Berlin, Heidelberg.
- Romeo M., Siau Y., Sidoumou Z., Gnassia Barelli M. (1999): Heavy metal distribution in different fish species from the Mauritania coast. *Science of Total Environment* 232: 169-175.
- Rose M., Fernandes A., Mortimer D., Baskaran C. (2015): Contamination of fish in UK fresh water systems: Risk assessment for human consumption. *Chemosphere* 122: 183-189.
- Schiemer F., Keckeis H., Winkler G., Flore L. (2001): Large rivers: the relevance of ecotonal structure and hydrological properties for the fish fauna. *Archiv fur Hydrobiologie* 135: 487-508.
- Sepe A., Ciaralli L., Ciprotti M., Giordano R., Fumari E., Costantini S. (2003): Determination of cadmium, chromium, lead and vanadium in six fish species from the Adriatic Sea. *Food Additives and Contaminants* 20: 543-552.
- Sfakianakis D.G., Renieri E., Kentouri M., Tsatsakis A.M. (2015): Effect of heavy metals on fish larvae deformities: A review. *Environmental Research* 137: 246-255.
- Sinninghe Damsté J.S., White C.M., Green J.B., de Leeuw J.W. (1999): Organosulfur compounds in sulfur-rich Raša coal. *Energy & Fuels* 13: 728-738.
- Sivaperumal P., Sankar T.V., Viswanathan Nair P.G. (2007): Heavy metal concentrations in fish, shellfish and fish products from internal markets of India vis-a-vis international standards. *Food Chemistry* 102: 612-620.
- Sorensen E.M.B. (1991): *Metal poisoning in fish: Environmental and Life Sciences Associates.* Boca Raton: CRC Press Inc.
- Speight J. (2005): *Handbook of coal analysis.* John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey
- Subotić S., Višnjić Jeftić Ž., Spasić S., Hegediš A., Krpo-Ćetković J., Lenhardt M. (2013): Distribution and accumulation of elements (As, Cu, Fe, Hg, Mn, and Zn) in tissues of fish species from different trophic levels in the Danube River at the confluence with the Sava River (Serbia). *Environmental Science and Pollution Research* 20: 5309-5317

Sunjog K., Kolarević S., Kračun-Kolarević M., Višnjic-Jeftić Ž., Skorić S., Gačić Z., Lenhardt M., Vasić N., Vuković-Gačić B. (2016): Assessment of status of three water bodies in Serbia based on tissue metal and metalloid concentration (ICP-OES) and genotoxicity (comet assay). *Environmental Pollution* 213: 600-607.

Svobodová Z. (1993): *Water Quality and Fish Health*. EIFAC technical paper, Italija.

USEPA (United States Environmental Protection Agency) (2004): Draft aquatic life water quality criteria for selenium. EPA-822-D-04-001. Washington, DC.

USEPA (United States Environmental Protection Agency) (2006): Framework for Developing Suspended and Bedded Sediments (SABS) Water Quality Criteria. EPA-822-R-06-001. Washington DC.

Velcheva I. (2006): Zinc content in the organ and tissues of freshwater fish from the Kardjali and Studen Kladenets Dam lakes in Bulgaria. *The Turkish Journal of Zoology* 30: 1–7.

Vinodhini R., Narayanan M. (2008): Bioaccumulations of heavy metals in organs of fresh water fish *Cyprinus carpio* (Common carp). *International Journal of Environmental Science and Technology* 5: 179-182.

Višnjic-Jeftić Ž., Jarić I., Skorić S., Smederevac-Lalić M., Nikčević M., Lenhardt M. (2010): Heavy metal and trace element accumulation in muscle, liver and gills of the Pontic shad (*Alosa immaculate* Bennet 1835) from the Danube River (Serbia). *Microchemical Journal* 95: 341–344.

Vorano T. (1997): *Istarski ugljenokopi, četiri stoljeća rudarenja u Istri*. Labin: Istarski ugljenokopi Tupljak, Hrvatska.

White C.M., Douglas L.J., Anderson R.R., Schmidt C.E., Gray R.J. (1990): Organosulfur constituents in Rasa coal. In *Geochemistry of sulfur in fossil fuels*. ACS Symposium Series; American Chemical Society 429: 261- 286.

Yacoub A.M., Gad N.S. (2012): Accumulation of some heavy metals and biochemical alterations in muscles of *Oreochromis niloticus* from the River Nile in Upper Egypt. *International Journal of Environmental Science and Technology* 3: 1-10.

Zaporowska H., Wasilewski W. (1992): Haematological effects of vanadium on living organisms. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 102: 223-231.

Zerunian S. (2004): Pesci delle acque interne d'Italia. Ministero Ambiente e Tutela Territorio. Istituto Nazionale Fauna Selvatica, str. 255-257.

Zrnčić S., Oraić D., Čaleta M, Mihaljević Ž., Zanella D., Bilandžić N. (2013): Biomonitoring of heavy metals in fish from the Danube River. *Environmental Monitoring and Assessment* 185: 1189-1198.

Zupančić P., Mrakovčić M., Marčić Z., Naseka A.M., Bogutskaya N.G. (2010): Identity of *Squalius* (Actinopterygii, Cyprinidae) from Istra Peninsula in Croatia (Adriatic Sea basin). *Zookeys* 53: 45-58.

## 7.2 Izvori

<http://istra.lzmk.hr> (Datum pristupa: 28.12.2020.)

<http://istrapedia.hr> (Datum pristupa: 28.12.2020.)

## 8. Prilozi

Prilog 1. Certificirane vrijednosti standardnih referentnih materijala za kontrolu kvalitete postupka pripreme i analize uzoraka mišićnog tkiva bijelog klena

Prilog 2. Certificirane vrijednosti standardnih referentnih materijala za kontrolu kvalitete postupka pripreme i analize uzoraka sedimenta

Prilog 3. Mann-Whitney U-test za ispitivanje razlika koncentracija elemenata u mišićnim tkivima između postaje P1 i P2

Prilog 4. Spearmanov koeficijent korelacije ovisnosti koncentracije elemenata u mišićnom tkivu bijelog klena o ukupnoj duljini uzoraka

Prilog 5. Spearmanov koeficijent korelacije ovisnosti koncentracije elemenata u mišićnom tkivu bijelog klena o težini uzoraka

Prilog 6. Mann-Whitney U-test za ispitivanje razlika koncentracija elemenata u sedimentu između postaje P1 i P2

Prilog 7. Najveće dopuštene količine ukupnog Cd, Hg i Pb u hrani prema Pravilniku o najvećim dopuštenim količinama određenih kontaminanata u hrani (NN 146/2012)

**Prilog 1. Certificirane vrijednosti standardnih referentnih materijala za kontrolu kvalitete postupka pripreme i analize uzoraka mišićnog tkiva bijelog klena**

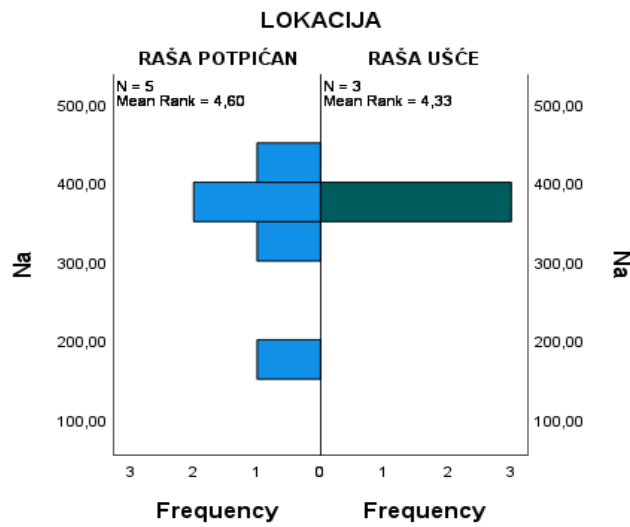
Element	DORM-2 (mg/kg)	IAEA-350 (mg/kg)	IAEA-407 (mg/kg)	IAEA-436a (mg/kg)
As	18 ± 1,1	5,28 (3,36 - 5,75)	12,6 (12,3 - 12,9)	1,98 ± 0,20
Ca	/	100 (72 - 191)	/	129 ± 16
Cd	0,043 ± 0,008	0,02 (0,014 - 0,026)	0,189 (0,185 - 0,193)	0,049 ± 0,0042
Co	0,182 ± 0,031	0,037 (0,026 - 0,059)	0,1 (0,09 - 0,11)	/
Cr	34,7 ± 5,5	0,65 (0,48 - 0,81)	0,73 (0,67 - 0,79)	/
Cu	2,34 ± 0,16	2,83 (2,55 - 3,10)	3,28 (3,20 - 3,36)	1,73 ± 0,19
Fe	142 ± 10	72,1 (66,7 - 77,3)	146 (143 - 149)	89,3 ± 6,5
Hg	4,64 ± 0,26	4,68 (4,36 - 4,91)	0,222 (0,216 - 0,228)	4,26 ± 0,36
K	/	/	/	/
Mg	/	/	/	/
Mn	3,66 ± 0,34	0,6 (0,52 - 0,74)	3,52 (3,44 - 3,60)	0,222 ± 0,026
Mo	/	/	/	/
Na	/	/	/	/
Ni	19,4 ± 3,1	0,32 (0,30 - 0,43)	0,60 (0,55 - 0,65)	/
Pb	0,065 ± 0,07	0,18 (0,05 - 0,20)	0,12 (0,10 - 0,14)	/
Se	1,40 ± 0,09	5,57 (4,42 - 5,97)	2,83 (2,70 - 2,96)	4,43 ± 0,41
Sr	/	/	130 (125 - 135)	0,530 ± 0,073
Tl	/	/	/	/
U	/	/	/	/
V	/	/	1,43 (1,34 - 1,52)	/
Zn	25,6 ± 2,3	17,4 (16,6 - 18,5)	67,10 (66,3 - 67,9)	18 ± 1,3

