



Sveučilište u Zagrebu

Prirodoslovno–matematički fakultet

Geološki odsjek

Antonija Bulić

**SPEKTROSKOPSKE I
KROMATOGRAFSKE METODE U
EVALUACIJI EKOLOŠKOG STATUSA
JUŽNOG JADRANA**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2026.



Sveučilište u Zagrebu

Prirodoslovno–matematički fakultet

Geološki odsjek

Antonija Bulić

**SPEKTROSKOPSKE I
KROMATOGRAFSKE METODE U
EVALUACIJI EKOLOŠKOG STATUSA
JUŽNOG JADRANA**

DOKTORSKI RAD

Mentor:

Dr.sc. Ivana Ujević, znanstvena savjetnica u trajnom izboru

Zagreb, 2026.



University of Zagreb

Faculty of Science

Department of Geology

Antonija Bulić

**SPECTROSCOPIC AND
CHROMATOGRAPHIC METHODS IN THE
EVALUATION OF THE ECOLOGICAL
STATUS OF THE SOUTHERN ADRIATIC
SEA**

DOCTORAL DISSERTATION

Mentor:

Ivana Ujević, PhD, Scientific advisor

Zagreb, 2026.

Ova disertacija izrađena je na Institutu za oceanografiju i ribarstvo u Splitu, pod vodstvom dr. sc. Ivane Ujević.

Zahvale

Iskreno zahvaljujem svojoj mentorici, dr. sc. Ivani Ujević, na podršci, stručnom vodstvu, strpljenju i razumijevanju tijekom izrade ove disertacije. Zahvalna sam joj na svakom savjetu, ohrabrenju i ukazanom povjerenju, kao i na spremnosti da svojim znanjem, iskustvom i predanošću usmjerava moj znanstveni rad.

Posebnu zahvalnost upućujem članovima Povjerenstva za ocjenu doktorske disertacije, prof. dr. sc. Domagoju Đikiću, dr. sc. Jeleni Lušić i izv. prof. dr. sc. Stjepanu Orhanoviću, na vremenu i trudu uložanima u pažljivo čitanje rada te na konstruktivnim komentarima, stručnim savjetima i korisnim prijedlozima koji su pridonijeli njegovu konačnom oblikovanju.

Dodatno zahvaljujem dr. sc. Jeleni Lušić na stručnim savjetima te pomoći pri pripremi i razgradnji uzoraka sedimenta i školjkaša, kao i pri mjerenju metala.

Dodatno zahvaljujem prof. dr. sc. Stjepanu Orhanoviću što me strpljivo uveo u rad na QTOF instrumentu, omogućio mi njegovo korištenje te nesebično dijelio svoje znanje i iskustvo. Njegova susretljivost i spremnost da pomogne bile su mi od iznimne važnosti tijekom izrade ovog rada.

Posebno zahvaljujem i kolegici Ivani Žaper na brojnim korisnim savjetima, nesebičnoj pomoći i bezuvjetnoj podršci.

Veliko hvala dr. sc. Danijeli Bogner na pomoći pri mjerenju fizikalno-kemijskih parametara sedimenta te na stručnim savjetima i susretljivosti.

Zahvaljujem izv. prof. dr. sc. Kristini Pikelj na korisnim stručnim savjetima, susretljivosti i spremnosti da svojim znanjem i iskustvom pomogne kada god je to bilo potrebno.

Zahvaljujem kolegicama i kolegama iz Laboratorija za plankton i toksičnost školjkaša na suradnji, pomoći i ugodnom radnom ozračju. Posebno hvala kolegi Romanu Garberu na pomoći prilikom uzorkovanja.

Veliko hvala svim prijateljima koji su me strpljivo čekali „minutu po minutu”, odgađali planirane kave i imali razumijevanja za moje obveze tijekom izrade ove disertacije.

Na kraju, posebnu i najveću zahvalnost dugujem svojoj obitelji, a osobito roditeljima, koji su uvijek bili uz mene. Hvala im na bezuvjetnom razumijevanju, strpljenju, ohrabrenju i neizmjernoj podršci tijekom svih godina mog obrazovanja i rada.

Informacije o mentoru

Dr. sc. Ivana Ujević zaposlena je na Institutu za oceanografiju i ribarstvo u Splitu u zvanju znanstvene savjetnice u trajnom izboru. Njezin dosadašnji znanstveni rad usmjeren je na istraživanje morskih biotoksina, toksičnosti školjkaša i riba te kemijskog onečišćenja morskog okoliša. Njezina istraživanja obuhvaćaju određivanje biotoksina, bisfenola A i metala u sedimentu, suspendiranoj tvari i morskim organizmima te razvoj i primjenu LC-MS i UHPLC metoda. Autorica je ili koautorica 49 izvornih znanstvenih radova indeksiranih u bazi Web of Science Core Collection, od kojih je 18 objavljeno u časopisima prvoga kvartila (Q1), a osam u časopisima drugoga kvartila (Q2), dok je na 34 rada glavni autor. Među njezinim znanstvenim doprinosima ističu se istraživanja raspodjele domoične kiseline u mekom tkivu školjkaša iz Jadrana te određivanja profila PSP toksina, pri čemu je identificiran saksitoksin kao glavni predstavnik te skupine biotoksina. Sudjelovala je na brojnim nacionalnim i međunarodnim znanstveno-istraživačkim projektima, kao što su MARIPLAN, AnGEL i PSEUDOTOX. Vodila je projekt Ministarstva znanosti i obrazovanja „Studija fitoplanktonskih toksina u školjkašima” te projekt CASCADE (2020. – 2022.).

Članica je uredničkog odbora časopisa Acta Adriatica te recenzentica brojnih međunarodnih znanstvenih časopisa među kojima su Environmental Science and Pollution Research, Science of the Total Environment, Environmental Pollution, Water Research, Marine Drugs, Chemosphere, Toxicon i drugi. Ostvarila je suradnje s brojnim znanstvenim institucijama u Hrvatskoj i inozemstvu, kao što su Institut Ruđer Bošković, Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada, Nacionalni institut za biologiju u Ljubljani, Sveučilište u Palermu, Babes-Bolyai University u Rumunjskoj te National Council for Scientific Research u Libanonu. U okviru mentorskog rada bila je mentorica triju doktorskih disertacija i jednoga znanstvenog magistarskog rada iz kojih je proizašlo više zajedničkih znanstvenih publikacija, a trenutačno je mentorica još dviju doktorskih disertacija. Aktivno sudjeluje u izobrazbi mladih istraživača kroz znanstvene projekte, zajedničke publikacije i sudjelovanje na domaćim i međunarodnim znanstvenim skupovima.

**SPEKTROSKOPSKE I KROMATOGRAFSKE METODE U EVALUACIJI
EKOLOŠKOG STATUSA JUŽNOG JADRANA**

Antonija Bulić

Institut za oceanografiju i ribarstvo, Split

Istraženi su metali i policiklički aromatski ugljikovodici (PAH-ovi) u sedimentima i dagnjama (*Mytilus galloprovincialis*) Malostonskog zaljeva i ušća Neretve te biotoksini u dagnjama s istih područja. Određeni su sastav veličine zrna sedimenta te udjeli organske tvari i karbonata. Rezultati pokazuju da su sitnozrnati sediment i viši udio organske tvari povezani s višim masenim udjelima većine metala i PAH-ova u sedimentu. Sediment Malostonskog zaljeva bio je sitnozrnati, bogatiji organskom tvari, uz više masene udjele Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Hg, Pb i PAH-ova, dok je Cd bio neznatno viši u sedimentu ušća Neretve. U dagnjama Malostonskog zaljeva bili su viši maseni udjeli Zn, Cd, Pb, Hg, DahA, BghiP i IcdP, a u dagnjama ušća Neretve Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Naph, Flu, Phe, Ant, Pyr, BaA, Chr, BkF, BaP, Flt i BbF. U dagnjama istraživanih područja potvrđena je prisutnost gimnodimina A (GYM A), spirovida 1 (SPX 1), jesotoksina (YTX), pinatoksina G (PnTX G), 13-desmetil SPX D i izomera GYM A. Nakupljanje biotoksina u dagnjama nije bilo statistički značajno povezano s masenim udjelima metala i PAH-ova, osim što je za YTX utvrđena negativna povezanost s BbF-om i Fe-om. Procjena kakvoće sedimenta pokazala je da se mogućnost nepovoljnih učinaka na bentičke organizme ponajprije povezuje s masenim udjelima Cr i Ni, dok je opterećenje PAH-ovima bilo nisko do umjereno. Istraživanje povezuje sedimentološka i geokemijska obilježja s prostorno-sezonskom raspodjelom metala, PAH-ova i biotoksina.

Izvorni rad je na hrvatskom jeziku i sadrži 332 stranica, 126 slika, 31 tablica i 513 literaturnih navoda.

Ključne riječi: južni Jadran, Malostonski zaljev, ušće rijeke Neretve, sediment, dagnje, metali, policiklički aromatski ugljikovodici, morski biotoksini, ciklički imini, ekološki rizik

Mentor: dr. sc. Ivana Ujević

Povjerenstvo za ocjenu:

dr. sc. Domagoj Đikić

dr. sc. Stjepan Orhanović

dr. sc. Jelena Lušić

University of Zagreb

Ph.D. thesis

Faculty of Science

Department of Geology

**SPECTROSCOPIC AND CHROMATOGRAPHIC METHODS IN THE
EVALUATION OF THE ECOLOGICAL STATUS OF THE SOUTHERN
ADRIATIC SEA**

Antonija Bulić

Institute of Oceanography and Fisheries, Split

Metals and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) were investigated in sediments and mussels (*Mytilus galloprovincialis*) from Mali Ston Bay and the Neretva River mouth, and biotoxins in mussels from both areas. Grain-size composition, organic matter and carbonate contents were determined. Finer, organic-rich sediment was associated with higher mass fractions of most metals and PAHs. Mali Ston Bay sediment was finer and organic-rich, with higher Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Hg, Pb and PAHs, whereas Cd was slightly higher in Neretva River mouth sediment. Mali Ston Bay mussels contained more Zn, Cd, Pb, Hg, DahA, BghiP and IcdP, while Neretva River mouth mussels contained more Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Naph, Flu, Phe, Ant, Pyr, BaA, Chr, BkF, BaP, Flt and BbF. Gymnodimine A (GYM A), spirolide 1 (SPX 1), yessotoxin (YTX), pinnatoxin G (PnTX G), 13-desmethyl SPX D and GYM A isomers were confirmed. Biotoxin accumulation showed no significant association with metal and PAH mass fractions, except negative YTX associations with BbF and Fe. Assessment indicated adverse effects on benthic organisms were linked primarily to Cr and Ni, while PAH loading was low to moderate. Study links sedimentological and geochemical characteristics with spatio-seasonal distributions of metals, PAHs and biotoxins.

The dissertation is written in Croatian and contains 332 pages, 126 figures, 31 tables, and 513 references.

Keywords: Southern Adriatic, Mali Ston Bay, Neretva River estuary, sediment, mussels, metals, polycyclic aromatic hydrocarbons, marine biotoxins, cyclic imines, ecological risk

Supervisor: Ivana Ujević, PhD

Reviewers:

Domagoj Đikić, PhD

Stjepan Orhanović, PhD

Jelena Lušić, PhD

Sadržaj

1. UVOD	1
2. DOSADAŠNJE SPOZNAJE	8
2.1. <i>Ekološki status mora: definicija, važnost i međunarodni pravni okviri</i>	8
2.2. <i>Spektroskopske i kromatografske metode u evaluaciji ekološkog statusa južnog Jadrana</i>	10
2.3. <i>Kemijski pritisci u morskom okolišu</i>	11
2.3.1. <i>Izvori i biogeokemijsko kruženje metala u morskom okolišu</i>	11
2.3.2. <i>Kemijska specijacija i raspodjela metala u morskom okolišu</i>	12
2.3.3. <i>Mobilnost i remobilizacija metala u sedimentu</i>	14
2.3.4. <i>Mehanizmi ekotoksičnosti metala u morskom okolišu</i>	15
2.3.5. <i>Vertikalna raspodjela metala u morskom okolišu</i>	16
2.3.6. <i>Metali u morskom okolišu</i>	17
2.3.6.1. <i>Željezo</i>	17
2.3.6.2. <i>Cink</i>	20
2.3.6.3. <i>Bakar</i>	23
2.3.6.4. <i>Olovo</i>	26
2.3.6.5. <i>Kadmij</i>	29
2.3.6.6. <i>Živa</i>	31
2.3.6.7. <i>Nikal</i>	34
2.3.6.8. <i>Krom</i>	35
2.3.6.9. <i>Mangan</i>	38
2.3.7. <i>Metali u Jadranskom moru</i>	40
2.3.8. <i>Morski biotoksini</i>	41
2.3.8.1. <i>DSP toksini</i>	43
2.3.8.2. <i>AZA toksini</i>	45
2.3.8.3. <i>PTX toksini</i>	47
2.3.8.4. <i>YTX toksini</i>	48
2.3.8.5. <i>Ciklički imini</i>	50
2.3.8.6. <i>PSP toksini</i>	52
2.3.8.7. <i>ASP toksini</i>	54
2.3.9. <i>PAH-ovi</i>	55
2.3.9.1. <i>Molekularna obilježja i klasifikacija PAH-ova u okolišu</i>	55

2.3.9.2.	Kruženje PAH-ova u morskom okolišu	57
2.4.	Mehanizmi bioakumulacije onečišćujućih tvari (metala i PAH-ova) u školjkašima	59
2.5.	Važnost školjkaša i sedimenta kao bioindikatora onečišćenja mora	62
3.	MATERIJALI I METODE	64
3.1.	Područje istraživanja	64
3.1.1.	Malostonski zaljev	66
3.1.2.	Estuarijsko područje rijeke Neretve	68
3.2.	Uzorkovanje	70
3.3.	Određivanje fizikalno-kemijskih karakteristika sedimenta	70
3.3.1.	Podjela klastičnih sedimenata na osnovi veličine zrna	70
3.3.2.	Tip sedimenta prema Folkovoj klasifikaciji	72
3.3.3.	Kemijske analize sedimenta.....	74
3.4.	Određivanje masenih udjela metala u školjkašima i sedimentu	75
3.4.1.	Princip rada AAS	75
3.4.2.	Priprema laboratorijskog pribora.....	78
3.4.3.	Priprema uzoraka.....	79
3.4.4.	Materijali i kemikalije	79
3.4.5.	AAS uvjeti za analize metala	81
3.4.5.1.	FAAS.....	81
3.4.5.2.	GFAAS.....	81
3.4.5.3.	DMA.....	82
3.4.6.	Validacija analitičkog postupka	83
3.4.7.	Kalibracija i kvantifikacija.....	84
3.4.8.	Iskazivanje rezultata.....	85
3.5.	Određivanje masenih udjela hidrofилnih i lipofилnih biotoksina u školjkašima	85
3.5.1.	Princip rada UHPLC	85
3.5.2.	Hidrofилni toksini (PSP skupina)	87
3.5.2.1.	Priprema uzoraka.....	87
3.5.2.2.	Materijali i kemikalije	88
3.5.2.3.	Uvjeti rada UHPLC metode	89
3.5.2.4.	Validacija analitičkog postupka	90
3.5.2.5.	Kalibracija i kvantifikacija	90
3.5.2.6.	Iskazivanje rezultata.....	91

3.5.3.	<i>Lipofilni biotoksini i ASP skupina</i>	92
3.5.3.1.	Princip rada UHPLC-MS/MS i UHPLC-QTOF.....	92
3.5.3.2.	Priprema uzoraka.....	94
3.5.3.3.	Materijali i kemikalije	95
3.5.3.4.	Uvjeti rada LC-MS/MS metode	96
3.5.3.5.	Uvjeti rada UHPLC-QTOF metode	99
3.5.3.6.	Validacija analitičkog postupka	101
3.5.3.7.	Kalibracija i kvantifikacija	101
3.5.3.8.	Iskazivanje rezultata	103
3.6.	<i>Određivanje masenih udjela PAH-ova u školjkašima i sedimentu</i>	103
3.6.1.	<i>Priprema uzoraka</i>	104
3.6.2.	<i>Materijali i kemikalije</i>	104
3.6.3.	<i>Kalibracija i kvantifikacija</i>	105
3.6.4.	<i>Određivanje vlage u tkivu dagnji</i>	106
3.6.5.	<i>Validacija analitičkog postupka</i>	106
3.6.6.	<i>UHPLC uvjeti za analizu PAH-ova</i>	107
3.6.7.	<i>Izražavanje rezultata</i>	108
3.7.	<i>Procjena ekotoksikološkog rizika</i>	108
3.7.1.	<i>Metala i PAH-ova u školjkašima</i>	108
3.7.2.	<i>Metala i PAH-ova u sedimentu</i>	110
3.8.	<i>Omjeri metala normalizirani na Fe kao pokazatelji raspodjele metala i geokemijskih procesa u sedimentima</i>	112
3.9.	<i>Određivanje porijekla PAH-ova u sedimentu primjenom dijagnostičkih omjera</i>	113
3.10.	<i>Određivanje porijekla PAH-ova primjenom PCA analize</i>	115
3.11.	<i>Određivanje stupnja onečišćenja PAH-ovima</i>	115
3.12.	<i>Statističke metode obrade podataka</i>	116
4.	REZULTATI	118
4.1.	<i>Fizikalno-kemijske značajke sedimenta</i>	118
4.1.1.	<i>Raspodjela veličine zrna sedimenta</i>	118
4.1.2.	<i>Udio organske tvari i karbonata u odnosu na karakteristike veličine zrna sedimenta</i>	
	127	
4.2.	<i>Prostorno-sezonska raspodjela metala</i>	133
4.2.1.	<i>Školjkaši</i>	133
4.2.2.	<i>Sediment</i>	140

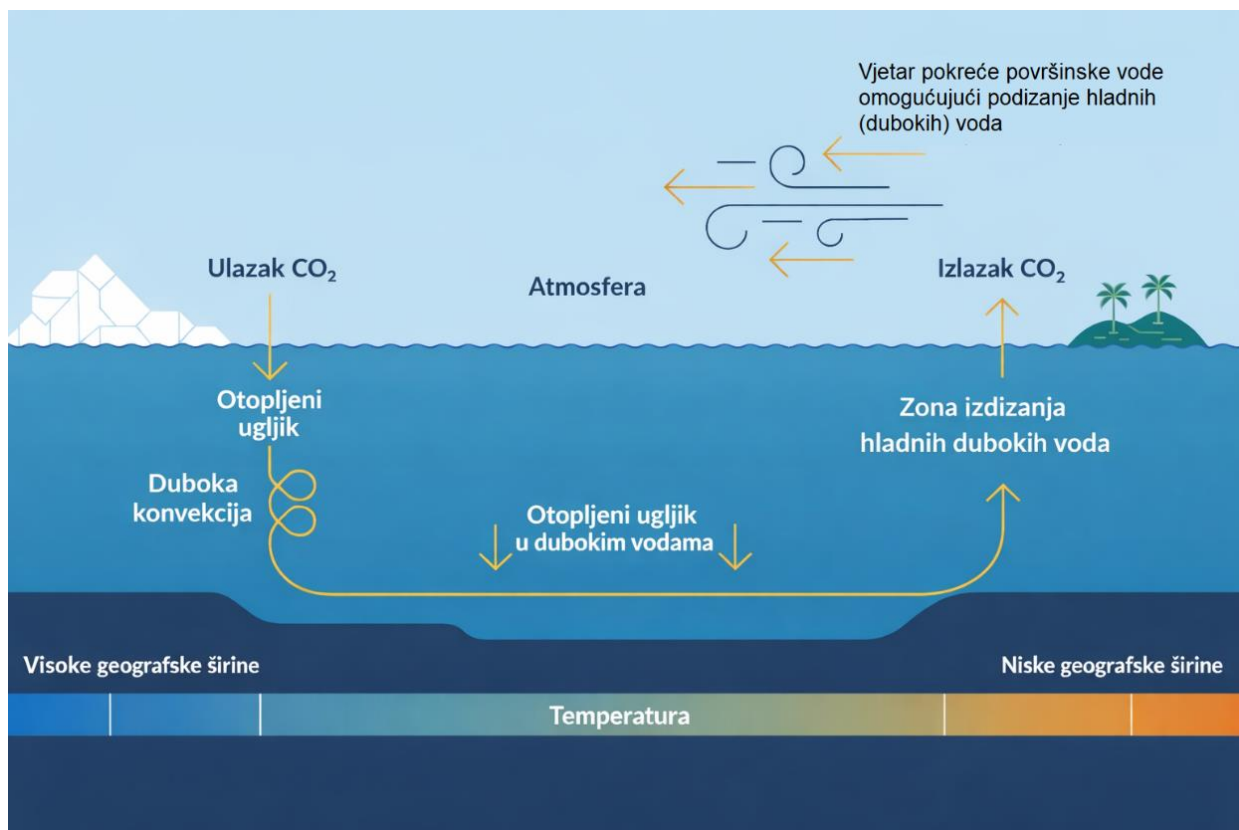
4.3.	<i>Utjecaj fizikalno-kemijskih značajki sedimenta na ukupni sadržaj metala u školjkašima i sedimentu.....</i>	145
4.4.	<i>Omjeri metala normalizirani na Fe kao pokazatelji raspodjele metala i geokemijskih procesa u sedimentima.....</i>	149
4.5.	<i>Prostorno-sezonska raspodjela PAH-ova.....</i>	156
4.5.1.	<i>Školjkaši.....</i>	156
4.5.2.	<i>Sediment.....</i>	163
4.6.	<i>Utjecaj fizikalno-kemijskih značajki sedimenta na ukupni sadržaj PAH-ova u školjkašima i sedimentu.....</i>	170
4.7.	<i>Odnos između metala i PAH-ova u sedimentu i školjkašima.....</i>	175
4.8.	<i>Određivanje porijekla PAH-ova u sedimentu primjenom dijagnostičkih omjera.....</i>	179
4.9.	<i>Određivanje porijekla PAH-ova primjenom PCA analize.....</i>	187
4.10.	<i>Procjena ekotoksikološkog rizika.....</i>	189
4.10.1.	<i>Metali u školjkašima.....</i>	189
4.10.2.	<i>Metali u sedimentu.....</i>	191
4.10.3.	<i>PAH-ovi u školjkašima.....</i>	196
4.10.4.	<i>PAH-ovi u sedimentu.....</i>	200
4.11.	<i>Stupanj onečišćenja sedimenta PAH-ovima.....</i>	206
4.12.	<i>Morski biotoksini.....</i>	209
4.12.1.	<i>Toksikološki profil i prostorno-vremenska raspodjela.....</i>	209
4.12.2.	<i>Odnosi između cikličkih imina, PAH-ova i metala u tkivu dagnji.....</i>	212
5.	RASPRAVA.....	214
5.1.	<i>Fizikalno-kemijske značajke sedimenta.....</i>	214
5.1.1.	<i>Sastav sedimenta prema veličini zrna.....</i>	214
5.1.2.	<i>Udio organske tvari i karbonata u odnosu na veličinu zrna sedimenta.....</i>	218
5.2.	<i>Prostorno-sezonska raspodjela metala.....</i>	220
5.2.1.	<i>Školjkaši.....</i>	220
5.2.2.	<i>Sediment.....</i>	223
5.3.	<i>Utjecaj fizikalno-kemijskih značajki sedimenta na ukupni sadržaj metala u dagnjama i sedimentu.....</i>	227
5.4.	<i>Omjeri metala normalizirani na Fe kao pokazatelji raspodjele metala i geokemijskih procesa u sedimentima.....</i>	230
5.5.	<i>Prostorno-sezonska raspodjela PAH-ova.....</i>	233
5.5.1.	<i>Školjkaši.....</i>	233
5.5.2.	<i>Sediment.....</i>	235

5.6.	<i>Utjecaj fizikalno-kemijskih značajki sedimenta na ukupni sadržaj PAH-ova u školjkašima i sedimentu</i>	240
5.7.	<i>Odnos između metala i PAH-ova u sedimentu i školjkašima</i>	242
5.8.	<i>Određivanje porijekla PAH-ova u sedimentu primjenom dijagnostičkih omjera</i>	245
5.9.	<i>Određivanje porijekla PAH-ova primjenom PCA analize</i>	247
5.10.	<i>Procjena ekotoksikološkog rizika</i>	248
5.10.1.	<i>Metali u školjkašima.....</i>	249
5.10.2.	<i>Metali u sedimentu</i>	250
5.10.3.	<i>PAH-ovi u školjkašima</i>	252
5.10.4.	<i>PAH-ovi u sedimentu.....</i>	253
5.11.	<i>Stupanj onečišćenja sedimenta PAH-ovima</i>	256
5.12.	<i>Toksikološki profil i prostorno-vremenska raspodjela morskih biotoksina</i>	257
5.13.	<i>Odnosi između cikličkih imina, PAH-ova i metala u tkivu dagnji.....</i>	259
6.	ZAKLJUČAK.....	260
7.	LITERATURA	266
	<i>Mrežni izvori</i>	328
	<i>Životopis doktorandice.....</i>	329
	<i>Znanstvena publikacija doktorandice</i>	329

1. UVOD

Za pouzdanu procjenu stanja morskog okoliša potrebno je razumjeti strukturu morskih ekosustava i procese koji se u njima odvijaju. Ekosustav čine međusobno povezane biotičke komponente, uključujući biljke, životinje i mikroorganizme, te abiotički čimbenici, poput vode, sedimenta, svjetlosti, temperature i dostupnosti hranjivih tvari. Njihovo međudjelovanje oblikuje okolišne uvjete te utječe na kruženje tvari i odvijanje biogeokemijskih ciklusa. Antropogene aktivnosti mogu narušiti prirodnu ravnotežu ekosustava, među ostalim unosom različitih onečišćujućih tvari.

Oceani i mora prekrivaju približno 71 % Zemljine površine te imaju važnu ulogu u globalnom ciklusu ugljika, kruženju hranjivih tvari i očuvanju biološke raznolikosti (Masson-Delmotte i sur., 2021; NOAA, 2023). Biogeokemijski ciklus ugljika u morskome okolišu, prikazan na slici 1, uključuje razmjenu ugljikova dioksida (CO_2) između atmosfere i mora. Nakon otapanja u morskoj vodi CO_2 prelazi u različite oblike anorganskog ugljika: otopljeni CO_2 , hidrogenkarbonatni ion i karbonatni ion. Ugljik se iz površinskih u dublje slojeve mora prenosi fizikalnim i biološkim procesima. Fizikalni prijenos uključuje otapanje CO_2 u morskoj vodi, miješanje vodenih masa i prijenos otopljenog anorganskog ugljika prema dubljim slojevima. Biološki prijenos započinje fotosintezom, pri čemu fitoplankton veže CO_2 u organsku tvar. Dio organski vezanog ugljika prenosi se kroz hranidbenu mrežu, razgrađuje u vodenom stupcu ili tone prema dubljim slojevima mora i sedimentu. Taj prijenos ugljika prema dubini naziva se biološka pumpa ugljika (Dai i sur., 2025; Ryan-Keogh i sur., 2023). Procesima izdizanja vode iz dubljih slojeva mora prema površini dopijevaju hladnije vode bogate hranjivim tvarima i otopljenim anorganskim ugljikom. U površinskom sloju dio ugljika može se ponovno osloboditi u atmosferu, dok hranjive tvari potiču primarnu produkciju. Navedeni procesi pokazuju važnu ulogu morskih ekosustava u kruženju tvari i održavanju prirodne ravnoteže okoliša.



Slika 1. Ciklus ugljika u morskom ekosustavu. Preuzeto i prilagođeno prema URL 1.

Osim ekološke važnosti, morski ekosustavi imaju i veliku gospodarsku vrijednost jer pružaju staništa brojnim organizmima te omogućuju razvoj ribarstva, akvakulture i turizma. Njihova je važnost osobito izražena u Hrvatskoj, gdje morski resursi imaju važnu ulogu u održivom razvoju obalnih i otočnih područja (Turk i sur., 2020; UNEP/MAP i Plan Bleu, 2020; World Bank, 2024). Unatoč tome, morski ekosustavi sve su više izloženi prirodnim i antropogenim pritiscima. Posebno su osjetljiva obalna područja jer predstavljaju važna staništa te mjesta hranjenja, razmnožavanja i razvoja brojnih morskih organizama (Hassoun i sur., 2025; Kennish, 2022). Urbanizacija obalnih područja, poljoprivredne aktivnosti, ispuštanje otpadnih voda te povećani turistički i pomorski promet mogu uzrokovati unos različitih onečišćujućih tvari, uključujući metale i policikličke aromatske ugljikovodike (PAH-ove). Dodatni pritisci, poput eutrofikacije i zakiseljavanja mora, mogu poremetiti prirodnu ravnotežu morskih ekosustava. Procjenjuje se da približno 80 % onečišćenja mora potječe s kopna (UNEP, 2021). Onečišćujuće tvari mogu narušiti ravnotežu morskih ekosustava te štetno utjecati na zdravlje ljudi i morskih organizama (Doney, 2020; EEA, 2025).

Jedan od najznačajnijih procesa povezanih s antropogenim opterećenjem obalnih morskih ekosustava jest eutrofikacija, koja nastaje uslijed prekomjernog unosa hranjivih tvari, osobito dušika i fosfora, te predstavlja važan ekološki i gospodarski problem. Povišene koncentracije hranjivih tvari, uz povoljne okolišne uvjete poput više temperature mora, stabilnosti vodenog stupca i veće dostupnosti svjetlosti, mogu potaknuti intenzivan rast fitoplanktona i pojavu štetnih cvjetanja algi, odnosno štetnih cvjetanja mora (engl. *harmful algal blooms*, HAB) (Brenckman i sur., 2025; Hallegraeff, 2010; Lan i sur., 2024). Štetna cvjetanja mora mogu narušiti kvalitetu vode, a odumiranjem fitoplanktona i razgradnjom nastale organske tvari povećava se potrošnja otopljenog kisika, što može dovesti do razvoja hipoksičnih ili anoksičnih uvjeta nepovoljnih za bentičke i pelagične organizme (Diaz i Rosenberg, 2008; Lan i sur., 2024).