**Prilog 2. Certificirane vrijednosti standardnih referentnih materijala za kontrolu kvalitete postupka pripreme i analize uzoraka sedimenta**

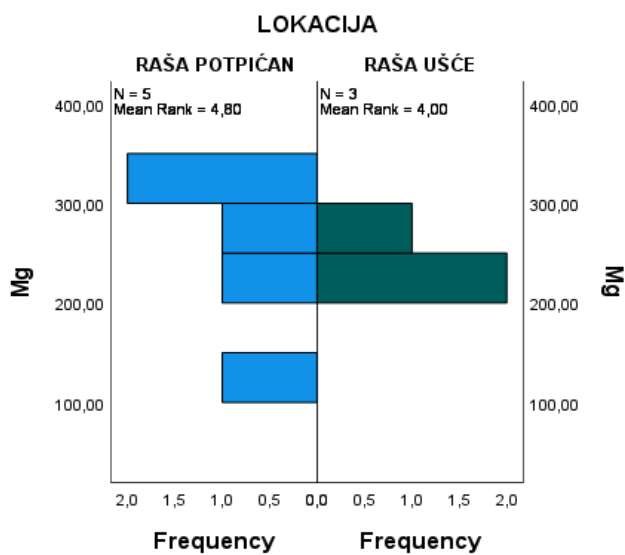
Element	NIST-2709 (mg/kg)	NRCC MESS-3 (mg/kg)	IAEA SL-1 (mg/kg)	IAEA-405 (mg/kg)
As	17,7 ± 0,8	21,2 ± 1,1	/	/
Ca	/	/	/	/
Cd	0,38 ± 0,01	0,24 ± 0,01	0,26 (0,21 - 0,31)	/
Co	/	14,4 ± 2,0	/	/
Cr	130 ± 4	105 ± 4	104 (95 - 113)	/
Cu	34,6 ± 0,7	33,9 ± 1,6	30 (24 - 36)	/
Fe	/	/	/	/
Hg	1,40 ± 0,08	0,091 ± 0,009	0,13 (0,08 - 0,18)	/
K	/	/	14500 (12400 - 16600)	24900 (17700 - 32100)
Mg	/	/	/	/
Mn	538 ± 17	324 ± 12	/	/
Mo	/	2,78 ± 0,07	/	/
Na	/		1700 (1600 - 1800)	/
Ni	88 ± 5	46,9 ± 2,2	44,9 (36,9 - 53,9)	/
Pb	18,9 ± 0,5	21,1 ± 0,7	37,7 (30,3 - 45,1)	/
Se	1,57 ± 0,08	0,72 ± 0,05	2,85 (1,31 - 4,37)	/
Sr	231 ± 2	129 ± 11	80 (37 - 123)	118 (104 - 132)
Tl	0,74 ± 0,05	0,90 ± 0,06	/	/
U	/	4	4	3.01 (1,86 - 4,16)
V	112 ± 5	243	243 ± 10	/
Zn	106 ± 3	159	159 ± 8	/



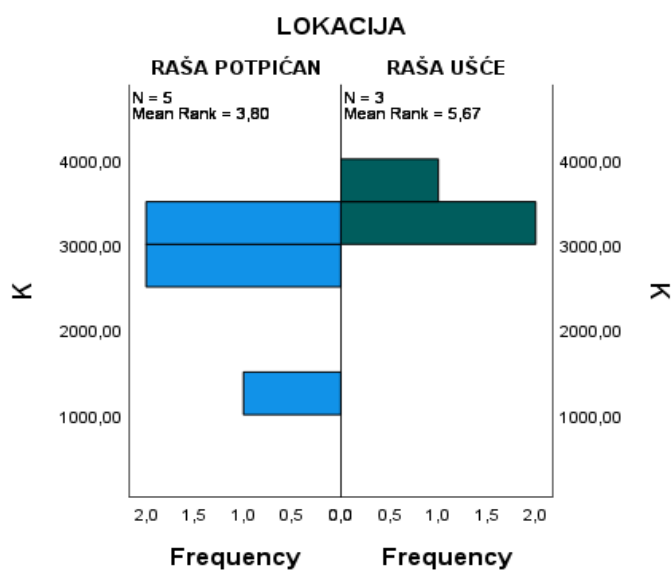
**Prilog 3. Mann-Whitney U-test za ispitivanje razlika koncentracija elemenata u mišićnim tkivima između postaje P1 i P2**



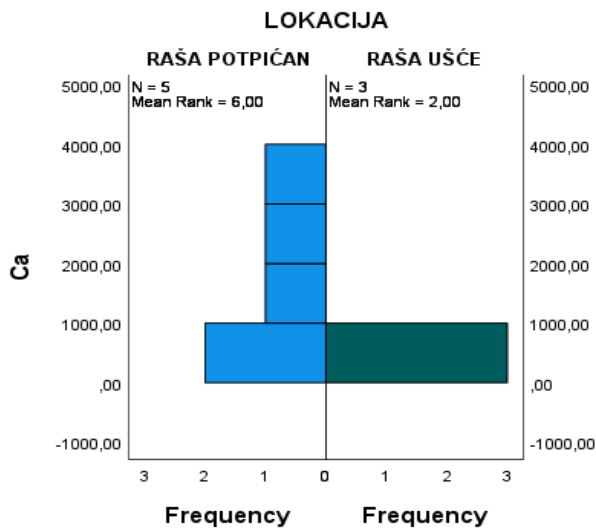
Total N	8
Mann-Whitney U	7,000
Wilcoxon W	13,000
Test Statistic	7,000
Standard Error	3,354
Standardized Test Statistic	-,149
Asymptotic Sig. (2-sided test)	,881
Exact Sig. (2-sided test)	1,000



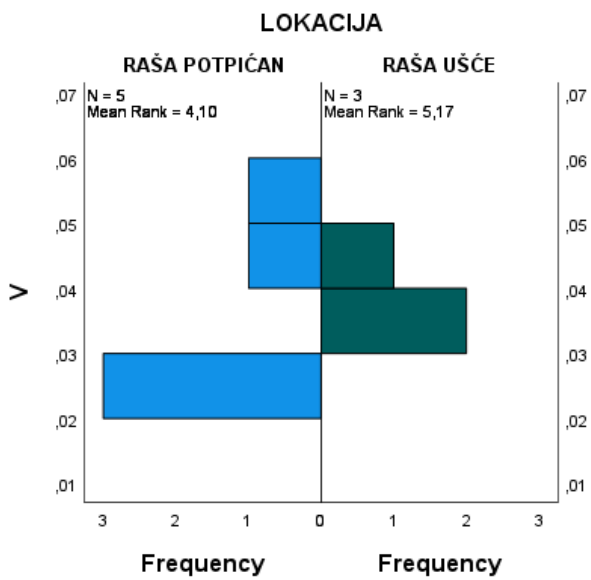
Total N	8
Mann-Whitney U	6,000
Wilcoxon W	12,000
Test Statistic	6,000
Standard Error	3,354
Standardized Test Statistic	-,447
Asymptotic Sig. (2-sided test)	,655
Exact Sig. (2-sided test)	,786



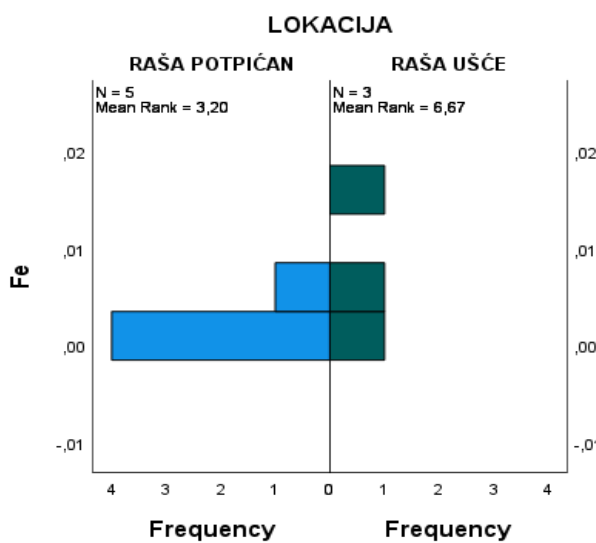
Total N	8
Mann-Whitney U	11,000
Wilcoxon W	17,000
Test Statistic	11,000
Standard Error	3,354
Standardized Test Statistic	1,043
Asymptotic Sig. (2-sided test)	,297
Exact Sig. (2-sided test)	,393



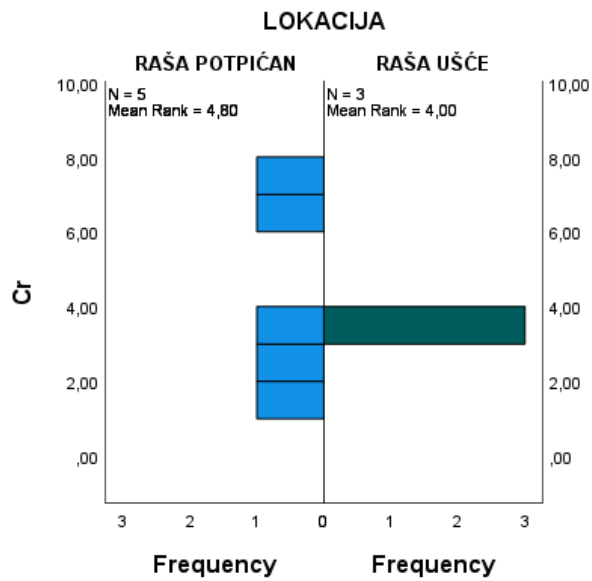
Total N	8
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Test Statistic	,000
Standard Error	3,354
Standardized Test Statistic	-2,236
Asymptotic Sig.(2-sided test)	,025
Exact Sig.(2-sided test)	,036