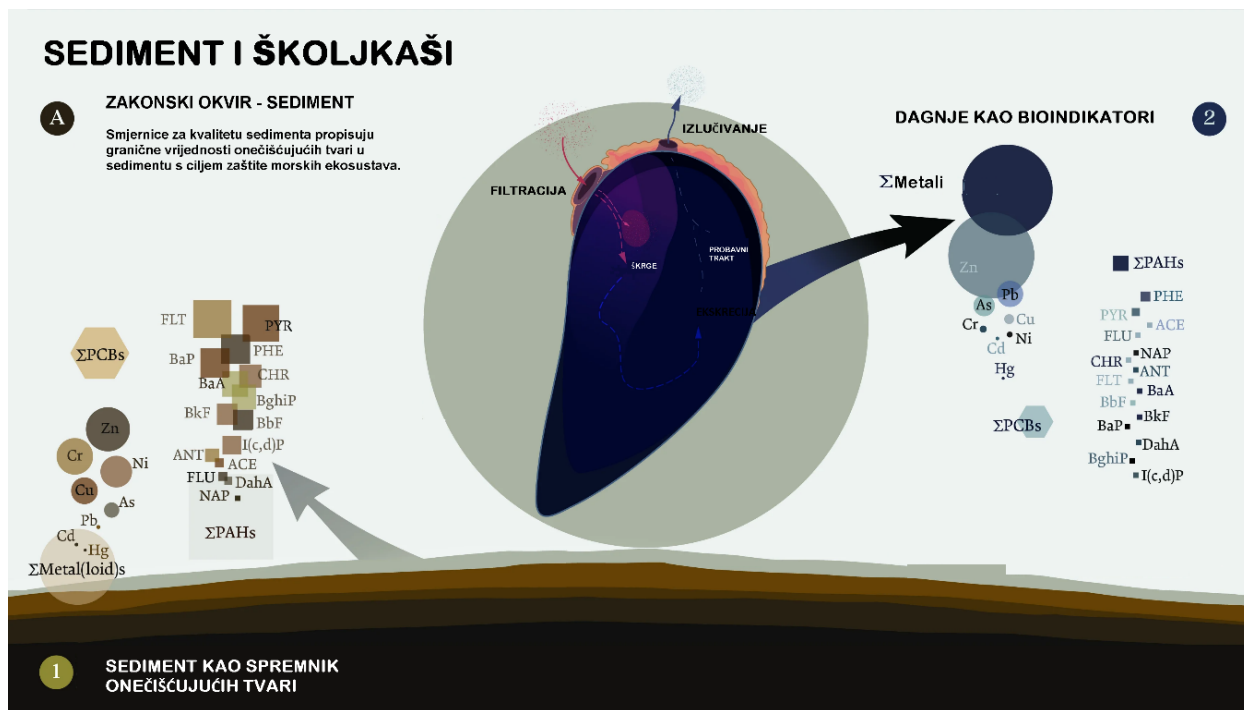
Važna posljedica HAB-a jest proizvodnja morskih biotoksina koje sintetiziraju pojedine toksične vrste fitoplanktona, među kojima su osobito značajni dinoflagelati, ali i dijatomeje, primjerice kod proizvodnje domoične kiseline (DK). Biotoksini se mogu akumulirati u tkivima školjkaša jer se školjkaši hrane filtriranjem morske vode, pri čemu iz vode zadržavaju čestice hrane, uključujući i toksične mikroalge. Nakon unosa u organizam mogu se biotransformirati u druge toksične derivate ili metabolite. Njihov prijenos hranidbenim lancem može negativno utjecati na morske organizme i ljudsko zdravlje te uzrokovati značajne gospodarske gubitke, osobito u ribarstvu, akvakulturi i turizmu (Oh i sur., 2023; Trainer i sur., 2019; Yuan i sur., 2024).

Među morskim biotoksinima posebno su značajni ciklički imini, skupina lipofilnih toksina koja obuhvaća spirolide (SPX), gimnodimine (GYM), pinnatoksine (PnTX), pteriatoksine (PtTX), portimine i druge srodne spojeve. Zajednička im je prisutnost iminske skupine u cikličkoj strukturi, a farmakološki djeluju kao antagonisti nikotinskih acetilkolinskih receptora (nAChR), zbog čega mogu uzrokovati poremećaje neuromuskularne transmisije. Toksičnost cikličkih imina potvrđena je u pokusima na miševima, pri čemu su nakon izlaganja zabilježeni neurotoksični učinci, uključujući paralizu i respiratorne smetnje. Unatoč tome, zbog ograničenih podataka o učincima na ljude, procjena njihova rizika za ljudsko zdravlje još uvijek zahtijeva dodatna istraživanja (Finch i sur., 2024; Molgó i sur., 2017).

Dodatni izazov u praćenju ekološkog statusa predstavlja promjena rasprostranjenosti toksičnih fitoplanktonskih vrsta. Ona može biti povezana s klimatski uvjetovanim promjenama okolišnih uvjeta, ali i s unošenjem neautohtonih vrsta putem balastnih voda brodova, koje omogućuju

prijenos mikroorganizama, vegetativnih stanica fitoplanktona, cista i drugih otpornih oblika između udaljenih geografskih područja (Queiroz i sur., 2024). Takvi procesi mogu dovesti do promjena u strukturi planktonskih zajednica, kompeticijskog pritiska na autohtone vrste, pojave HAB-a te ekoloških i socioekonomskih posljedica (Hallegraeff, 2010; Kurniawan i sur., 2022; Soto-López i sur., 2025).

Osim u vodenom stupcu, značajan udio onečišćujućih tvari može se vezati za suspendirane čestice i taložiti u sedimentu, koji stoga djeluje kao dugoročni spremnik, ali i kao mogući sekundarni izvor onečišćenja za bentičke organizme. Procesu poput resuspenzije sedimenta, bioturbacije, promjena oksidacijsko-redukcijskih uvjeta, djelovanja valova i morskih struja te antropogenih aktivnosti mogu potaknuti remobilizaciju metala, PAH-ova i drugih onečišćujućih tvari iz sedimenta u vodeni stupac. Time se povećava njihova bioraspoloživost i potencijalni rizik za morske organizme. Remobilizirane onečišćujuće tvari mogu se bioakumulirati u morskim organizmima i prenositi hranidbenim lancem, dok se pojedini spojevi oblici metala, poput metil-žive (MeHg), mogu biomagnificirati (slika 2) (Droghini i sur., 2019; Eggleton i Thomas, 2004; Maqsood i Łobos-Moysa, 2025).



Slika 2. Remobilizacija onečišćujućih tvari (metala i PAH-ova). Preuzeto i prilagođeno prema Pelikan i sur. (2025).

Procesi taloženja, remobilizacije i prijenosa onečišćujućih tvari osobito su važni u obalnim i poluzatvorenim morskim sustavima, gdje slabija izmjena vodenih masa, blizina izvora onečišćenja i intenzivnije antropogene aktivnosti mogu pridonijeti njihovom zadržavanju i akumulaciji. Jadransko more je izduženi poluzatvoreni bazen Sredozemlja, povezan s Jonskim morem preko Otrantskih vrata, pri čemu je južni Jadran u odnosu na sjeverni i srednji dio otvoreniji i obilježen izraženijom izmjenom dubokih voda (Le Meur i sur., 2025; Vilibić i sur., 2023). Ipak, u obalnim, zaljevskim i lučkim područjima južnog Jadrana lokalni unos hranjivih tvari može potaknuti porast biomase fitoplanktona, promjene u sastavu fitoplanktonskih zajednica te povremenu pojavu HAB-ova (Bužančić i sur., 2016; Mozetič i sur., 2019; Mentaschi i sur., 2024; Ninčević-Gladan i sur., 2015).

Radi zaštite morskog okoliša Europska unija (EU) usvojila je Okvirnu direktivu o morskoj strategiji (Direktiva 2008/56/EZ), kojom je uspostavljen okvir za postizanje ili održavanje dobrog stanja morskog okoliša (DSO) u europskim morskim vodama. Dobro stanje okoliša podrazumijeva očuvanje različitih vrsta morskih organizama i njihovih staništa, održavanje prirodnih procesa bez značajnih poremećaja te održivu uporabu morskih resursa bez štetnih učinaka na ekosustave i ljudsko zdravlje (Borja i sur., 2010; Europski parlament i Vijeće Europske unije, 2008).

U skladu s navedenim načelima, procjena ekološkog statusa južnog Jadrana u ovom se istraživanju temelji na određivanju masenih udjela metala, PAH-ova i morskih biotoksina u biotičkim matricama, odnosno školjkašima, te abiotičkoj matrici, odnosno sedimentu. Metali, PAH-ovi i morski biotoksini imaju važnu ekotoksikološku ulogu jer se mogu akumulirati u morskim organizmima, odražavati lokalne izvore onečišćenja i promjene okolišnih uvjeta te upućivati na moguće rizike za ekosustave i ljudsko zdravlje. Zbog toga se onečišćujuće tvari u sedimentu i bioti prate u okviru europskih i međunarodnih programa praćenja stanja morskog okoliša, osobito u kontekstu deskriptora 8, koji se odnosi na onečišćujuće tvari u okolišu, i deskriptora 9, koji se odnosi na onečišćujuće tvari u hrani iz mora (Europski parlament i Vijeće Europske unije, 2008; Furdek Turk i sur., 2024).

Dosadašnja istraživanja u Jadranu često su bila usmjerena na pojedine skupine onečišćujućih tvari ili na pojedine matrice, dok su integrirani pristupi koji istodobno obuhvaćaju sediment i školjkaše te više skupina onečišćujućih tvari, uključujući morske biotoksine, još uvijek rjeđi. Analiza

školjkaša i sedimenta omogućuje istodobnu procjenu trenutačne biorasploživosti onečišćujućih tvari i dugoročnijih procesa njihove akumulacije u morskom ekosustavu te predstavlja prikladan pristup za procjenu ekološkog statusa obalnog područja južnog Jadrana. Pouzdana procjena stanja okoliša zahtijeva primjenu analitičkih metoda visoke osjetljivosti i selektivnosti, koje omogućuju detekciju i kvantifikaciju onečišćujućih tvari u složenim okolišnim matricama pri niskim koncentracijama. U tom su kontekstu spektroskopske i kromatografske metode, često povezane s masenom spektrometrijom, ključne za određivanje metala, PAH-ova i morskih biotoksina te za interpretaciju rezultata u odnosu na propisane ili preporučene granične vrijednosti (Li i sur., 2023; Meher i Zarouri, 2025; Rusiňáková i sur., 2024).

Ciljevi ovog rada su:

1. Ustanoviti profil morskih biotoksina i njihovih metabolita u školjkašima južnog Jadrana.
2. Analizirati vremensku i prostornu raspodjelu metala i PAH-ova u sedimentima i školjkašima s područja južnog Jadrana.
3. Odrediti fizikalno-kemijske karakteristike sedimenta, uključujući: tip sedimenta na temelju raspodjele veličine zrna, udio karbonata i organske tvari.
4. Istražiti korelaciju metala i PAH-ova u morskom okolišu s biotoksinima i njihovim metabolitima u školjkašima.
5. Istražiti može li prisutnost metala i PAH-ova u morskom okolišu utjecati na sintezu ili modulirati produkciju biotoksina u školjkašima.
6. Kvalitativna determinacija cikličkih imina i praćenje njihove prostorno-vremenske dinamike u školjkašima.

U radu su postavljene sljedeće hipoteze:

1. Sedimentološke i geokemijske značajke površinskih sedimenata razlikuju se između područja ušća rijeke Neretve i Malostonskog zaljeva.
2. Prostorne i sezonske razlike u fizikalno-kemijskim značajkama sedimenta (raspodjela veličine zrna, udio karbonata i organske tvari) utječu na raspodjelu i zadržavanje metala i PAH-ova.
3. Profil masenih udjela analiziranih metala i PAH-ova razlikuje se između prirodnih i uzgojnih populacija dagnji.

4. Stupanj onečišćenja sedimenta PAH-ovima, podrijetlo PAH-ova i geokemijska raspodjela metala razlikuju se među istraživanim područjima, postajama i sezonama.
5. Maseni udjeli metala i PAH-ova u sedimentima i školjkašima pokazuju prostorno-vremensku varijabilnost koja je povezana s prirodnim i antropogenim utjecajima u istraživanim područjima.
6. Maseni udjeli PAH-ova i metala u sedimentima istraživanog područja niži su od graničnih vrijednosti koji se primjenjuju za procjenu rizika od štetnih učinaka onečišćujućih tvari na morske organizme.
7. Specifičan profil morskih biotoksina i njihovih metabolita u školjkašima južnog Jadrana odražava lokalne ekološke uvjete te pokazuje značajne sezonske razlike u pojavnosti i masenim udjelima.
8. Povišeni maseni udjeli metala i PAH-ova u morskom okolišu u korelaciji su s povišenim masenim udjelima biotoksina i njihovih metabolita u školjkašima.

2. DOSADAŠNJE SPOZNAJE

2.1. *Ekološki status mora: definicija, važnost i međunarodni pravni okviri*

Stanje morskog okoliša oblikuju prirodni procesi i antropogeni pritisci, a procjenjuje se na temelju bioloških, kemijskih i fizikalnih pokazatelja. Rezultati se uspoređuju s okolišnim ciljevima kako bi se utvrdilo u kojoj mjeri stanje mora odstupa od dobrog stanja okoliša te jesu li mjere zaštite i upravljanja učinkovite (Borja i sur., 2011; Smit i sur., 2020). Okvirna direktiva o morskoj strategiji uspostavlja okvir za postizanje DSO-a. Direktivom Komisije (EU) 2017/845 izmijenjen je Prilog III. Direktive 2008/56/EZ kako bi se preciznije odredili elementi ekosustava, antropogeni pritisci i ljudske aktivnosti koje treba uzeti u obzir pri procjeni stanja morskog okoliša. Navedeni propisi omogućuju ujednačenu procjenu stanja morskog okoliša te usporedbu rezultata među različitim morskim područjima i tijekom vremena (Murillas-Maza i sur., 2020; Puharinen, 2023).

Procjena DSO-a temelji se na 11 kvalitativnih deskriptora: biološkoj raznolikosti, neautohtonim vrstama, komercijalno iskorištavanjem populacijama riba, rakova i mekušaca, prehrambenim mrežama, eutrofikaciji, cjelovitosti morskog dna, hidrografskim promjenama, onečišćujućim tvarima i njihovim učincima u morskom okolišu, onečišćujućim tvarima u morskim prehrambenim proizvodima, morskom otpadu te unošenju energije u morski okoliš, uključujući podvodnu buku (Europski parlament i Vijeće Europske unije, 2008). Procjena stanja morskog okoliša ima važnu socioekonomsku ulogu jer degradacija morskih i obalnih ekosustava može uzrokovati gospodarske gubitke u ribarstvu, akvakulturi, turizmu i drugim djelatnostima ovisnima o morskim resursima. Prema izvješću *Global Assessment Report on Biodiversity and Ecosystem Services* (IPBES, 2019), antropogene aktivnosti značajno su izmijenile velik dio morskog okoliša. Međunarodni i europski pravni okvir za zaštitu, očuvanje i upravljanje morskim ekosustavima temelji se na obvezujućim konvencijama, direktivama i drugim pravnim aktima kojima se utvrđuju načela, ciljevi i standardi zaštite morskog okoliša:

1. Konvencija Ujedinjenih naroda o pravu mora uspostavlja opću obvezu država da štite i očuvaju morski okoliš te poduzimaju mjere za sprječavanje, smanjivanje i nadziranje onečišćenja mora iz različitih izvora. Posebno su važne odredbe članka 192. – 194., kojima se utvrđuju obveza zaštite i očuvanja morskog okoliša, pravo država na iskorištavanje

- prirodnih bogatstava uz obvezu zaštite morskog okoliša te mjere za sprječavanje, smanjivanje i nadziranje onečišćenja mora (United Nations, 1982).
2. Okvirna direktiva o vodama (ODV; 2000/60/EZ izmijenjena Direktivom 2013/39/EU i Direktivom (EU) 2026/805) uvodi integrirani pristup upravljanju vodama u EU. Obuhvaća kopnene površinske vode, prijelazne vode, priobalne vode i podzemne vode. Njezini su ciljevi spriječiti pogoršanje stanja voda, očuvati i poboljšati vodne ekosustave te postići dobro stanje voda. Direktiva također propisuje mjere za smanjenje onečišćenja prioritetnim tvarima u skladu s načelima održivog upravljanja vodnim resursima (Europski parlament i Vijeće Europske unije, 2000; 2013; 2026).
 3. Direktiva o standardima kvalitete okoliša (Direktiva 2008/105/EZ, izmijenjena Direktivom 2013/39/EU i Direktivom (EU) 2026/805) dopunjuje ODV propisivanjem standarda kvalitete okoliša za prioritetne tvari i određene druge onečišćujuće tvari u površinskim vodama. Primjena propisanih vrijednosti omogućuje procjenu kemijskog stanja površinskih voda te doprinosi zaštiti vodenih organizama, ekosustava i ljudskog zdravlja od štetnih učinaka onečišćujućih tvari (Europski parlament i Vijeće Europske unije, 2008; 2013; 2026).
 4. Okvirna direktiva o morskoj strategiji (Direktiva 2008/56/EZ, izmijenjena Direktivom Komisije (EU) 2017/845) predstavlja temeljni zakonodavni okvir EU za zaštitu morskog okoliša. Njezin je cilj postizanje i održavanje DSO-a u morskim vodama država članica. Direktiva zahtijeva izradu i provedbu morskih strategija koje obuhvaćaju procjenu stanja morskih voda i antropogenih pritisaka, određivanje okolišnih ciljeva, uspostavu programa praćenja te razvoj i provedbu programa mjera za zaštitu morskog okoliša (Europski parlament i Vijeće Europske unije, 2008; Europska komisija, 2017). Kriteriji i metode za praćenje i procjenu DSO-a detaljnije su definirani Odlukom Komisije (EU) 2017/848 (Europski parlament i Vijeće Europske unije, 2008; Europska komisija, 2017).