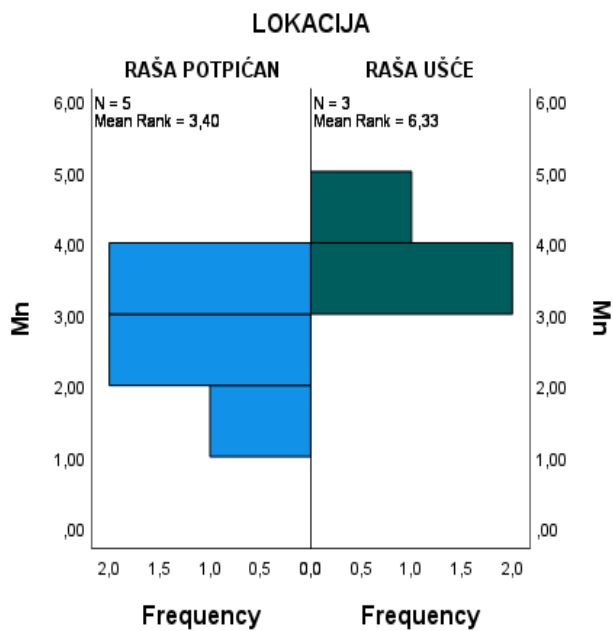
Total N	8
Mann-Whitney U	9,500
Wilcoxon W	15,500
Test Statistic	9,500
Standard Error	3,294
Standardized Test Statistic	,607
Asymptotic Sig.(2-sided test)	,544
Exact Sig.(2-sided test)	,571



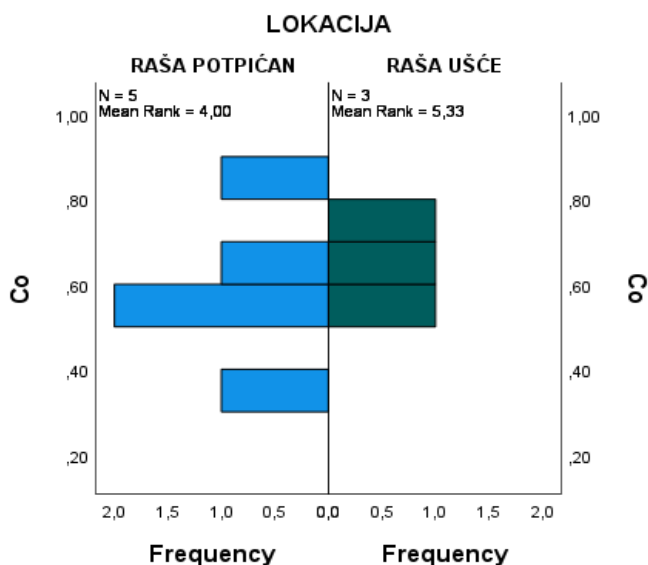
Total N	8
Mann-Whitney U	14,000
Wilcoxon W	20,000
Test Statistic	14,000
Standard Error	3,314
Standardized Test Statistic	1,961
Asymptotic Sig.(2-sided test)	,050
Exact Sig.(2-sided test)	,071



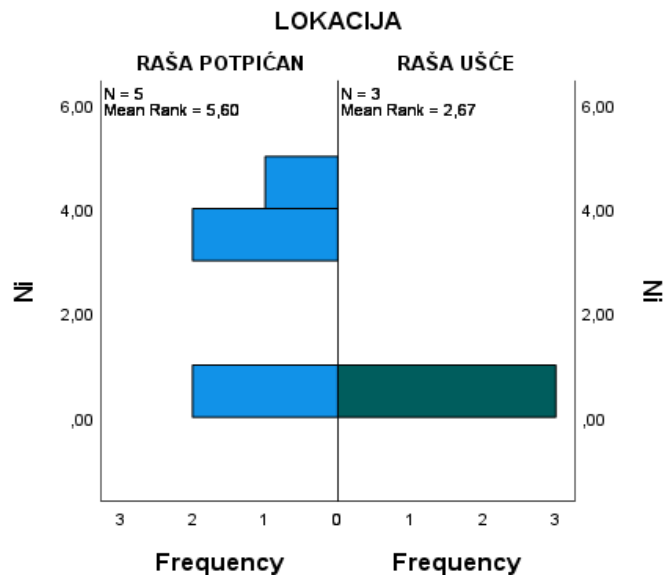
Total N	8
Mann-Whitney U	6,000
Wilcoxon W	12,000
Test Statistic	6,000
Standard Error	3,334
Standardized Test Statistic	-,450
Asymptotic Sig. (2-sided test)	,653
Exact Sig. (2-sided test)	,786



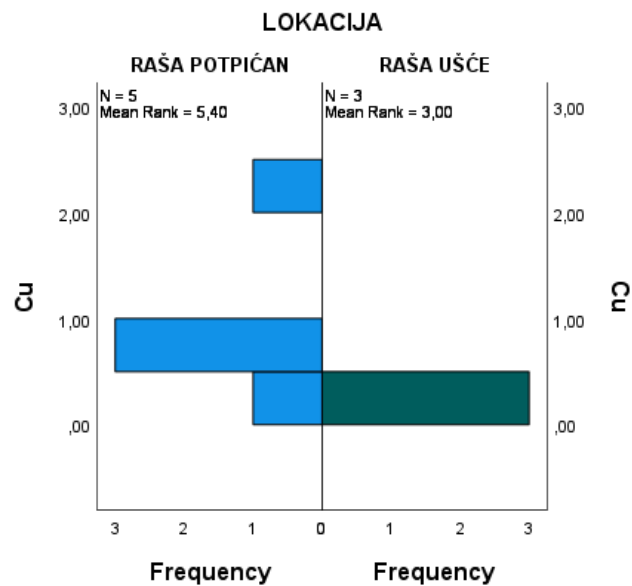
Total N	8
Mann-Whitney U	13,000
Wilcoxon W	19,000
Test Statistic	13,000
Standard Error	3,354
Standardized Test Statistic	1,640
Asymptotic Sig. (2-sided test)	,101
Exact Sig. (2-sided test)	,143



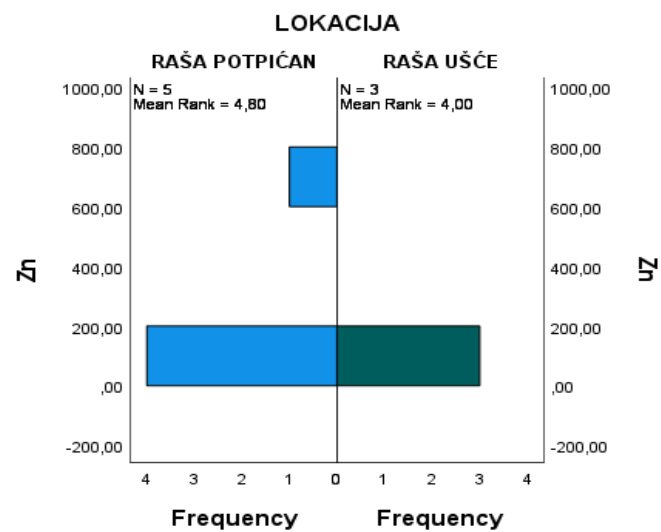
Total N	8
Mann-Whitney U	10,000
Wilcoxon W	16,000
Test Statistic	10,000
Standard Error	3,354
Standardized Test Statistic	,745
Asymptotic Sig. (2-sided test)	,456
Exact Sig. (2-sided test)	,571



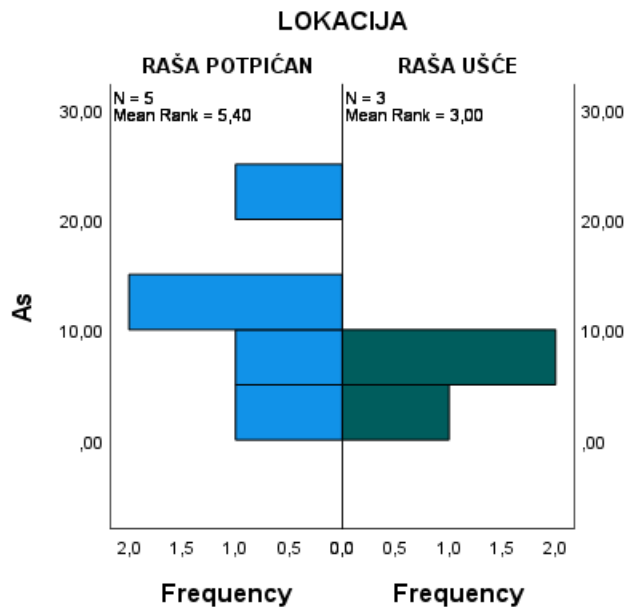
Total N	8
Mann-Whitney U	2,000
Wilcoxon W	8,000
Test Statistic	2,000
Standard Error	3,354
Standardized Test Statistic	-1,640
Asymptotic Sig.(2-sided test)	,101
Exact Sig.(2-sided test)	,143



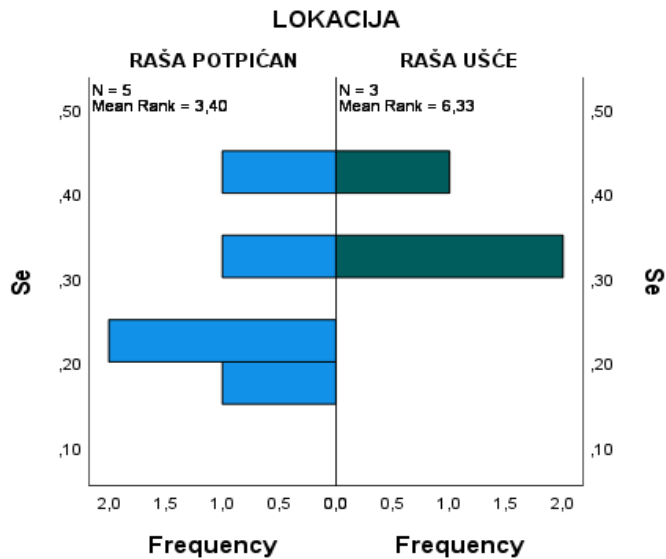
Total N	8
Mann-Whitney U	3,000
Wilcoxon W	9,000
Test Statistic	3,000
Standard Error	3,354
Standardized Test Statistic	-1,342
Asymptotic Sig.(2-sided test)	,180
Exact Sig.(2-sided test)	,250