2.2. *Spektroskopske i kromatografske metode u evaluaciji ekološkog statusa južnog Jadrana*

Razvoj kromatografskih i spektroskopskih metoda značajno je unaprijedio mogućnosti karakterizacije onečišćujućih tvari u morskom okolišu, omogućujući analizu različitih organskih i anorganskih spojeva uz visoku osjetljivost, selektivnost i točnost. Kromatografske metode omogućuju razdvajanje spojeva na temelju razlika u njihovim fizikalno-kemijskim svojstvima i interakcijama sa stacionarnom i mobilnom fazom, dok masena spektrometrija omogućuje njihovu detekciju i identifikaciju na temelju omjera mase i naboja iona.

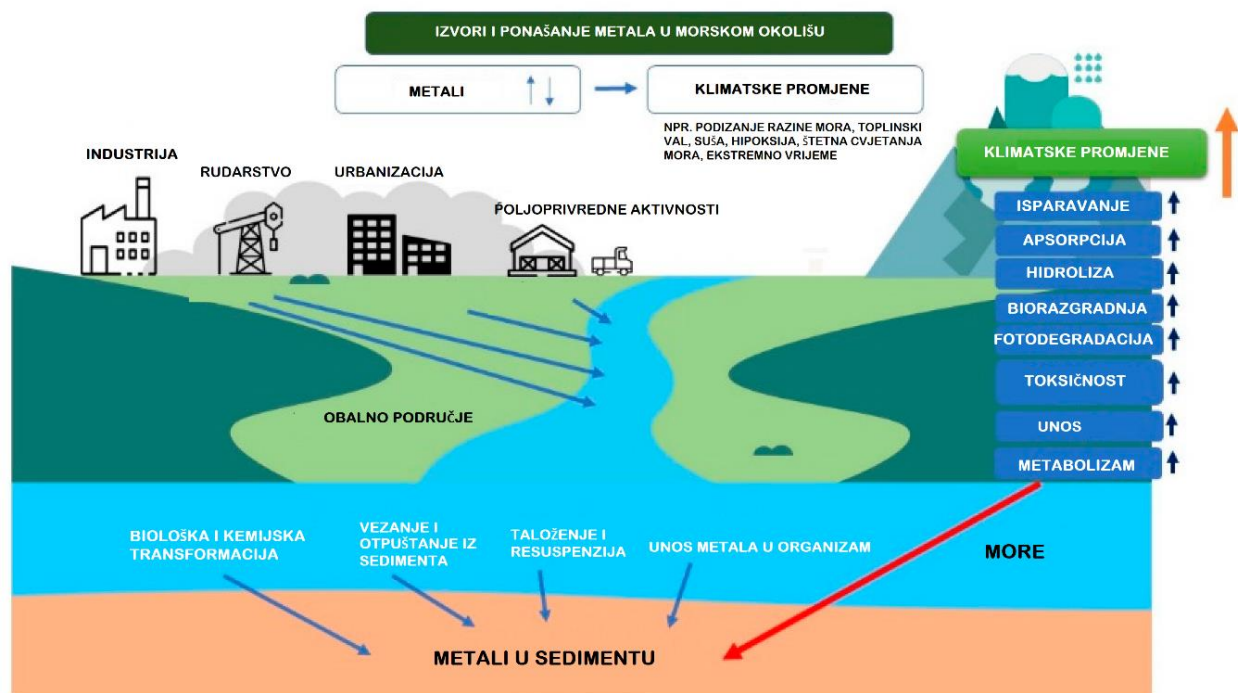
Masena spektrometrija visoke rezolucije (engl. *High-Resolution Mass Spectrometry*, HRMS) omogućuje provedbu ciljanih i neciljanih analiza. Osim kvantifikacije poznatih analita, HRMS omogućuje detekciju prethodno neidentificiranih spojeva te određivanje njihove točne mase i izotopnog obrasca. Analizom dobivenih fragmentacijskih spektara moguće je procijeniti molekulsku formulu i pretpostaviti strukturu spoja. Identitet spoja konačno se potvrđuje usporedbom s odgovarajućim referentnim standardom, kada je on dostupan. Zbog toga je HRMS osobito važan za otkrivanje novih onečišćujućih tvari i produkata njihove transformacije u složenim okolišnim matricama (Hollender i sur., 2017; Meher i Zarouri, 2025; Tarábek i sur., 2024).

U analizi onečišćujućih tvari u morskom okolišu široko se primjenjuju metode poput tekućinske kromatografije ultravisoke djelotvornosti (engl. *ultra-high-performance liquid chromatography*, UHPLC), tekućinske kromatografije spregnute s tandemskom masenom spektrometrijom (engl. *liquid chromatography-tandem mass spectrometry*, LC-MS/MS), tekućinske kromatografije spregnute s kvadrupolnim analizatorom i analizatorom vremena leta (engl. *liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry*, LC-QTOF-MS), atomske apsorpcijske spektrometrije (engl. *atomic absorption spectrometry*, AAS) te izravnog analizatora žive (engl. *direct mercury analyzer*, DMA). U ovom istraživanju navedene su metode primijenjene za određivanje metala i PAH-ova u sedimentu i dagnjama, kvantifikaciju lipofilnih i hidrofilnih morskih biotoksina u dagnjama te otkrivanje novih analoga cikličkih imina primjenom LC-QTOF-MS analize. Dobiveni podaci omogućuju procjenu raspodjele onečišćujućih tvari i njihova mogućeg utjecaja na stanje morskog okoliša.

2.3. Kemijski pritisci u morskom okolišu

2.3.1. Izvori i biogeokemijsko kruženje metala u morskom okolišu

Metali su u morskom okolišu prisutni u širokom rasponu koncentracija, od makrokonstituenata (>1 mg/L), preko mikrokonstituenata ($\mu\text{g/L}$) do elemenata u tragovima (ng/L). Metali dopijevaju u more iz prirodnih i antropogenih izvora, prikazanih na slici 3. Prirodni izvori uključuju trošenje i eroziju stijena, dotok rijekama, vulkansku i hidrotermalnu aktivnost te atmosfersko taloženje mineralnih čestica. Navedeni procesi utječu na prirodne pozadinske koncentracije metala i sastavni su dio njihovih biogeokemijskih ciklusa (Bruland i sur., 2013). U priobalnim područjima važan je i antropogeni unos metala. Među glavnim izvorima izdvajaju se industrijski i komunalni ispusti, površinsko otjecanje s poljoprivrednih i urbanih područja, pomorski promet, lučke i brodograđevne aktivnosti, sagorijevanje fosilnih goriva te rudarske i metalurške aktivnosti (Swetha i sur., 2025).



Slika 3. Kruženje (biogeokemijski ciklus) metala u morskom okolišu. Preuzeto i prilagođeno prema Mok i sur. (2023).

Nakon unosa u morski okoliš metali podliježu različitim biogeokemijskim procesima koji utječu na njihovu prostornu raspodjelu, kemijski oblik i bioraspoloživost. U vodenom stupcu mogu biti

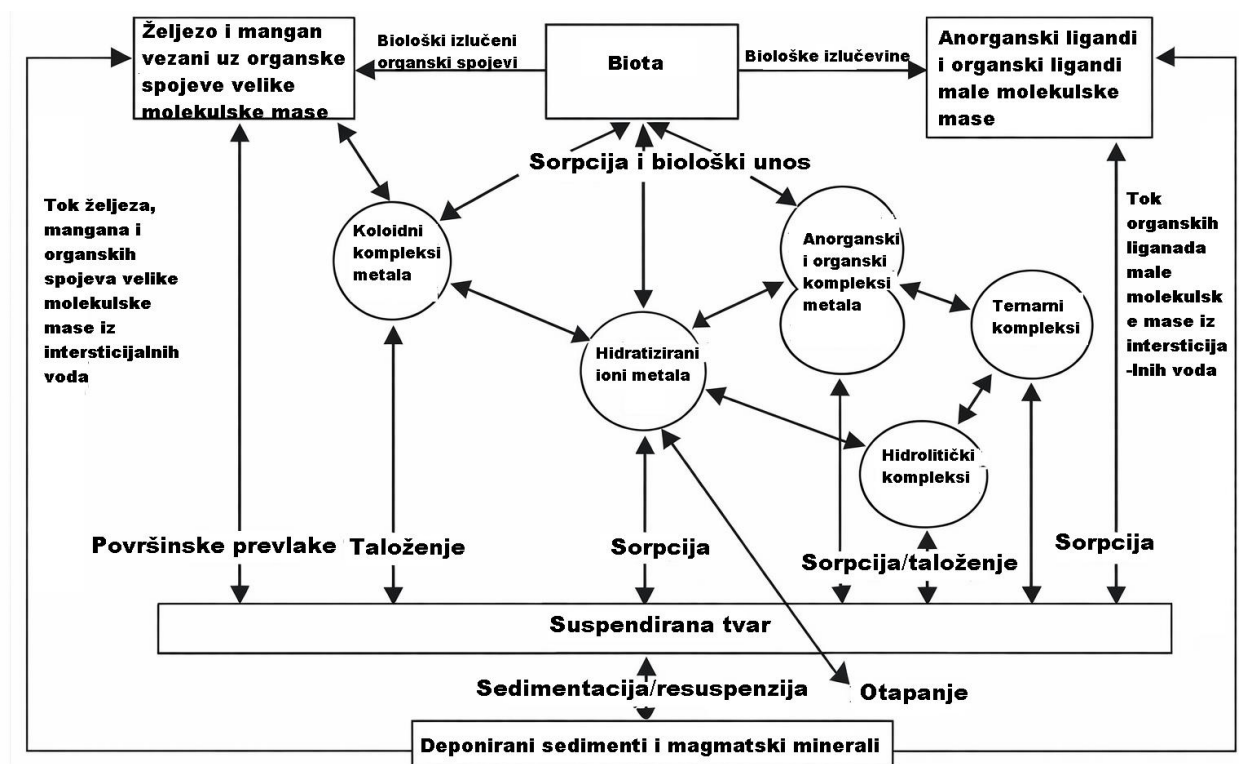
prisutni u otopljenom obliku ili vezani uz suspendirane čestice. Metali se mogu vezati uz suspendirane čestice i zajedno s njima taložiti prema sedimentu. Suspendirane čestice i površinski sloj sedimenta imaju važnu ulogu u njihovu prijenosu i zadržavanju. Promjene fizikalno-kemijskih uvjeta u sedimentu, resuspenzija sedimenta te aktivnosti bentičkih organizama mogu uzrokovati ponovno oslobađanje metala u pridneni dio vodenog stupca te utjecati na njihovu biorasploživost (Al-Hashem i sur., 2022; Bruland i sur., 2013; Zhou i sur., 2020). Biološki procesi također utječu na vertikalni prijenos metala. Fitoplankton preuzima pojedine metale iz morske vode. Nakon ugibanja organizama dio metala prenosi se prema dubljim slojevima zajedno s organskom tvari, dok se njezinom razgradnjom dio metala ponovno oslobađa u vodeni stupac (Twining i sur., 2014).

2.3.2. *Kemijska specijacija i raspodjela metala u morskom okolišu*

Kemijska specijacija metala važna je za razumijevanje njihova ponašanja u morskom okolišu jer utječe na njihovu mobilnost, biorasploživost i toksičnost. Na kemijske oblike i raspodjelu metala utječu fizikalno-kemijski uvjeti okoliša, poput pH-vrijednosti, saliniteta i oksidacijsko-redukcijskih uvjeta, kao i biološki procesi, primjerice unos metala u organizme. U vodenom stupcu metali se pojavljuju u različitim međusobno povezanim kemijskim oblicima. Mogu biti prisutni kao slobodni hidratizirani ioni, anorganski i organski kompleksi, koloidi te oblici vezani uz suspendirane čestice. Raspodjela između tih oblika ovisi o procesima kompleksiranja, vezanja uz čestice, taloženja i otapanja, koji zajedno određuju kemijsku specijaciju metala u morskoj vodi (slika 4 i slika 5) (Bruland i sur., 2013; Moffett i Boiteau, 2024). Slobodni ionski oblici metala u pravilu su reaktivniji i lakše dostupni za unos u organizme od metala vezanih u stabilnim kompleksima. Ipak, metali se mogu unositi i iz pojedinih slabije vezanih kompleksa. Vezanje metala za organske ligande smanjuje udio slobodnih iona, ali može povećati njihovo zadržavanje u otopljenoj frakciji morske vode i utjecati na njihov prijenos kroz morski okoliš (Moffett i Boiteau, 2024).

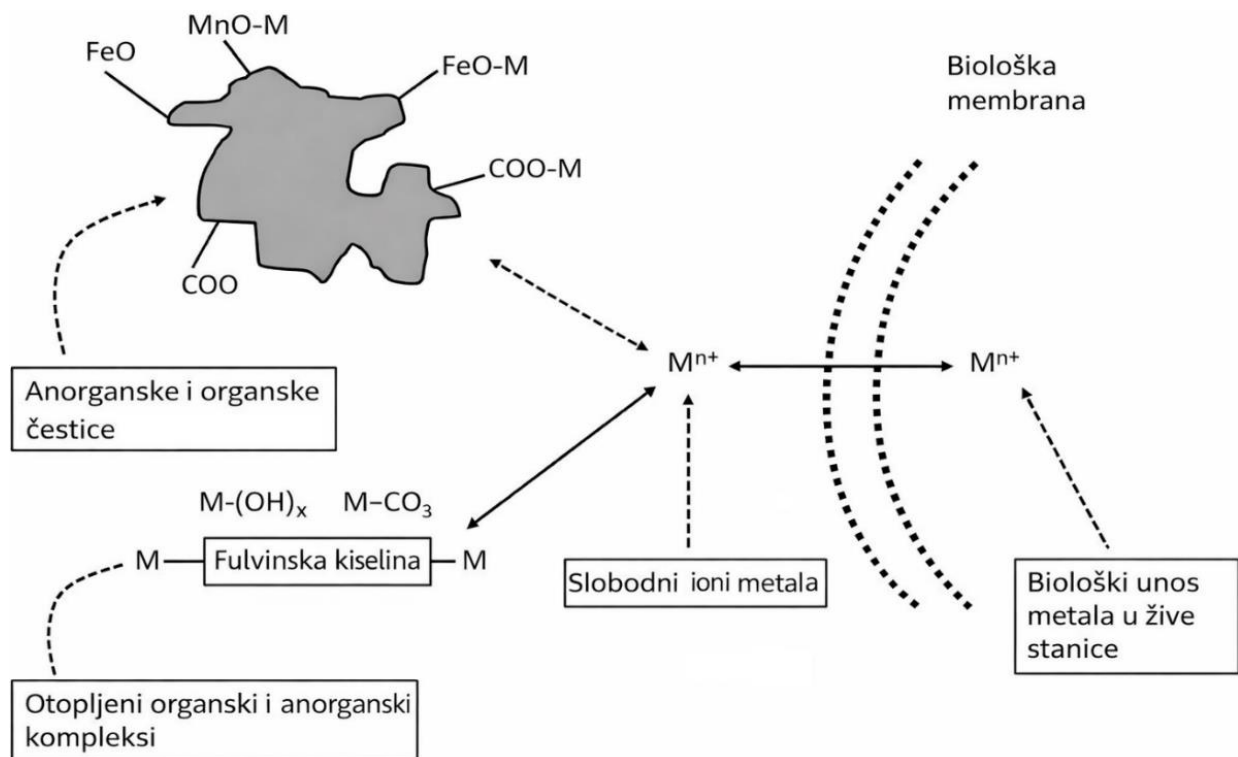
Jedan od primjera organskih liganada koji mogu vezati metale jest DK, neurotoksin koji uzrokuje amnezijsko trovanje školjkašima (engl. *amnesic shellfish poisoning*, ASP). Domoična kiselina strukturno je slična pojedinim fitosideroforima. Može vezati Fe(III) i Cu(II) te stvarati komplekse koji utječu na kemijsku specijaciju i biorasploživost tih metala u morskoj vodi. Vezanje Fe može pridonijeti njegovoj dostupnosti dijatomejama, dok vezanje Cu može smanjiti njegovu toksičnost

pri povišenim koncentracijama (Rue i Bruland, 2001). Eksperimentalna istraživanja pokazala su da nedostatak Fe i stres uzrokovan povišenim koncentracijama Cu mogu potaknuti proizvodnju i oslobađanje DK kod toksičnih vrsta dijatomeja roda *Pseudo-nitzschia* (Maldonado i sur., 2002). U područjima s visokim koncentracijama nitrata i niskim koncentracijama klorofila dodatak Fe može također potaknuti rast toksičnih dijatomeja roda *Pseudo-nitzschia* i povećati proizvodnju DK (Trick i sur., 2010).



Slika 4. Biogeokemijsko kruženje metala u vodenom okolišu. Preuzeto i prilagođeno prema Ghorab (2018).

Važnu ulogu u kemijskoj specijaciji metala imaju huminske i fulvinske tvari. One mogu vezati ione metala i tako mijenjati njihovu reaktivnost, mobilnost i bioraspodivnost. Jačina vezanja ovisi o vrsti metala i uvjetima u okolišu (slika 5) (Gil, 2014). U morskim uvjetima huminska kiselina može utjecati i na adsorpciju Cu-a, Pb-a i Zn-a na mikroplastiku (Rapljenović i sur., 2024).



Slika 5. Kemijska specijacija metala u vodenom stupcu. Preuzeto i prilagođeno prema Gil (2014).

2.3.3. Mobilnost i remobilizacija metala u sedimentu

U sedimentu se metali vežu uz mineralne čestice i organsku tvar. Na njihovu mobilnost utječu veličina zrna sedimenta, pH-vrijednost, oksidacijsko-redukcijski uvjeti i prisutnost liganada koji mogu vezati metale (Byrne, 2002; Ruacho i sur., 2022). Primjerice, Cd je u morskoj vodi velikim dijelom prisutan u obliku kloridnih kompleksa, dok se Cu snažno veže za organske ligande. Sitnije frakcije sedimenta, osobito prah i glina, imaju veliku sposobnost vezanja metala zbog veće specifične površine i većeg udjela reaktivnih sastavnica. Važnu ulogu pritom imaju organska tvar, minerali glina, Fe/Mn-(hidro)oksidi i sulfidi (Zhang i sur., 2014).

Remobilizacija metala iz sedimenta osobito je izražena u priobalnim područjima zbog promjena u riječnom dotoku, ekstremnih oborinskih događaja, erozije tla i promjena fizikalno-kemijskih uvjeta (Zitoun i sur., 2024). U procjeni mobilnosti i biorasploživosti metala u morskom sedimentu često se primjenjuju sekvencijske kemijske ekstrakcije. Njima se metali razdvajaju u frakcije, ovisno o njihovoj povezanosti s različitim sastavnicama sedimenta. Postupkom prema Tessieru i sur. (1979) razlikuje se pet frakcija metala: (1) izmjenjiva, (2) vezana uz karbonate, (3) vezana uz Fe/Mn

okside, (4) vezana uz organsku tvar i sulfide te (5) rezidualna frakcija, povezana s mineralnom rešetkom. Rezidualna frakcija obuhvaća metale čvrsto ugrađene u mineralnu rešetku sedimenta. Zbog toga se u uobičajenim okolišnim uvjetima teško oslobađaju u vodeni stupac te su slabije mobilni i manje bioraspoloživi. Ostale frakcije sadržavaju metale koji su slabije vezani uz sastavnice sedimenta i mogu se lakše osloboditi pri promjeni okolišnih uvjeta.

2.3.4. Mehanizmi ekotoksičnosti metala u morskom okolišu

Osim o kemijskom obliku, toksičnost elemenata u tragovima ovisi i o njihovu oksidacijskom stanju. Spojevi Cr(VI) su mobilniji i genotoksičniji od spojeva Cr(III) jer Cr(VI) ulazi u stanice putem transportera za sulfate i fosfate te se u stanici reducira u niža oksidacijska stanja. Tijekom tih reakcija mogu nastati reaktivne kisikove vrste, koje mogu oštetiti stanične komponente (Sawicka i sur., 2021). Slično tomu, toksičnost arsena (As) također ovisi o oksidacijskom stanju. Anorganski As(III), odnosno arsenit, općenito je toksičniji od As(V), odnosno arsenata, zbog većeg afiniteta prema tiolnim skupinama proteina. Arsenat ulazi u stanice putem fosfatnih transportera zbog sličnosti s fosfatnim ionima (Genchi i sur., 2022).

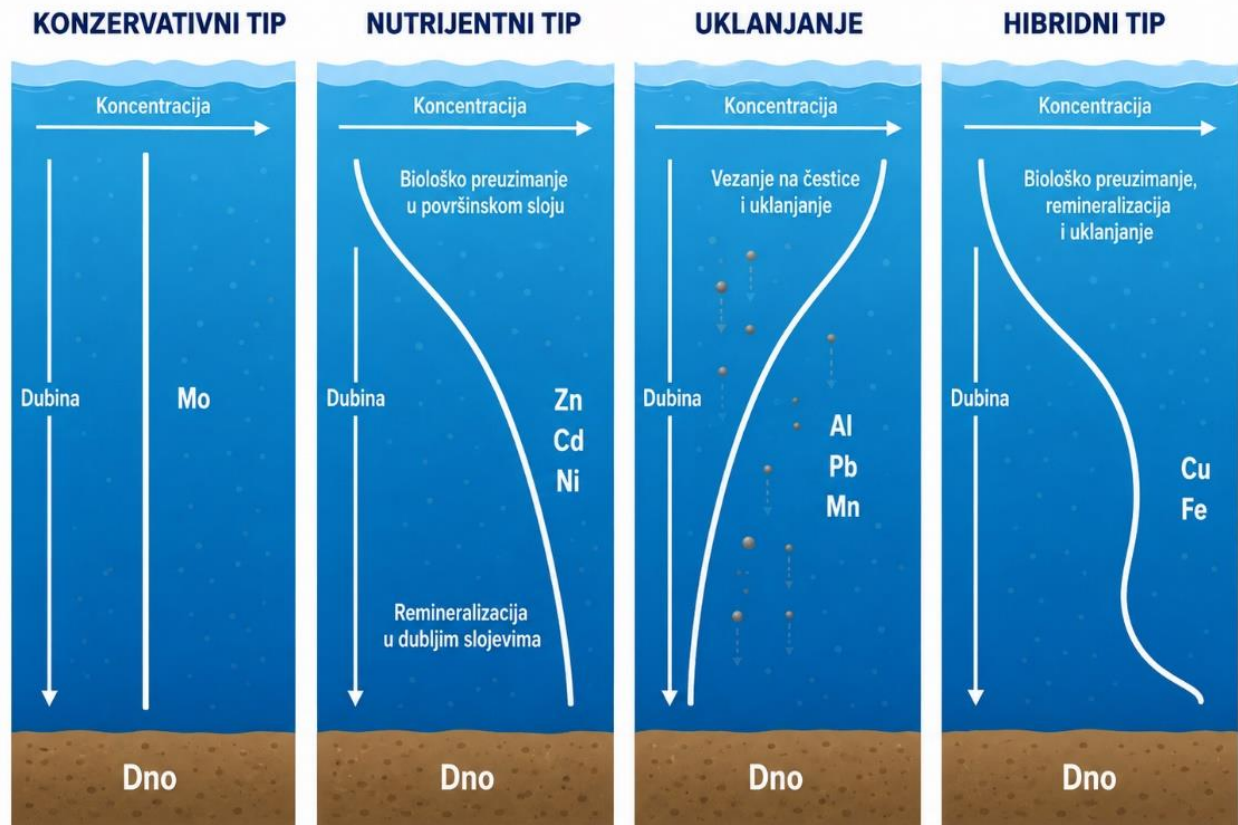
Mikroorganizmi mogu mijenjati kemijski oblik pojedinih elemenata i time utjecati na njihovu toksičnost. Najpoznatiji je primjer mikrobno metiliranje žive (Hg), pri čemu iz anorganske Hg nastaje MeHg, jedan od najtoksičnijih oblika Hg u vodenom okolišu zbog velike bioraspoloživosti te sposobnosti bioakumulacije i biomagnifikacije u hranidbenim mrežama (Jeong i sur., 2024; Peng i sur., 2024). Navedeni procesi pokazuju da kemijska specijacija i oksidacijsko stanje elemenata u tragovima utječu na njihovu mobilnost, bioraspoloživost i toksičnost. Toksični ionski oblici metala mogu se vezati za receptore i transportere na staničnoj membrani te poremetiti unos esencijalnih iona i ionsku ravnotežu u stanici (Brown i Markich, 2024). Nakon ulaska u stanicu metali se mogu vezati za proteine i enzime te ometati njihovu funkciju. Pojedini toksični metali mogu zamijeniti esencijalne metale u aktivnim mjestima enzima i time smanjiti njihovu aktivnost. Metali mogu oštetiti i mitohondrije. Primjerice, Cd može poremetiti funkciju mitohondrijske membrane i respiratornog lanca, čime se smanjuje stvaranje ATP-a i povećava mogućnost nastanka oksidativnog stresa (Turkington i sur., 2025; Qu i Zheng, 2024).

2.3.5. Vertikalna raspodjela metala u morskom okolišu

Raspodjela metala u morskom okolišu ovisi o međudjelovanju bioloških, kemijskih i fizikalnih procesa. Promjene koncentracija otopljenih metala s dubinom odražavaju njihov unos, prijenos i uklanjanje iz vodenog stupca. Prema obliku vertikalnog profila razlikuju se četiri osnovna tipa raspodjele elemenata u tragovima u morskoj vodi (slika 6) (Bruland i sur., 2013):

1. Konzervativna raspodjela – koncentracije se s dubinom malo mijenjaju i uglavnom su povezane sa salinitetom. Takvi elementi slabo reagiraju s česticama i dugo se zadržavaju u morskoj vodi. Primjer je molibden (Mo).
2. Nutrijentna raspodjela – koncentracije otopljenih metala niže su u površinskim slojevima jer ih preuzimaju morski organizmi, osobito fitoplankton. S dubinom se koncentracije povećavaju zbog razgradnje organske tvari i ponovnog oslobađanja metala u vodu. Takva je raspodjela karakteristična za primjerice Zn, Cd i Ni.
3. Raspodjela uklanjanjem – koncentracije metala ovise o njihovim izvorima i vezanju uz čestice. Metali se vežu uz suspendirane čestice i zajedno s njima talože prema sedimentu, pa se njihove koncentracije smanjuju udaljavanjem od izvora. Takva je raspodjela karakteristična za elemente poput Al i Pb.
4. Hibridna raspodjela – objedinjuje obilježja nutrijentne raspodjele i raspodjele uklanjanjem. Na koncentracije istodobno utječu biološko preuzimanje, razgradnja organske tvari i vezanje uz čestice. Takva je raspodjela karakteristična za primjerice Fe i Cu.

VERTIKALNI PROFILI METALA



Slika 6. Osnovni tipovi raspodjele metala u vodenom stupcu.

2.3.6. Metali u morskom okolišu

U nastavku su prikazani najčešće prisutni metali u morskom okolišu, zajedno s njihovim osnovnim svojstvima, izvorima i biogeokemijskim značajkama:

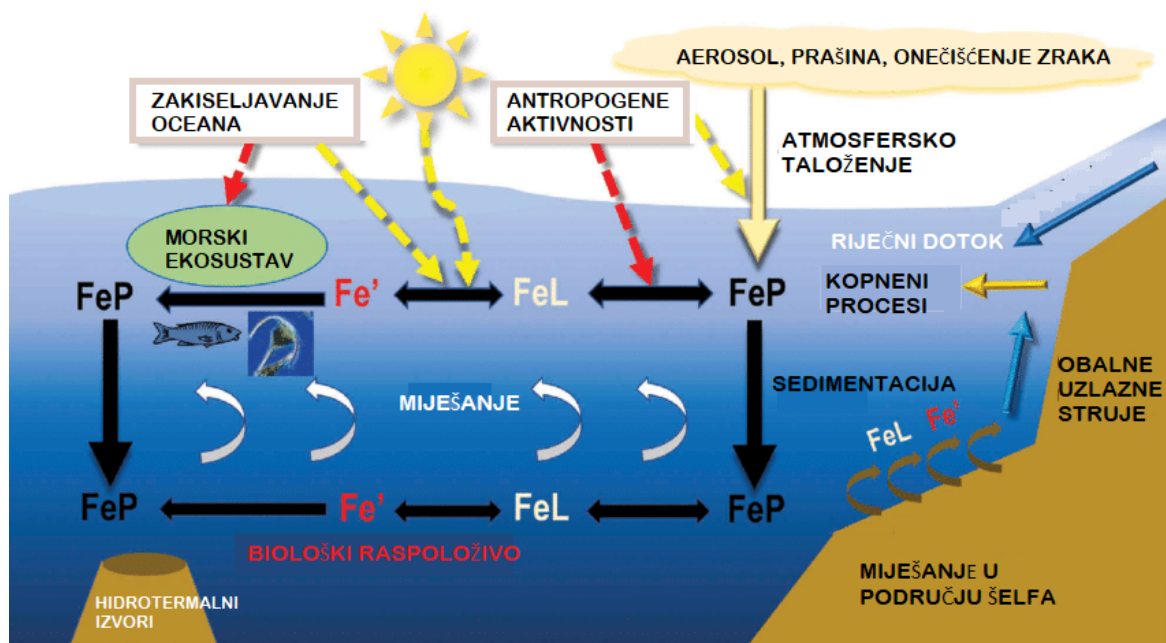
2.3.6.1. Željezo

Željezo (Fe) esencijalan je mikroelement koji sudjeluje u procesima fotosinteze, staničnog disanja, fiksacije dušika i sinteze klorofila te ima važnu ulogu u rastu fitoplanktona, regulaciji primarne proizvodnje i učinkovitosti biološke pumpe ugljika u morskim sustavima (Boyd i Ellwood, 2010; Tagliabue i sur., 2017). Nedostatak bioraspoloživog Fe jedan je od glavnih čimbenika koji ograničavaju rast fitoplanktona u područjima s visokim koncentracijama hranjivih soli i niskim koncentracijama klorofila (engl. *high nutrient, low chlorophyll*, HNLC). U tim su područjima

koncentracije makronutrijenata povišene, ali njihov biološki unos i primarna proizvodnja ostaju ograničeni zbog nedostatne raspoloživosti Fe (Moore i sur., 2013).