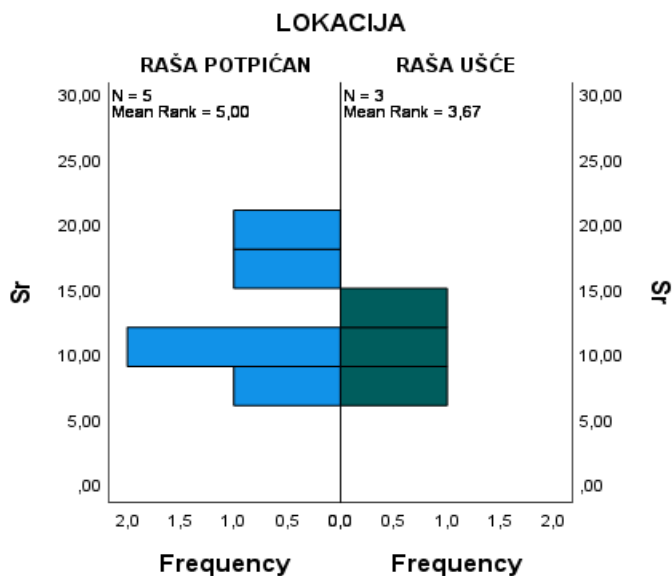
Total N	8
Mann-Whitney U	6,000
Wilcoxon W	12,000
Test Statistic	6,000
Standard Error	3,354
Standardized Test Statistic	-4,447
Asymptotic Sig.(2-sided test)	,655
Exact Sig.(2-sided test)	,786



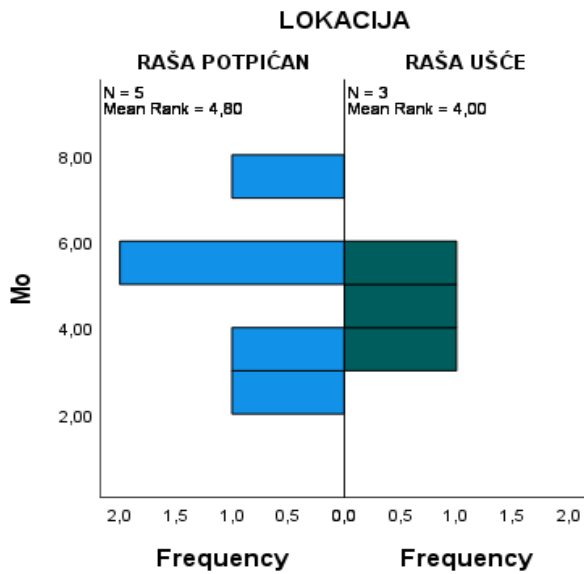
Total N	8
Mann-Whitney U	3,000
Wilcoxon W	9,000
Test Statistic	3,000
Standard Error	3,354
Standardized Test Statistic	-1,342
Asymptotic Sig. (2-sided test)	,180
Exact Sig. (2-sided test)	,250



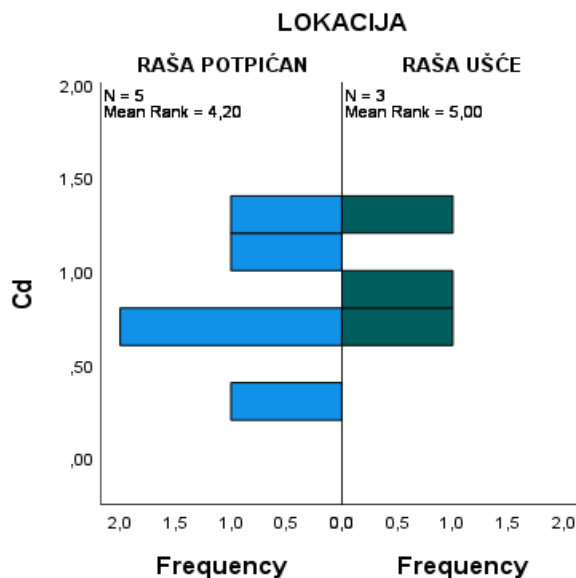
Total N	8
Mann-Whitney U	13,000
Wilcoxon W	19,000
Test Statistic	13,000
Standard Error	3,354
Standardized Test Statistic	1,640
Asymptotic Sig. (2-sided test)	,101
Exact Sig. (2-sided test)	,143



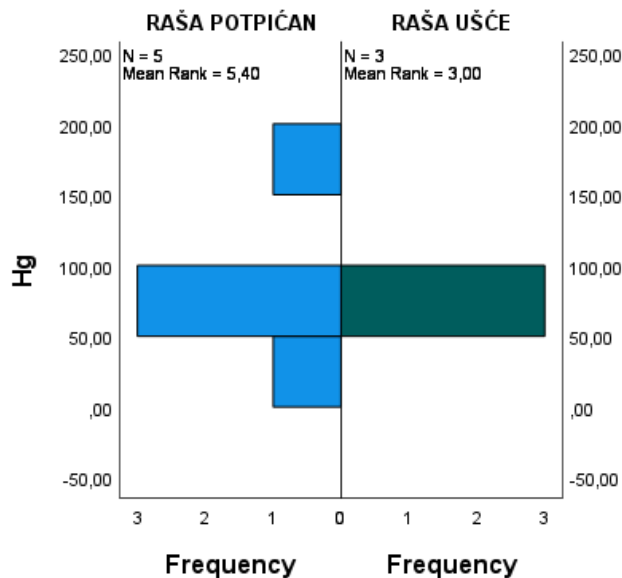
Total N	8
Mann-Whitney U	5,000
Wilcoxon W	11,000
Test Statistic	5,000
Standard Error	3,354
Standardized Test Statistic	-,745
Asymptotic Sig. (2-sided test)	,456
Exact Sig. (2-sided test)	,571



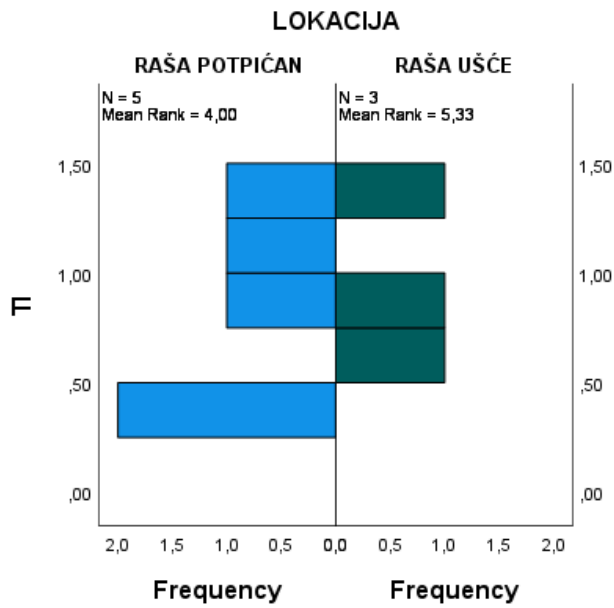
Total N	8
Mann-Whitney U	6,000
Wilcoxon W	12,000
Test Statistic	6,000
Standard Error	3,354
Standardized Test Statistic	-,447
Asymptotic Sig. (2-sided test)	,655
Exact Sig. (2-sided test)	,786



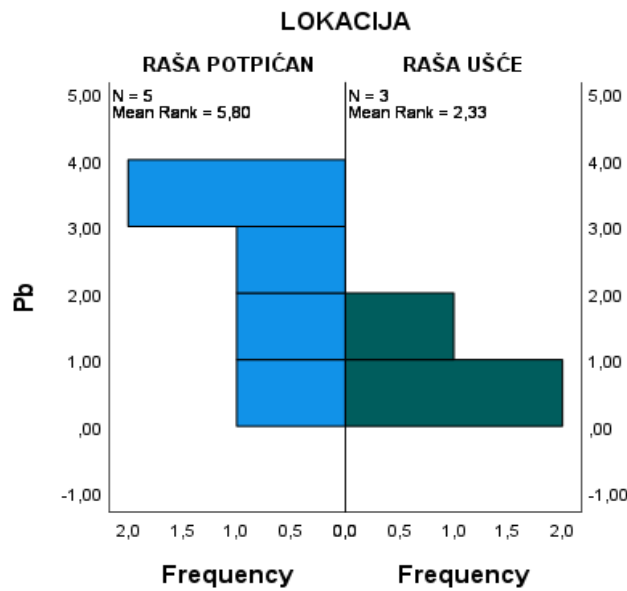
Total N	8
Mann-Whitney U	9,000
Wilcoxon W	15,000
Test Statistic	9,000
Standard Error	3,354
Standardized Test Statistic	,447
Asymptotic Sig. (2-sided test)	,655
Exact Sig. (2-sided test)	,786



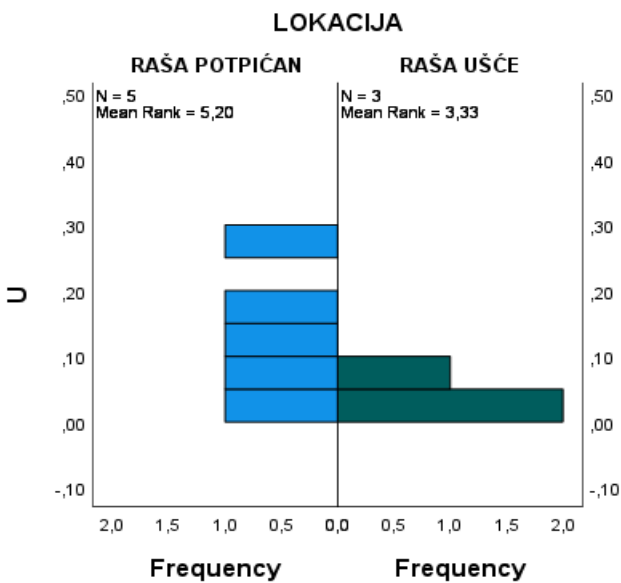
Total N	8
Mann-Whitney U	3,000
Wilcoxon W	9,000
Test Statistic	3,000
Standard Error	3,354
Standardized Test Statistic	-1,342
Asymptotic Sig. (2-sided test)	,180
Exact Sig. (2-sided test)	,250



Total N	8
Mann-Whitney U	10,000
Wilcoxon W	16,000
Test Statistic	10,000
Standard Error	3,354
Standardized Test Statistic	,745
Asymptotic Sig.(2-sided test)	,456
Exact Sig.(2-sided test)	,571



Total N	8
Mann-Whitney U	1,000
Wilcoxon W	7,000
Test Statistic	1,000
Standard Error	3,354
Standardized Test Statistic	-1,938
Asymptotic Sig.(2-sided test)	,053
Exact Sig.(2-sided test)	,071



Total N	8
Mann-Whitney U	4,000
Wilcoxon W	10,000
Test Statistic	4,000
Standard Error	3,354
Standardized Test Statistic	-1,043
Asymptotic Sig.(2-sided test)	,297
Exact Sig.(2-sided test)	,393

**Prilog 4. Spearmanov koeficijent korelacije ovisnosti koncentracije elemenata u mišićnom tkivu bijelog klena o težini uzoraka**

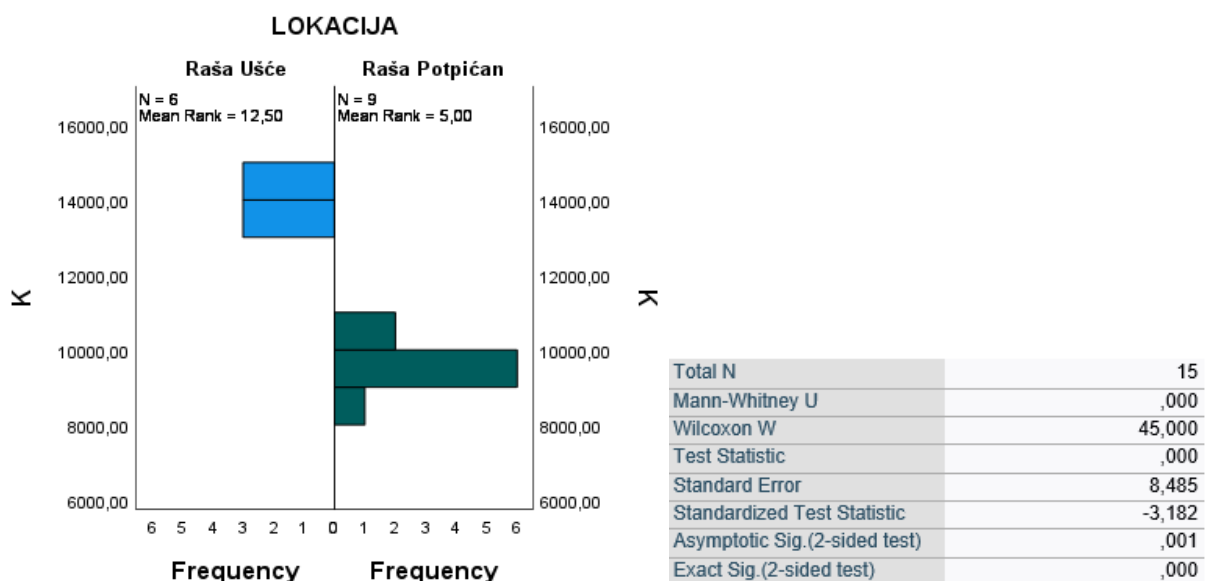
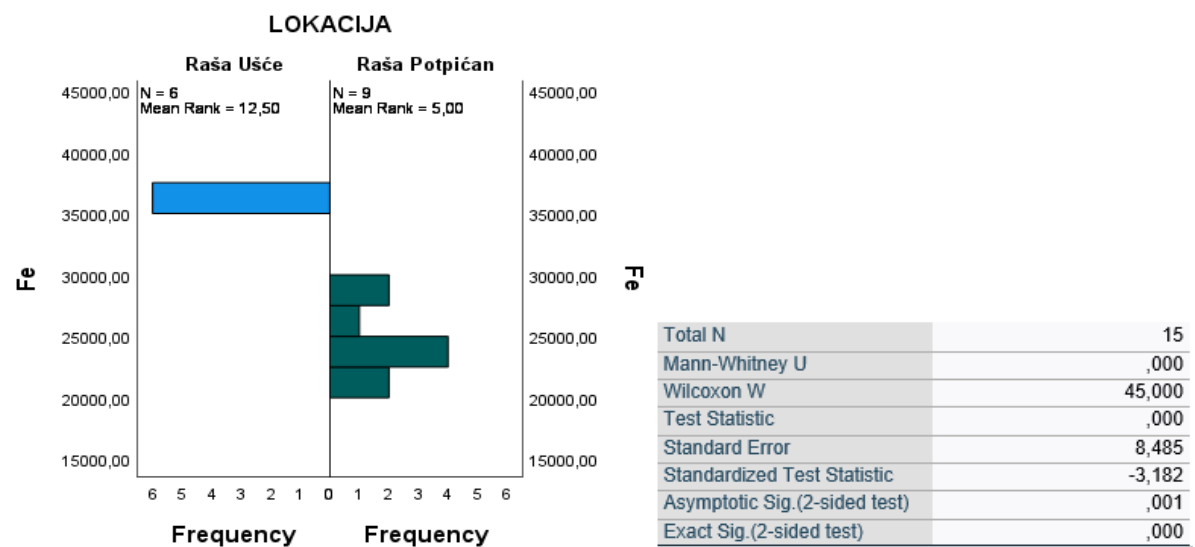
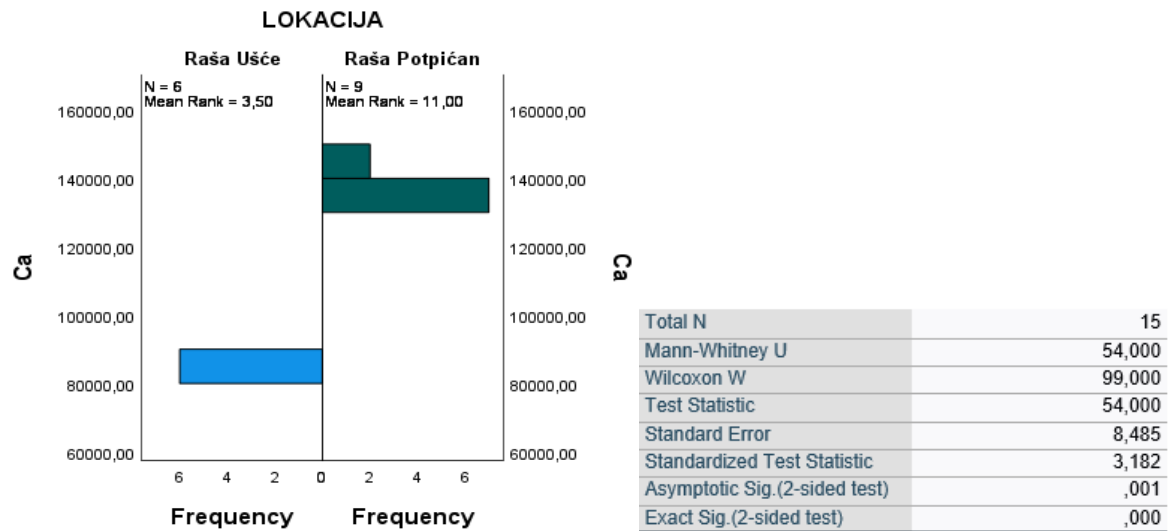
Varijable	Spearman Rank Order Correlations MD pairwise deleted Marked correlations are significant at p			
	Valid N	Spearman R	t(N-2)	p-value
Težina ribe (g) & Na	8	-0.095238	-0.23435	0.822505
Težina ribe (g) & Mg	8	0.095238	0.23435	0.822505
Težina ribe (g) & K	8	<b>0.857143</b>	<b>4.07620</b>	<b>0.006530</b>
Težina ribe (g) & Ca	8	<b>-0.833333</b>	<b>-3.69274</b>	<b>0.010176</b>
Težina ribe (g) & Cr	8	0.309524	0.79733	0.455645
Težina ribe (g) & Fe	8	<b>0.857143</b>	<b>4.07620</b>	<b>0.006530</b>
Težina ribe (g) & Mn	8	<b>-0.833333</b>	<b>-3.69274</b>	<b>0.010176</b>
Težina ribe (g) & Cu	8	0.285714	0.73030	0.492726
Težina ribe (g) & Zn	8	-0.476190	-1.32647	0.232936
Težina ribe (g) & As	8	0.047619	0.11677	0.910849
Težina ribe (g) & Se	8	0.285714	0.73030	0.492726
Težina ribe (g) & Sr	8	<b>-0.738095</b>	<b>-2.67966</b>	<b>0.036553</b>
Težina ribe (g) & V	8	-0.571429	-1.70561	0.138960
Težina ribe (g) & Co	8	<b>-0.714286</b>	<b>-2.50000</b>	<b>0.046528</b>
Težina ribe (g) & Ni	8	<b>-0.904762</b>	<b>-5.20336</b>	<b>0.002008</b>
Težina ribe (g) & Mo	8	-0.595238	-1.81449	0.119530
Težina ribe (g) & Cd	8	-0.500000	-1.41421	0.207031
Težina ribe (g) & Hg	8	-0.190476	-0.47527	0.651401
Težina ribe (g) & Tl	8	-0.214286	-0.53737	0.610344
Težina ribe (g) & Pb	8	<b>-0.714286</b>	<b>-2.50000</b>	<b>0.046528</b>
Težina ribe (g) & U	8	-0.619048	-1.93079	0.101733