Važni izvori i putovi unosa Fe u morski okoliš uključuju atmosfersko taloženje mineralne prašine, riječni unos, površinsko otjecanje s kopna, oslobađanje i resuspenziju Fe iz sedimenta te hidrotermalne izvore (Jickells i sur., 2005; Homoky i sur., 2021). U otvorenom Sredozemnom moru atmosfersko taloženje saharske prašine predstavlja važan vanjski izvor Fe, osobito u površinskim vodama (Jickells i sur., 2005). U morskoj vodi Fe se nalazi u otopljenoj frakciji i vezan uz suspendirane čestice. Dio otopljenog Fe-a prisutan je i u obliku koloida. Više od 99 % otopljenog Fe-a vezano je u komplekse s organskim ligandima, među kojima se izdvajaju siderofori i huminske tvari. Vezanje za organske ligande može povećati topljivost Fe-a i produljiti njegovo zadržavanje u vodenom stupcu (Gledhill, 2012; Tagliabue i sur., 2017). Željezo vezano uz suspendirane čestice može se taložiti u sedimentu.

U oksičnim uvjetima površinskog sloja mora prevladava Fe(III), koji je slabo topljiv te podložan hidrolizi, polimerizaciji i taloženju u obliku reaktivnih Fe(III)-oksidihidroksida. Navedeni spojevi vežu fosfate i elemente u tragovima. Nasuprot tome, Fe(II) je topljiviji i mobilniji, ali se u prisutnosti kisika brzo oksidira u Fe(III). U suboksičnim i anoksičnim uvjetima dolazi do redukcije Fe(III) u topljiviji Fe(II) posredstvom mikroorganizama, pritom se Fe(II) nakuplja u intersticijalnoj vodi i može difundirati prema granici sedimenta i vode. Dio Fe(II) reagira sa sulfidima i taloži se u obliku željezovih sulfida, primjerice pirita (Dale i sur., 2015; Homoky i sur., 2021). Na biogeokemijski ciklus Fe dodatno utječu procesi sedimentacije, miješanja vodenog stupca, atmosferskog taloženja i izmjene na granici sediment – voda, koji reguliraju njegovu raspoloživost i kruženje u morskom okolišu (slika 7).



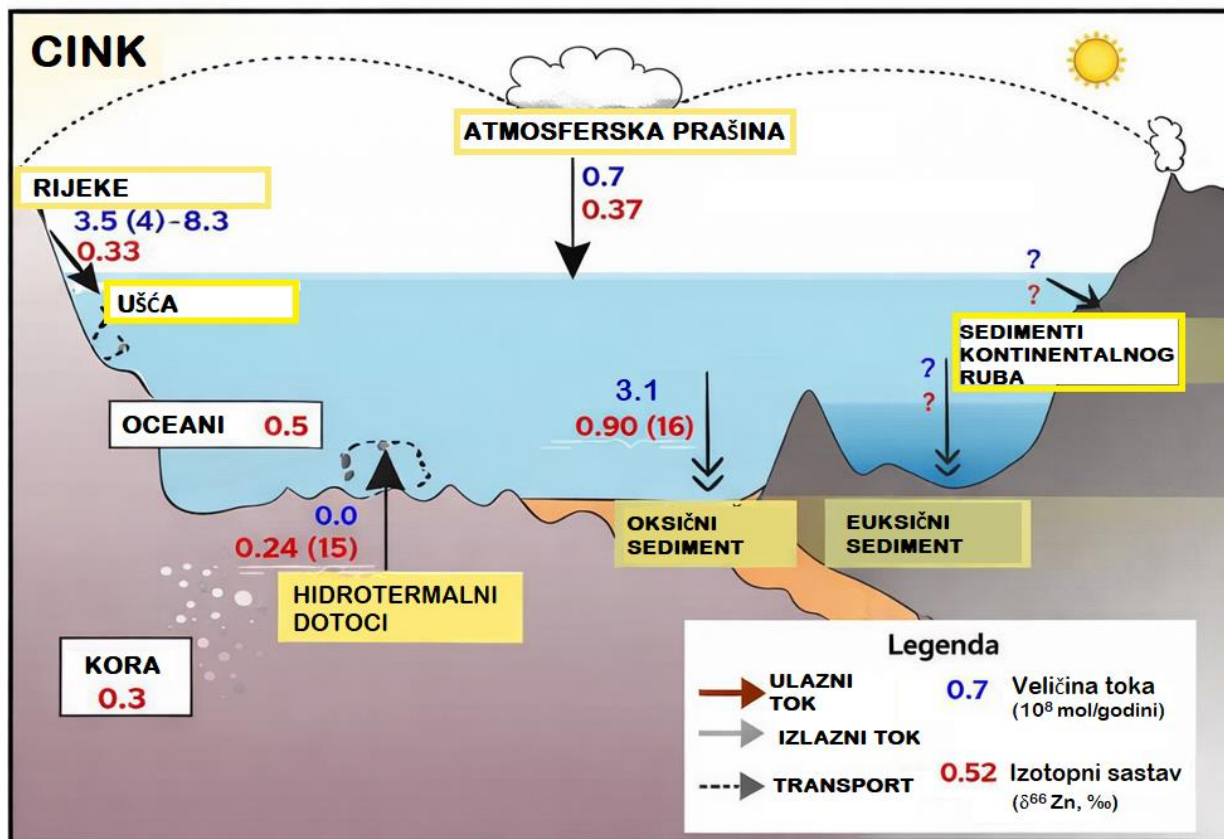
Slika 7. Biogeokemijski ciklus Fe u morskom ekosustavu. Preuzeto i prilagođeno prema Wang i sur. (2018).

Poznavanje prostorne i sezonske raspodjele otopljenog Fe važno je u oligotrofnim sustavima poput Sredozemnog i Jadranskog mora, gdje ograničena dostupnost Fe može značajno utjecati na primarnu proizvodnju. Tijekom kampanje PEACETIME 2017. godine u površinskim vodama izmjerene su koncentracije otopljenog Fe od $1,41 \pm 0,19$ nM u Jonskom moru, $1,47 \pm 0,30$ nM u Tirenskom moru i $1,71 \pm 0,35$ nM na postaji FAST u Alžirskom bazenu, dok su se u kontrolnim spremnicima koncentracije kretale u rasponu od 0,7 do 2,5 nM (Roy-Barman i sur., 2021). Višegodišnja mjerenja u Ligurskom moru pokazala su raspon koncentracija otopljenog Fe od 0,13 nM, do 4,8 nM, pri čemu su povremeni porasti povezani s atmosferskim unosom saharske prašine (Sarhou i Jeandel, 2001). U estuarijskim područjima koncentracije otopljenog Fe mogu znatno varirati zbog izmjene između sedimenta i vodenog stupca. U estuariju rijeke Krke u intersticijalnim vodama izmjerene su koncentracije Fe od 0,06 do 49,70 μ M (Cukrov i sur., 2024). Osim u vodi i sedimentu, Fe je prisutno i u tkivima morskih organizama. U dagnjama s crnogorske obale jugoistočnog Jadrana najviši srednji maseni udio Fe iznosio je 603 mg/kg suhe mase (Joksimović i sur., 2011). Prisutnost Fe potvrđena je i u ribama, primjerice u mišićnom tkivu trlje (*Mullus barbatus*) iz zaljeva Āskenderun, gdje su izmjerene maseni udjeli Fe od 2,45 do 17,92 mg/kg suhe mase (Türkmen i sur., 2004). Prema Uredbi (EU) 2023/915 za Fe nisu propisane najviše dopuštene razine u ribama i školjkašima.

2.3.6.2. Cink

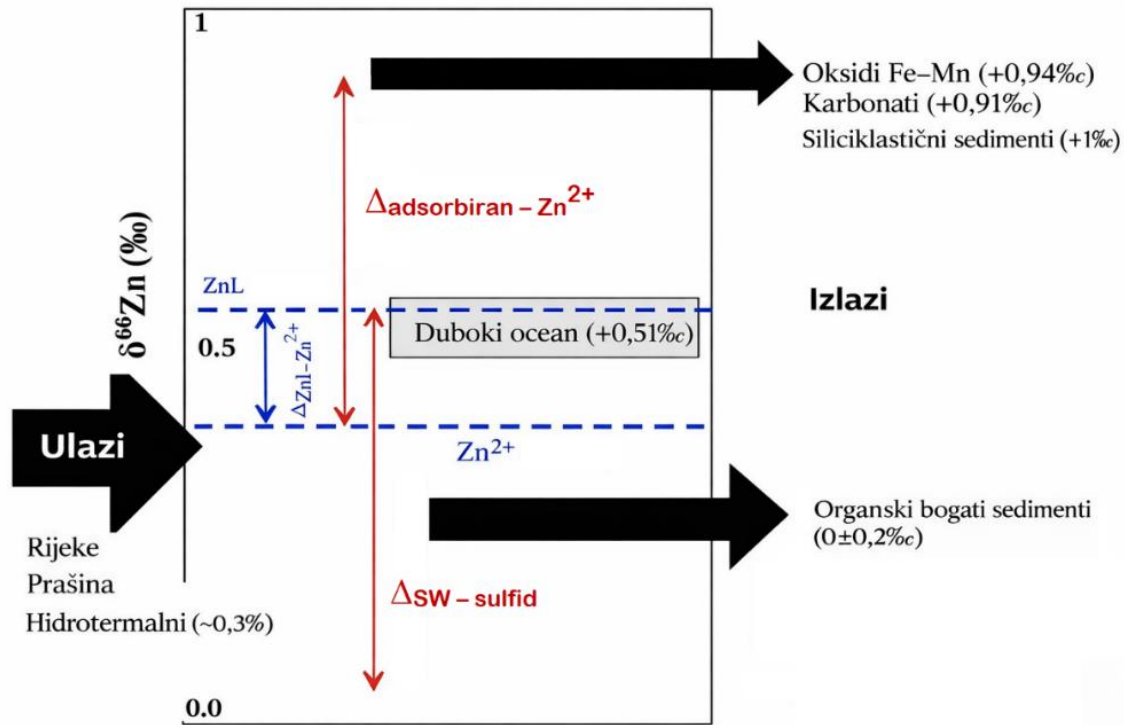
Cink (Zn) je u morskim ekosustavima esencijalan mikroelement i sastavni dio brojnih enzima uključenih u regulaciju metaboličkih i fizioloških procesa u stanicama (Morel i Price, 2003). Jedan od enzima ovisnih o Zn je karbonatna anhidraza, koja katalizira reverzibilnu pretvorbu između CO₂ i hidrogenkarbonatnih iona, čime omogućuje učinkovitije iskorištavanje anorganskog ugljika tijekom fotosinteze fitoplanktona. Cink također sudjeluje u regulaciji transkripcije, metabolizmu stanice te utječe na rast i fiziologiju fitoplanktona (Morel i Price, 2003; Ye i sur., 2022). Pri niskim koncentracijama Zn može ograničiti rast pojedinih vrsta fitoplanktona, dok povišene koncentracije mogu imati toksične učinke, uključujući smanjenje rasta i fotosintetske aktivnosti te pojavu oksidacijskog stresa. Toksičnost Zn razlikuje se među vrstama morskih organizama i ovisi o okolišnim čimbenicima, poput pH-vrijednosti, koncentracije liganada i prisutnosti drugih metala, osobito mangana (Mn) i bakra (Cu) (Sunda i Huntsman, 1996; Sunda, 2012).

Biogeokemijski ciklus Zn-a u morskom okolišu, prikazan na slici 8, obuhvaća razmjenu Zn-a između atmosfere, vodenog stupca, sedimenta, kopnenih područja i oceanske kore. U morskoj vodi Zn je prisutan kao slobodni ion Zn²⁺, u anorganskim kompleksima s ligandima poput klorida i karbonata te u kompleksima s organskim ligandima. U morski okoliš dopijeva riječnim dotokom, atmosferskim taloženjem i hidrotermalnim izvorima, pri čemu je riječni unos osobito važan u priobalnim područjima, a hidrotermalni izvori u dubokom moru i područjima u blizini hidrotermalnih sustava. Na raspodjelu Zn-a u vodenom stupcu utječu biološko preuzimanje, remineralizacija organske tvari, miješanje vodenih masa i reverzibilno vezanje za tonuće čestice. Dio Zn-a uklanja se iz vodenog stupca taloženjem i akumulira u sedimentu, koji u pojedinim uvjetima može djelovati i kao sekundarni izvor Zn-a za vodeni stupac (Roshan i sur., 2018; Weber i sur., 2018).



Slika 8. Biogeokemijski ciklus Zn u morskom okolišu Preuzeto i prilagođeno prema Little i sur. (2015).

Osim koncentracijskih promjena, važan alat u proučavanju izvora i kruženja Zn predstavljaju stabilni izotopi. Izotopni sastav Zn omogućuje razlikovanje prirodnih i antropogenih izvora Zn te praćenje procesa njegova vezanja i prijenosa u morskom okolišu. Kao što je prikazano na slici 9, tijekom adsorpcije Zn na okside i oksihidrokside Fe i Mn može doći do vezanja težih izotopa Zn. Nasuprot tomu, tijekom nastanka sulfidnih minerala češće se vežu lakši izotopi Zn. Takva izotopna frakcionacija omogućuje praćenje biogeokemijskih procesa i procjenu doprinosa pojedinih izvora Zn u morskim i obalnim sustavima (Araújo i sur., 2017; Duan i sur., 2025).



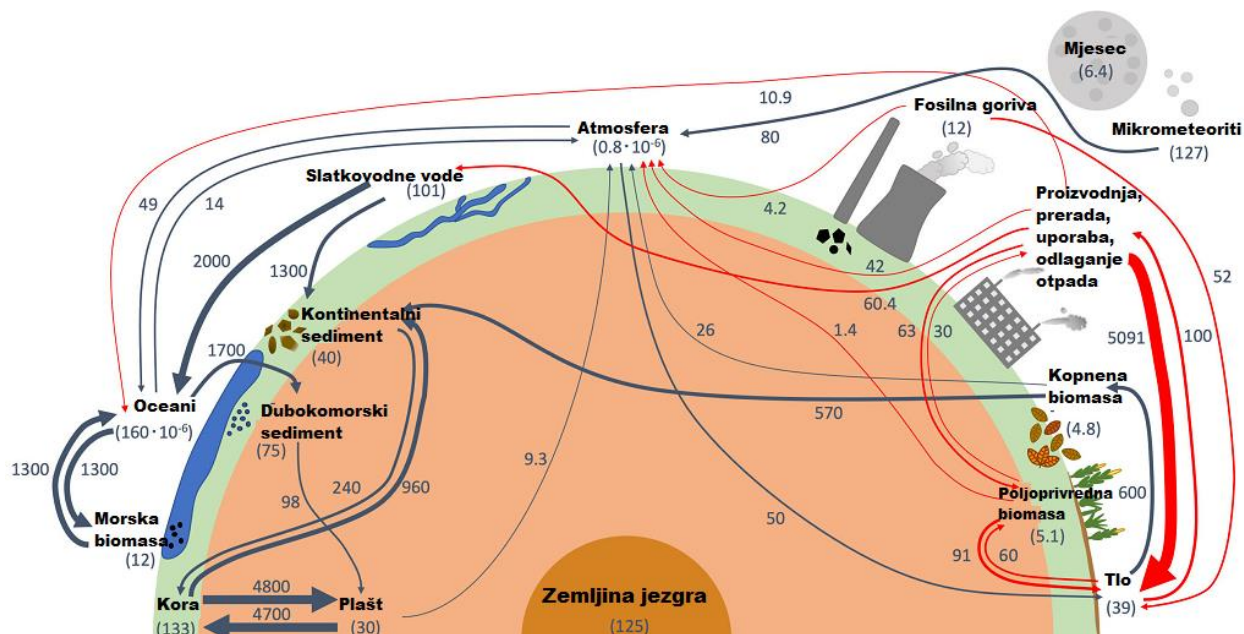
Slika 9. Shematski prikaz izotopne frakcionacije Zn tijekom adsorpcije, sedimentacije i stvaranja sulfidnih minerala u morskom okolišu. Preuzeto i prilagođeno prema Vance i sur. (2016).