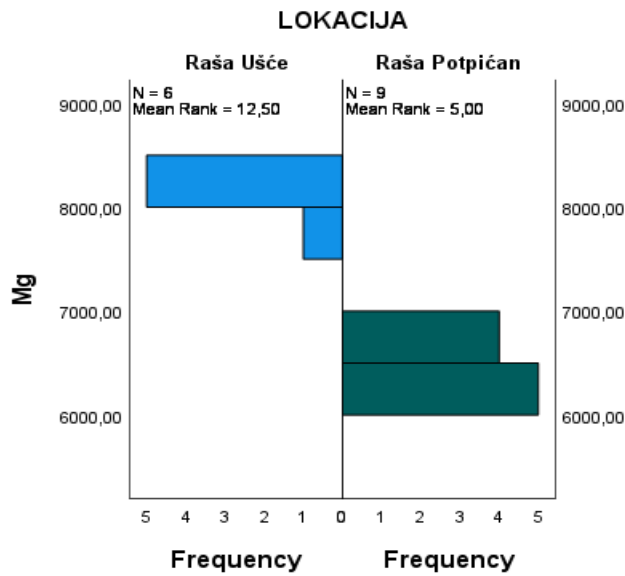


**Prilog 5. Spearmanov koeficijent korelacije ovisnosti koncentracije elemenata u mišićnom tkivu bijelog klena o ukupnoj duljini uzoraka**

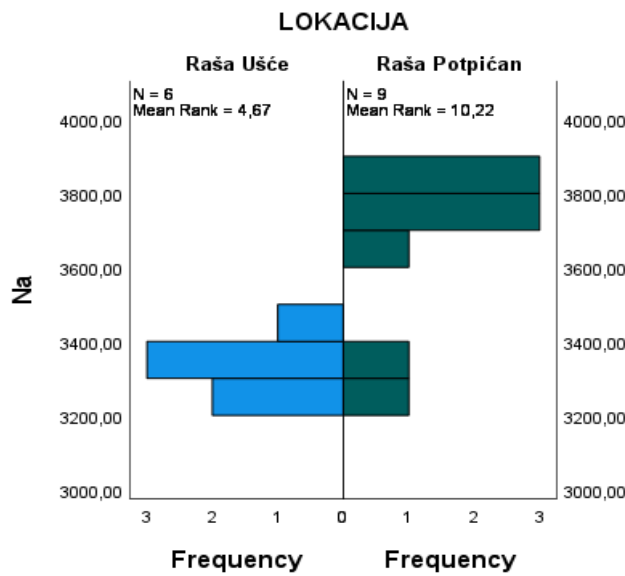
Varijable	Spearman Rank Order Correlations MD pairwise deleted Marked correlations are significant at p			
	Valid N	Spearman R	t(N-2)	p-value
Dužina ribe (cm) & Na	8	-0.095238	-0.23435	0.822505
Dužina ribe (cm) & Mg	8	0.095238	0.23435	0.822505
Dužina ribe (cm) & K	8	<b>0.857143</b>	<b>4.07620</b>	<b>0.006530</b>
Dužina ribe (cm) & Ca	8	<b>-0.833333</b>	<b>-3.69274</b>	<b>0.010176</b>
Dužina ribe (cm) & Cr	8	0.309524	0.79733	0.455645
Dužina ribe (cm) & Fe	8	<b>0.857143</b>	<b>4.07620</b>	<b>0.006530</b>
Dužina ribe (cm) & Mn	8	<b>-0.833333</b>	<b>-3.69274</b>	<b>0.010176</b>
Dužina ribe (cm) & Cu	8	0.285714	0.73030	0.492726
Dužina ribe (cm) & Zn	8	-0.476190	-1.32647	0.232936
Dužina ribe (cm) & As	8	0.047619	0.11677	0.910849
Dužina ribe (cm) & Se	8	0.285714	0.73030	0.492726
Dužina ribe (cm) & Sr	8	<b>-0.738095</b>	<b>-2.67966</b>	<b>0.036553</b>
Dužina ribe (cm) & V	8	-0.571429	-1.70561	0.138960
Dužina ribe (cm) & Co	8	<b>-0.714286</b>	<b>-2.50000</b>	<b>0.046528</b>
Dužina ribe (cm) & Ni	8	<b>-0.904762</b>	<b>-5.20336</b>	<b>0.002008</b>
Dužina ribe (cm) & Mo	8	-0.595238	-1.81449	0.119530
Dužina ribe (cm) & Cd	8	-0.500000	-1.41421	0.207031
Dužina ribe (cm) & Hg	8	-0.190476	-0.47527	0.651401
Dužina ribe (cm) & Tl	8	-0.214286	-0.53737	0.610344
Dužina ribe (cm) & Pb	8	<b>-0.714286</b>	<b>-2.50000</b>	<b>0.046528</b>
Dužina ribe (cm) & U	8	-0.619048	-1.93079	0.101733

**Prilog 6. Mann-Whitney U-test za ispitivanje razlika koncentracija elemenata u sedimentu između postaje P1 i P2**

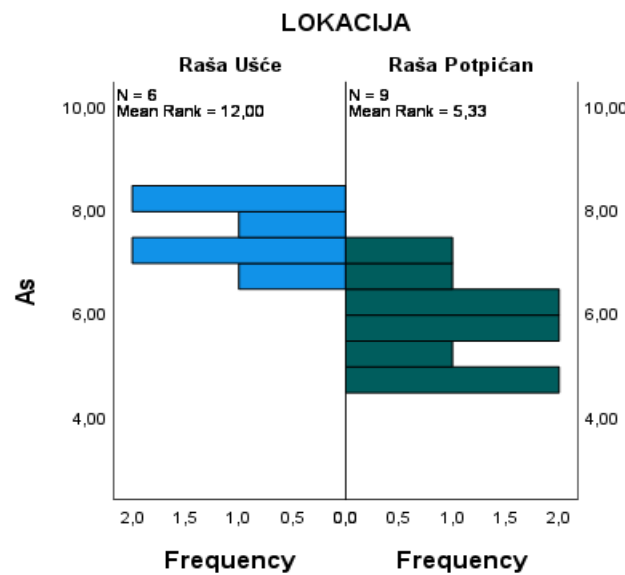




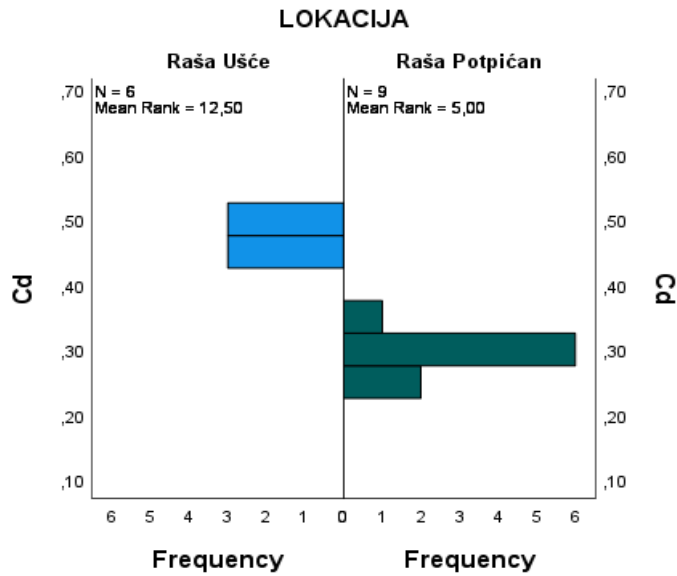
Total N	15
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	45,000
Test Statistic	,000
Standard Error	8,485
Standardized Test Statistic	-3,182
Asymptotic Sig. (2-sided test)	,001
Exact Sig. (2-sided test)	,000



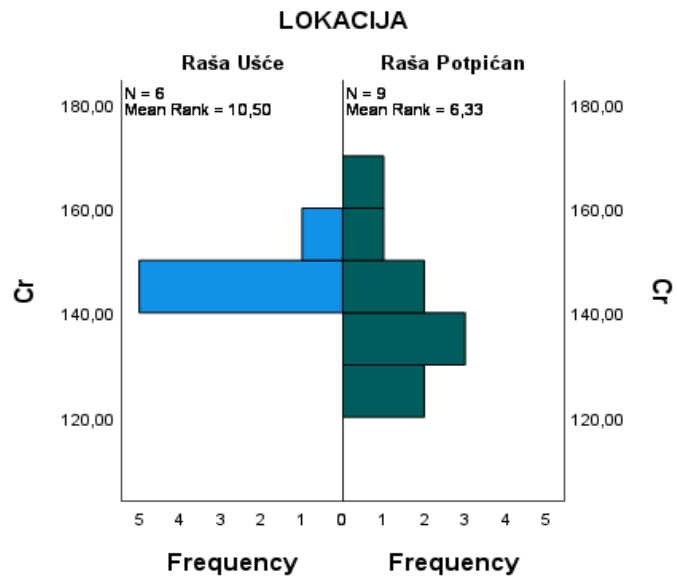
Total N	15
Mann-Whitney U	47,000
Wilcoxon W	92,000
Test Statistic	47,000
Standard Error	8,485
Standardized Test Statistic	2,357
Asymptotic Sig. (2-sided test)	,018
Exact Sig. (2-sided test)	,018