U otvorenim oceanima koncentracije otopljenog Zn pokazuju raspodjelu sličnu raspodjeli hranjivih tvari, što je potvrđeno mjerenjima provedenima u okviru programa GEOTRACES i globalnim analizama kruženja otopljenog Zn u oceanu (Middag i sur., 2018; Roshan i sur., 2018;). U Sredozemnom moru površinske koncentracije otopljenog Zn povišene su u odnosu na Atlantski ocean, pri čemu su povezane s atmosferskim taloženjem i antropogenim izvorima (Middag i sur., 2021). U obalnim područjima koncentracije otopljenog Zn mogu pokazivati prostornu varijabilnost. U sjevernom Jadranu povremeno su zabilježene visoke koncentracije otopljenog Zn, koje mogu biti povezane s pomorskim prometom i ispiranjem Zn iz protuobraštajnih premaza na plovilima (Penezić i sur., 2022). Cink je prisutan i u morskim organizmima, osobito u tkivima školjkaša i riba. U dagnjama s crnogorske obale Jadrana izmjereni su maseni udjeli Zn u rasponu od 135 do 210 mg/kg suhe mase (Marković i sur., 2012; Stanković i sur., 2011). U Malostonskom zaljevu srednji maseni udio Zn u tkivu dagnji iznosio je 139 mg/kg suhe mase (Kljaković-Gašpić i sur., 2007). Prema Uredbi (EU) 2023/915 za Zn u ribi i školjkašima nisu propisane najviše dopuštene razine.

2.3.6.3. Bakar

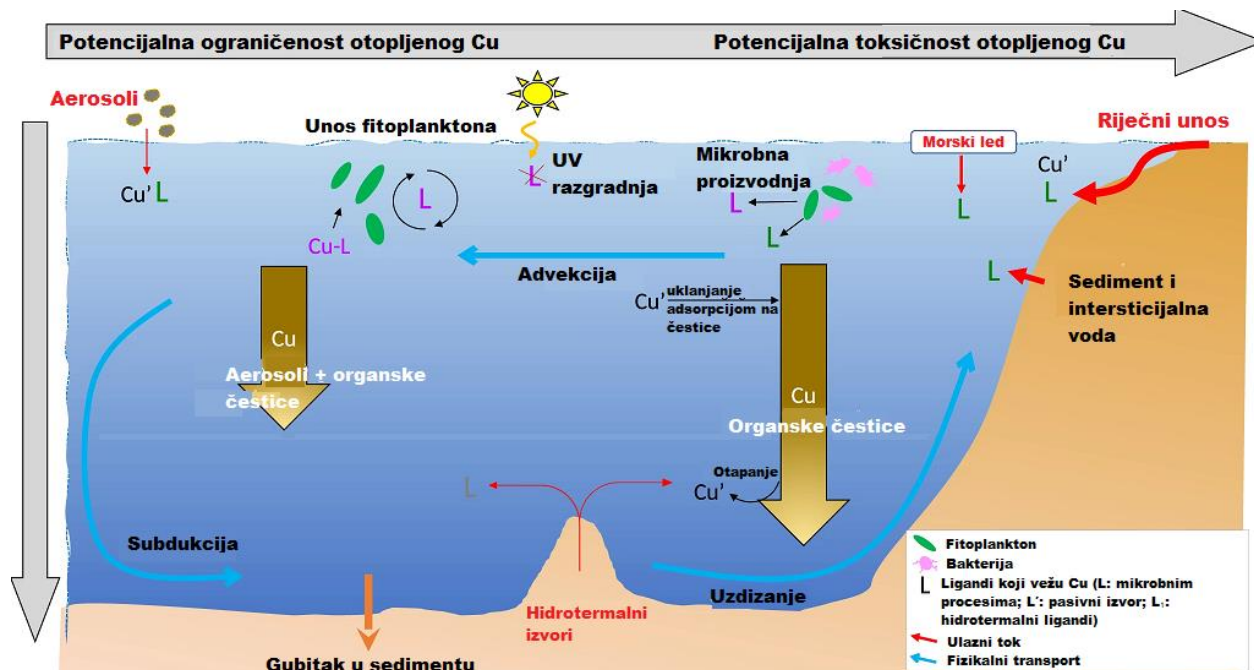
Bakar je esencijalan metal prijelazne skupine koji ima važnu ulogu u brojnim biokemijskim procesima. Njegova sposobnost reverzibilnog prelaska između oksidacijskih stanja Cu^+ i Cu^{2+} omogućuje mu sudjelovanje u prijenosu elektrona, radu enzima i zaštiti stanica od oksidativnog stresa, primjerice u enzimima poput citokrom c oksidaze i superoksid dismutaze. U niskim koncentracijama Cu je neophodan za normalno funkcioniranje organizama, dok pri povišenim koncentracijama može postati toksičan, osobito povećanjem udjela slobodnih Cu^{2+} iona. Povišene koncentracije Cu mogu inhibirati fotosintezu i metaboličke procese, usporiti rast te izazvati toksične učinke kod fitoplanktona, rakova i školjkaša. Toksičnost Cu povezana je s pojavom oksidacijskog stresa, oštećenjem staničnih membrana i inhibicijom enzimske aktivnosti, a ovisi o kemijskoj specijaciji i udjelu bioraspoloživih oblika Cu u vodi (Barber-Lluch i sur., 2023).

Bakar u morski okoliš prirodno dospijeva atmosferskim taloženjem, unosom rijekama te hidrotermalnim izvorima na srednjooceanskim hrptovima, koji su važan izvor Cu-a u dubokom oceanu (slika 10) (German i sur., 2016; Wang i sur., 2024). Dio Cu unesenog hidrotermalnim izvorima uklanja se u blizini izvorišta vezanjem na čestice i taloženjem (German i sur., 2016; Wang i sur., 2024). U obalnim područjima važni antropogeni izvori Cu su izgaranje fosilnih goriva, industrijske aktivnosti, gospodarenje otpadom, komunalne i industrijske otpadne vode, lučke i brodograđevne djelatnosti, korozija metalnih konstrukcija te primjenu biocidnih premaza protiv obraštaja na plovilima (slika 10) (Comber i sur., 2022). Dio antropogeno unesenog Cu akumulira se u tlu, odakle se ispiranjem i erozijom tla može ponovno unijeti u rijeke, estuarije i priobalno more, omogućujući njegovo daljnje kruženje između kopnenih i morskih okoliša (slika 10).



Slika 10. Globalni ciklus Cu. Preuzeto i prilagođeno prema URL 2.

Raspodjela i kruženje Cu u vodenom stupcu uvelike ovise o prisutnosti organskih liganada koji vežu Cu te reguliraju njegovu kemijsku specijaciju, odnosno omjer između kompleksiranih i slobodnih oblika Cu (slika 11) (Ruacho i sur., 2022). U morskoj vodi Cu se pojavljuje u dva oksidacijska stanja, kao Cu^{2+} i biološki ili fotokemijski reducirani Cu^+ , pri čemu je više od 99 % otopljenog Cu vezano u komplekse s organskim ligandima (Ruacho i sur., 2022). Kompleksiranje s organskim ligandima smanjuje udio slobodnog Cu^{2+} , koji predstavljaju jedan od biološki najreaktivnijih oblika Cu te time smanjuje njegovu potencijalnu toksičnost za morske organizme (Ng i sur., 2025). Organske ligande proizvode bakterije i fitoplankton, ali mogu potjecati i iz rijeka, sedimenta i razgradnje organske tvari. Oni vežu Cu i reguliraju njegovu bioraspodjelu. Fotokemijska razgradnja organskih liganada pod utjecajem sunčeva zračenja može povećati udio slabije vezanih i bioraspodjeljivijih oblika Cu. Osim kompleksacije s organskim ligandima, na ponašanje Cu u morskom okolišu utječu i brojni biološki, kemijski i fizikalni procesi (slika 11). Fitoplankton preuzima Cu iz vode za potrebe metaboličkih procesa, nakon čega se dio Cu adsorbira na organske čestice i uklanja sedimentacijom prema dubljim slojevima mora i sedimentu. Dio Cu-a vezanoga uz čestice može se ponovno osloboditi njihovim otapanjem i vratiti u otopljenu fazu, dok procesi poput resuspenzije sedimenta, bioturbacije i promjena redoks uvjeta mogu privremeno povećati njegovu bioraspodjelu (Ruacho i sur., 2022). Na vertikalnu i horizontalnu raspodjelu Cu i organskih liganada dodatno utječu transport i miješanje vodenih masa (Ruacho i sur., 2022).

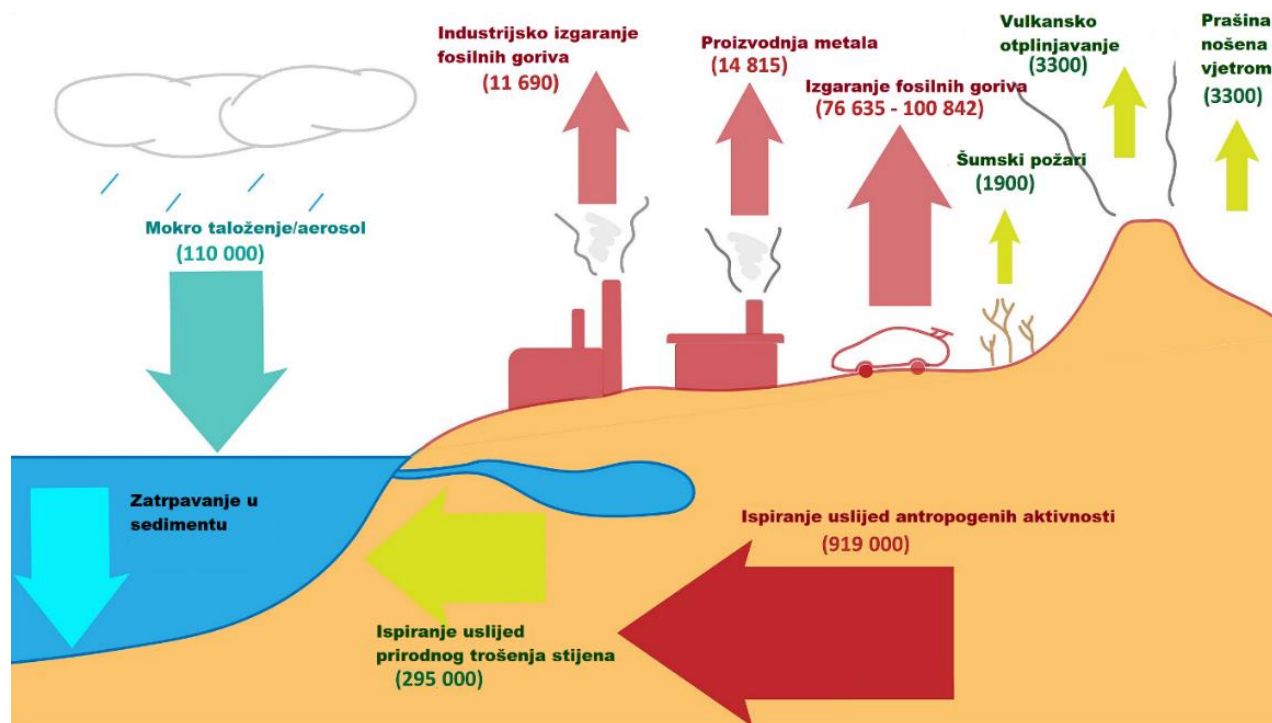


Slika 11. Biogeokemijski ciklus Cu u morskom okolišu s prikazom uloge organskih liganada, fizikalnog transporta i procesa koji reguliraju raspoloživost i potencijalnu toksičnost Cu. Preuzeto i prilagođeno prema Ruacho i sur. (2022).

U površinskim vodama otvorenih oceana koncentracije otopljenog Cu najčešće se kreću u rasponu od približno 0,5 do 2 nmol/kg, a mogu se povećavati s dubinom (Takano i sur., 2022). U sjevernom Jadranu, u priobalnim vodama, izmjerene su koncentracije otopljenog Cu u rasponu od 3 do 28 nmol/L, s najvišim vrijednostima u površinskom sloju u proljetnom i ranom ljetnom razdoblju (Penezić i sur., 2022). U obalnim i zatvorenim morskim sustavima povišene koncentracije Cu u vodenom stupcu mogu se odraziti i na njegovu akumulaciju u sedimentu i bioti. Na području jugoistočnog Jadrana, u mekom tkivu dagnji s crnogorske obale, izmjereni su maseni udjeli Cu u rasponu od 7,50 do 14,50 mg/kg suhe mase (Marković i sur., 2012). U Malostonskom zaljevu srednji maseni udio Cu u jestivom tkivu dagnji iznosio je 5,60 mg/kg suhe mase (Kljaković-Gašpić i sur., 2007). Bakar je izmjeren i u ribama, primjerice u mišićnom tkivu trlje iz Āskenderunskog zaljeva u istočnom Sredozemlju, gdje su zabilježeni maseni udjeli Cu od 1,42 do 2,98 mg/kg suhe mase (Türkmen i sur., 2005). Prema Uredbi (EU) 2023/915 za Cu u ribi i školjkašima nisu propisani najviši dopušteni maseni udjeli.