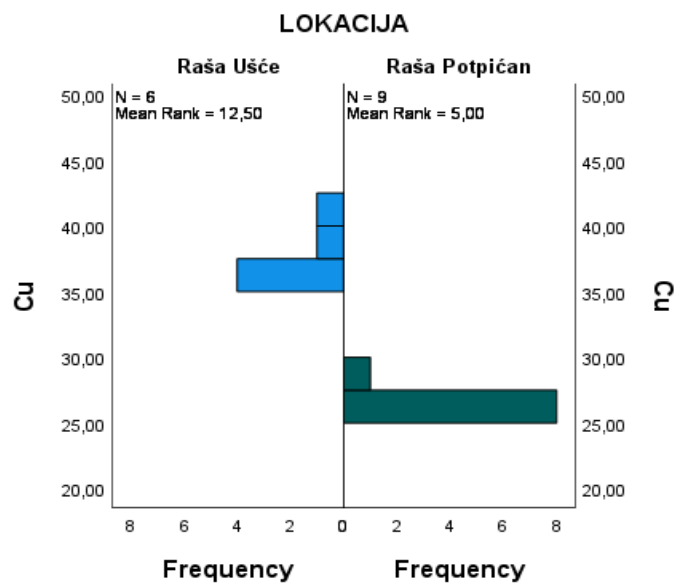
Total N	15
Mann-Whitney U	3,000
Wilcoxon W	48,000
Test Statistic	3,000
Standard Error	8,485
Standardized Test Statistic	-2,828
Asymptotic Sig. (2-sided test)	,005
Exact Sig. (2-sided test)	,003



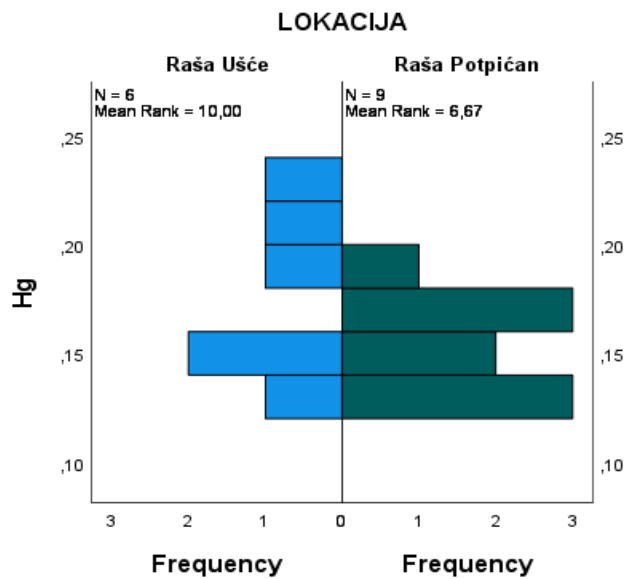
Total N	15
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	45,000
Test Statistic	,000
Standard Error	8,463
Standardized Test Statistic	-3,191
Asymptotic Sig.(2-sided test)	,001
Exact Sig.(2-sided test)	,000



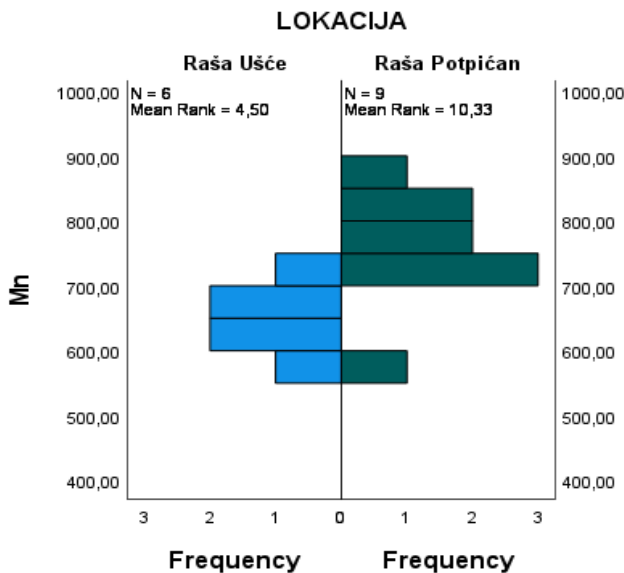
Total N	15
Mann-Whitney U	12,000
Wilcoxon W	57,000
Test Statistic	12,000
Standard Error	8,485
Standardized Test Statistic	-1,768
Asymptotic Sig.(2-sided test)	,077
Exact Sig.(2-sided test)	,088



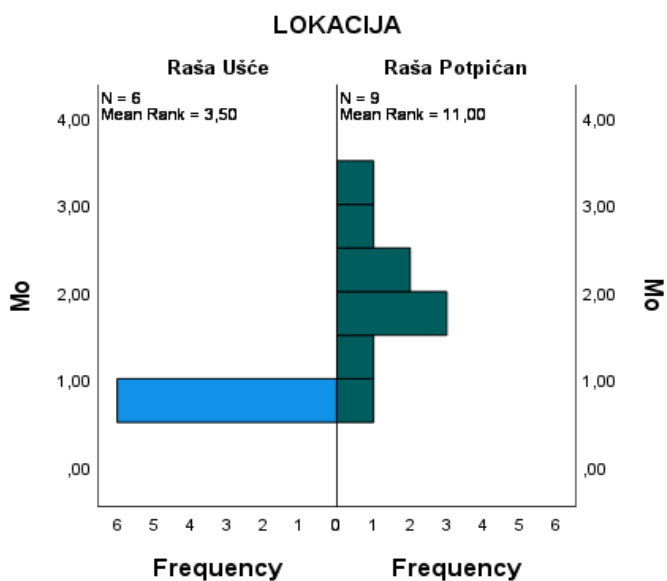
Total N	15
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	45,000
Test Statistic	,000
Standard Error	8,463
Standardized Test Statistic	-3,191
Asymptotic Sig.(2-sided test)	,001
Exact Sig.(2-sided test)	,000



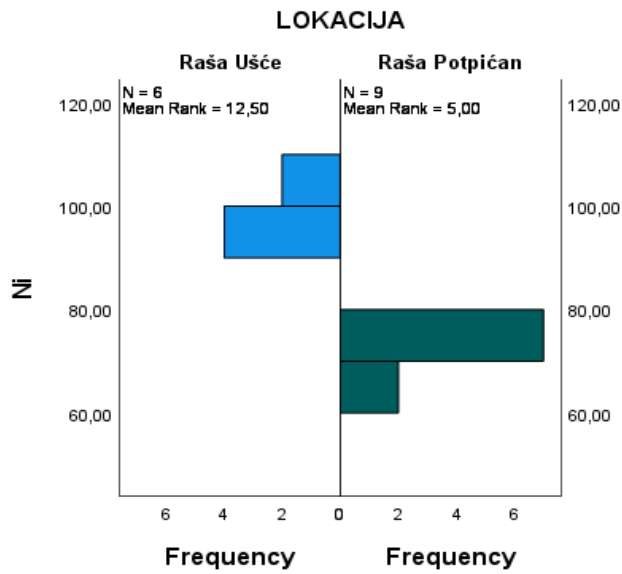
Total N	15
Mann-Whitney U	15,000
Wilcoxon W	60,000
Test Statistic	15,000
Standard Error	8,485
Standardized Test Statistic	-1,414
Asymptotic Sig.(2-sided test)	,157
Exact Sig.(2-sided test)	,181



Total N	15
Mann-Whitney U	48,000
Wilcoxon W	93,000
Test Statistic	48,000
Standard Error	8,485
Standardized Test Statistic	2,475
Asymptotic Sig.(2-sided test)	,013
Exact Sig.(2-sided test)	,012

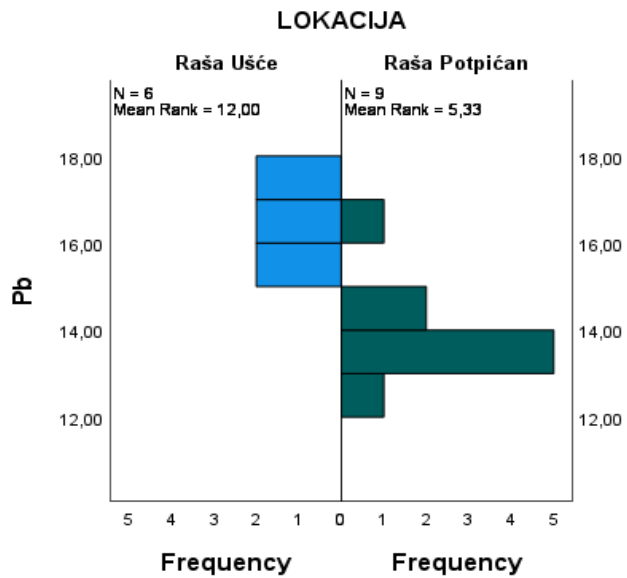


Total N	15
Mann-Whitney U	54,000
Wilcoxon W	99,000
Test Statistic	54,000
Standard Error	8,478
Standardized Test Statistic	3,185
Asymptotic Sig.(2-sided test)	,001
Exact Sig.(2-sided test)	,000



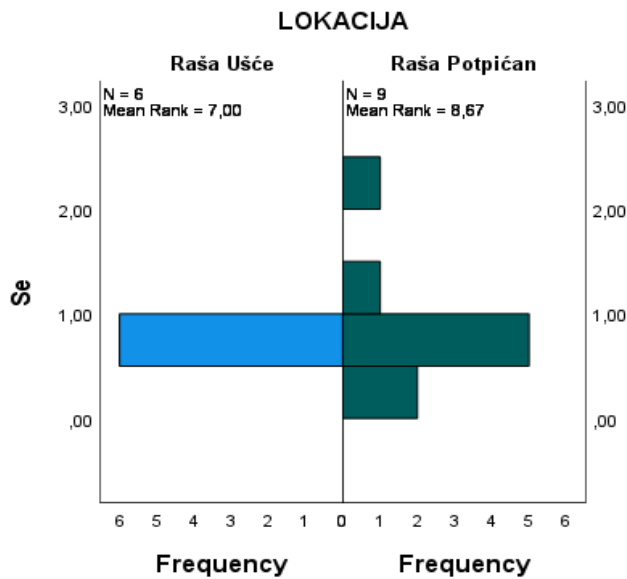
Ni

Total N	15
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	45,000
Test Statistic	,000
Standard Error	8,485
Standardized Test Statistic	-3,182
Asymptotic Sig. (2-sided test)	,001
Exact Sig. (2-sided test)	,000



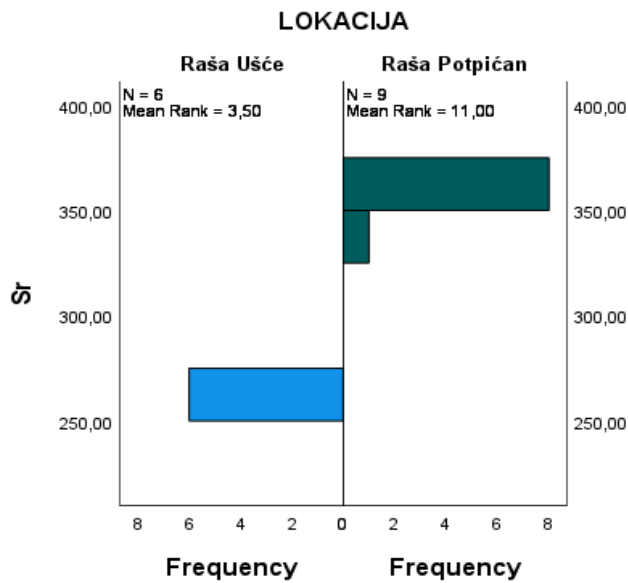
Pb

Total N	15
Mann-Whitney U	3,000
Wilcoxon W	48,000
Test Statistic	3,000
Standard Error	8,485
Standardized Test Statistic	-2,828
Asymptotic Sig. (2-sided test)	,005
Exact Sig. (2-sided test)	,003

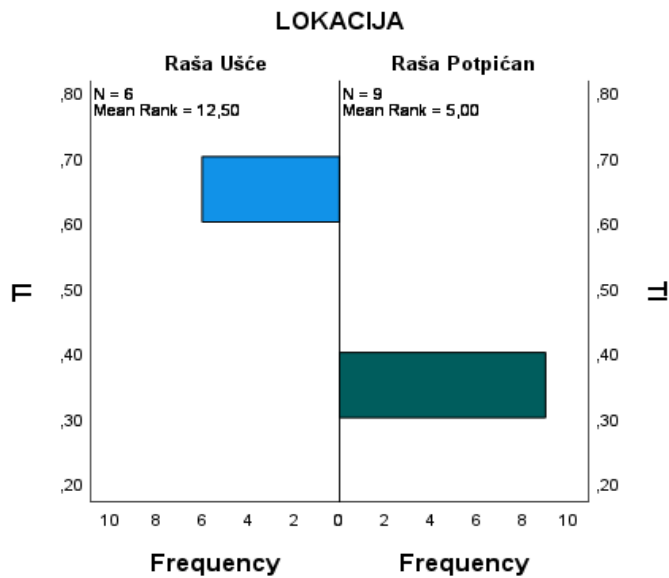


Se

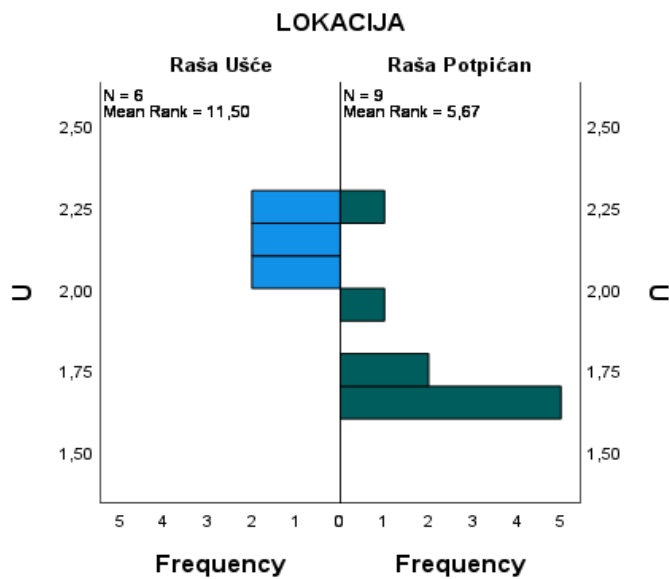
Total N	15
Mann-Whitney U	33,000
Wilcoxon W	78,000
Test Statistic	33,000
Standard Error	8,485
Standardized Test Statistic	,707
Asymptotic Sig. (2-sided test)	,480
Exact Sig. (2-sided test)	,529



Total N	15
Mann-Whitney U	54,000
Wilcoxon W	99,000
Test Statistic	54,000
Standard Error	8,485
Standardized Test Statistic	3,182
Asymptotic Sig.(2-sided test)	,001
Exact Sig.(2-sided test)	,000

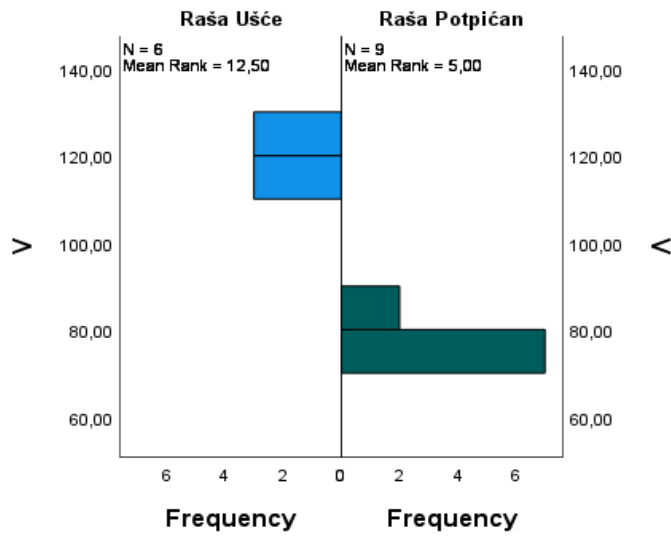


Total N	15
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	45,000
Test Statistic	,000
Standard Error	8,485
Standardized Test Statistic	-3,182
Asymptotic Sig.(2-sided test)	,001
Exact Sig.(2-sided test)	,000



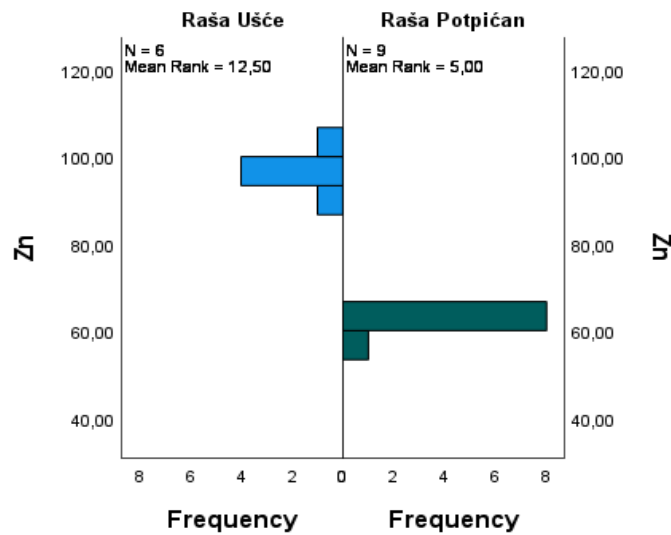
Total N	15
Mann-Whitney U	6,000
Wilcoxon W	51,000
Test Statistic	6,000
Standard Error	8,463
Standardized Test Statistic	-2,482
Asymptotic Sig.(2-sided test)	,013
Exact Sig.(2-sided test)	,012

### LOKACIJA



Total N	15
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	45,000
Test Statistic	,000
Standard Error	8,485
Standardized Test Statistic	-3,182
Asymptotic Sig.(2-sided test)	,001
Exact Sig.(2-sided test)	,000

### LOKACIJA



Total N	15
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	45,000
Test Statistic	,000
Standard Error	8,478
Standardized Test Statistic	-3,185
Asymptotic Sig.(2-sided test)	,001
Exact Sig.(2-sided test)	,000



**Prilog 7. Najveće dopuštene količine ukupnog Cd, Hg i Pb u hrani prema Pravilniku o najvećim dopuštenim količinama određenih kontaminanata u hrani (NN 146/2012)**

<b>Element</b>	<b>Najveće dopuštene količine (mg/kg mokre mase)</b>
<b>Cd</b>	0,10
<b>Hg</b>	1,0
<b>Pb</b>	0,3

## Životopis

Rođena sam 29. ožujka 1996. godine u Rijeci. Osnovnu školu „Osnovna škola Zvonka Cara“ pohađala sam u Crikvenici nakon koje sam završila srednju školu „Prirodoslovno-grafička škola Rijeka“ smjera Ekološkog tehničara. Nakon srednje škole upisala sam preddiplomski studij Znanost o moru na Sveučilištu Jurja Dobrile u Puli gdje sam stekla titulu univ. bacc. mariscient sa temom „*Nematopsis* sp. u probavnim žlijezdama dagnji *Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819“ pod vodstvom mentorice doc. dr. sc. Emine Pustijanac i komentorice doc. dr. sc. Ines Kovačić. Nakon završenog preddiplomskog studija upisala sam diplomski studij Ekologija i zaštita prirode modul more na Prirodoslovno - matematičkom fakultetu u Zagrebu. Koautorica sam jednog znanstvenog rada:

Kovačić I., Pustijanac E., Ramšak A., Šebešćen D., Lipić S. (2018): Variation of parasite and fungi infection between farmed and wild mussels (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819) from the Adriatic Sea. Journal of the Marine Biological Association of the UK 98(8): 1-9.