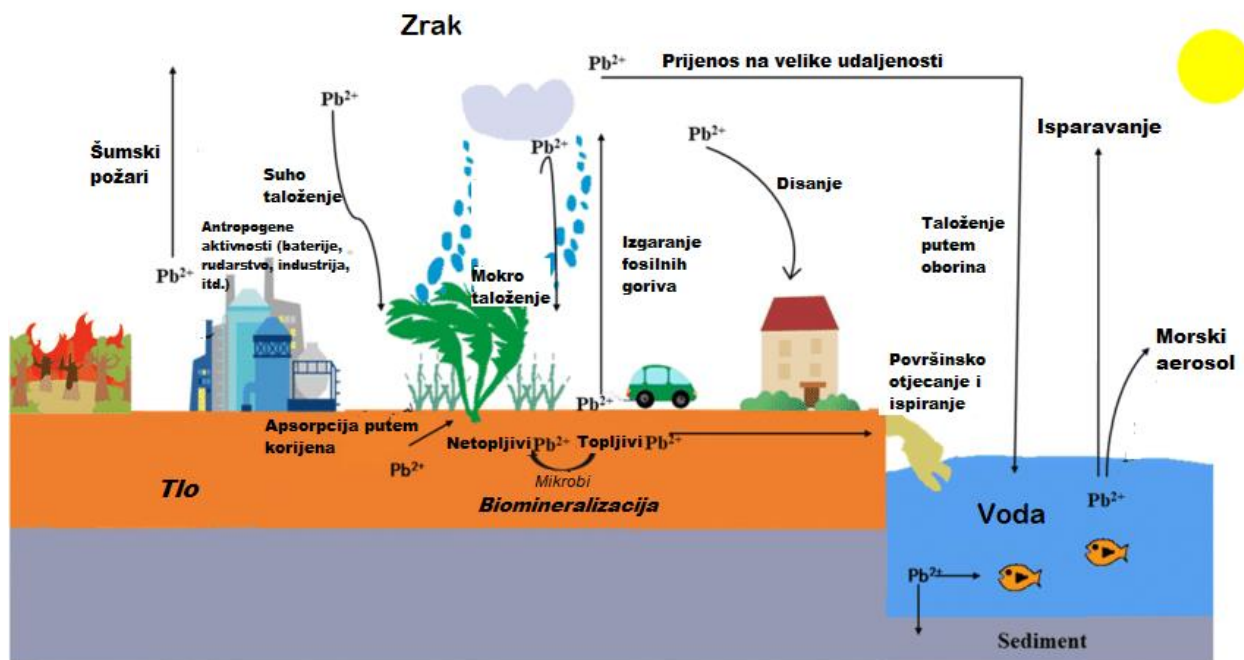
2.3.6.4. Olovo

Olovo (Pb) je neesencijalan i toksičan metal koji može uzrokovati štetne učinke i pri relativno niskim koncentracijama u okolišu. Izloženost Pb-u može dovesti do poremećaja živčanog, imunološkog i reproduktivnog sustava te smanjiti rast, razvoj i preživljavanje morskih organizama. Posebno su osjetljivi morski beskralježnjaci, poput školjkaša, rakova i riba (Botté i sur., 2022). U morskoj vodi Pb se pojavljuje pretežito u obliku anorganskih kompleksa, osobito karbonatnih i kloridnih, dok slobodni Pb^{2+} ion čini manji udio ukupnog otopljenog Pb. Dio Pb-a može biti vezan i na organske ligande, ovisno o sastavu otopljene organske tvari i fizikalno-kemijskim uvjetima okoliša (Nabi i sur., 2025; Woosley i Millero, 2013). U morski okoliš Pb dopijeva prirodnim procesima, uključujući trošenje stijena, vulkansku aktivnost, atmosferski prijenos mineralnih čestica, hidrotermalne izvore i požare. Međutim, u obalnim područjima često prevladavaju antropogeni izvori (slika 12). Među najznačajnijima su atmosfersko taloženje iz urbanih i industrijskih područja, izgaranje fosilnih goriva, metalurške i druge industrijske aktivnosti, aktivnosti u lukama i brodogradilištima te ispuštanje komunalnih i industrijskih otpadnih voda (Cullen i McAlister, 2017; Liu i sur., 2023; Tornero i Hanke, 2016).



Slika 12. Shematski prikaz dominantnih izvora Pb u obalno-morskom sustavu. Preuzeto i prilagođeno prema Cullen i McAlister (2017).

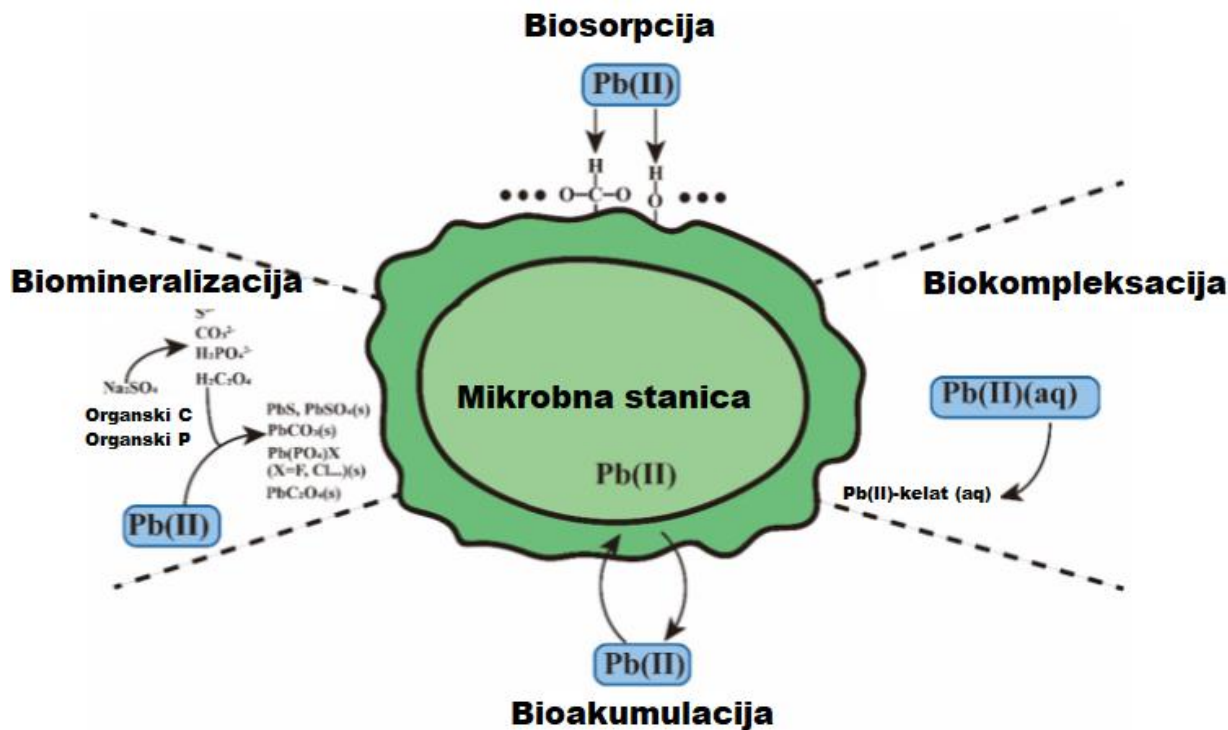
Nakon atmosferskog transporta Pb se može izravno taložiti na morsku površinu ili na kopno, odakle se ispiranjem tla, površinskim otjecanjem i rijekama prenosi u obalna područja (slika 13). U vodenom stupcu Pb se veže na suspendirane čestice i organsku tvar te se njihovim taloženjem prenosi prema sedimentu i akumulira u njegovim površinskim slojevima. Time se smanjuje udio otopljenog Pb u vodi, ali ne nužno i njegova ukupna bioraspoloživost, jer se Pb pod određenim uvjetima može ponovno mobilizirati. U sedimentima se Pb može vezati na okside i hidrokside Fe i Mn, organsku tvar i sulfide, ali i na karbonate te minerale gline (Stumm i Morgan, 1996). Promjene redoks-uvjeta i pH, razgradnja organske tvari te resuspenzija sedimenta mogu potaknuti oslobađanje Pb u intersticijalnu vodu i njegovo ponovno otpuštanje u vodeni stupac. U vodenom stupcu reverzibilno vezanje Pb na čestice i njegovo oslobađanje s čestica omogućuju prijenos Pb iz površinskih u dublje slojeve mora (Lanning i sur., 2023; Olivelli i sur., 2024).



Slika 13. Shema biogeokemijskog ciklusa Pb-a u morskome ekosustavu. Preuzeto i prilagođeno prema Shan i sur. (2021).

Mikroorganizmi imaju važnu ulogu u procesima koji određuju specijaciju i bioraspoloživost Pb-a u morskome okolišu. Kao što je prikazano na slici 14, Pb se može vezati za funkcionalne skupine na površini mikrobnih stanica i u izvanstaničnim polimernim tvarima (engl. *extracellular polymeric substances*, EPS), čime se smanjuje koncentracija slobodnog Pb^{2+} u okolišu. Osim biosorpcije i kompleksiranja, mikroorganizmi mogu potaknuti i biomineralizaciju Pb-a, uključujući

njegovo taloženje u obliku teško topljivih karbonatnih, fosfatnih i sulfidnih spojeva. Time se smanjuju njegova topljivost, mobilnost i bioraspoloživost u okolišu (Shan i sur., 2021; George i Wan, 2023).



Slika 14. Shematski prikaz mikrobno posredovanih mehanizama uklanjanja i transformacije Pb(II) u morskom okolišu. Preuzeto i prilagođeno prema Bolan i sur. (2020).

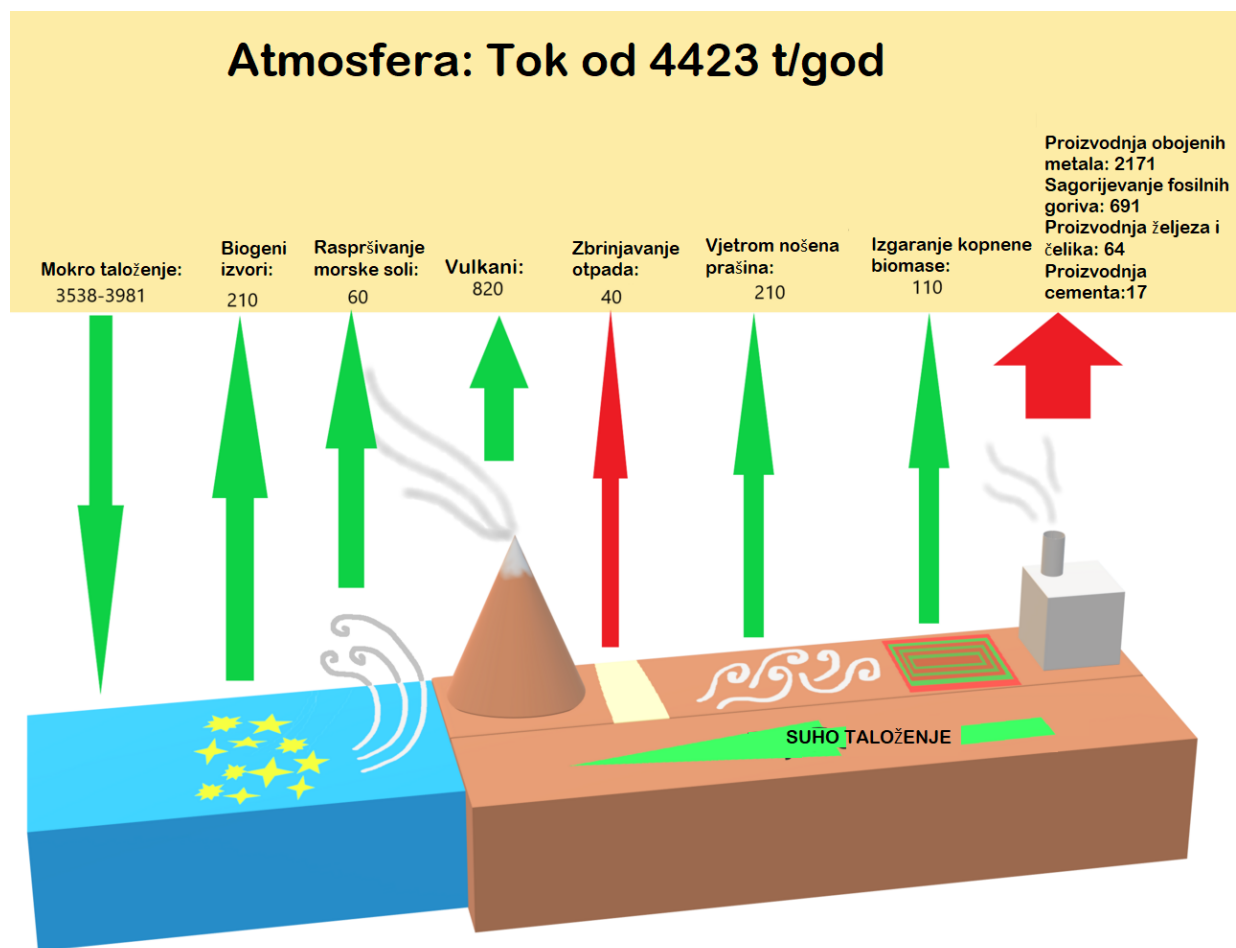
Uz raspodjelu u vodi i sedimentu, Pb se akumulira i u organizmima. U dagnjama s crnogorske obale jugoistočnog Jadrana izmjereni su maseni udjeli Pb-a u rasponu od 4,00 do 11,50 mg/kg suhe mase (Stanković i sur., 2011). U Riječkom i Tršćanskom zaljevu utvrđena je izražena prostorna i sezonska varijabilnost masenih udjela Pb-a u dagnjama, pri čemu su više vrijednosti zabilježene na lokacijama pod jačim antropogenim utjecajem (Bajc i Kirbiš, 2019; Perić i sur., 2012). Povišeni maseni udjeli Pb-a zabilježeni su i u području Dardanela, gdje su u dagnjama utvrđeni maseni udjeli do 6,03 mg/kg suhe mase (Çayır i sur., 2012). Sezonske promjene masenih udjela Pb-a opažene su i u laguni Calich na Sardiniji, pri čemu tijekom istraživanja nisu utvrđena prekoračenja graničnih vrijednosti propisanih regulativom EU (Meloni i sur., 2022).

Prisutnost Pb-a potvrđena je i u ribama istočnog Jadrana. Na crnogorskoj obali srednji maseni udio Pb-a u mišićnom tkivu trlje blatarice iznosio je 0,03 mg/kg mokre mase, a u osliću (*Merluccius merluccius*) 0,025 mg/kg mokre mase (Bošković i sur., 2023). U hrvatskom dijelu Jadrana u mišićnom tkivu različitih vrsta riba utvrđeni su maseni udjeli Pb-a u rasponu od 0,001 do 0,34 mg/kg u inćunu (*Engraulis encrasicolus*), 0,002 do 0,24 mg/kg u skuši (*Scomber japonicus*), 0,001 do 0,27 mg/kg u trlji (*Mullus surmuletus*) te 0,001 do 0,46 mg/kg u šparu (*Spicara smaris*) (Bilandžić i sur., 2010). Prema Uredbi (EU) 2023/915, najviši dopušteni maseni udio Pb-a u školjkašima iznosi 1,5 mg/kg mokre mase te 0,30 mg/kg mokre mase u mišićnom tkivu riba. Usporedba dostupnih podataka iz Jadrana i šireg sredoziemnog područja pokazuje da su maseni udjeli Pb-a u većini analiziranih uzoraka ispod propisanih graničnih vrijednosti, no lokalni izvori onečišćenja mogu u pojedinim priobalnim područjima i estuarijima uzrokovati povišene vrijednosti Pb-a.

2.3.6.5. *Kadmij*

Kadmij (Cd) je za većinu organizama neesencijalan i toksičan metal koji se u morskim ekosustavima smatra onečišćujućom tvari zbog sposobnosti bioakumulacije. Iznimku čine pojedine vrste morskih dijatomeja, koje pri ograničenoj dostupnosti Zn mogu koristiti Cd u određenim enzimskim procesima. Pri povišenim koncentracijama Cd može uzrokovati oksidativni stres, oštećenje tkiva te poremećaje metaboličkih i fizioloških funkcija (Lee i sur., 2024; Saravanan i sur., 2024). U morskom okolišu Cd se pojavljuje pretežito u oksidacijskom stanju +II. U otopljenoj fazi morske vode Cd se pojavljuje pretežito u obliku kloridnih kompleksa, dok je slobodni ion Cd^{2+} zastupljen u manjem udjelu. Smanjenjem saliniteta smanjuje se udio kloridnih kompleksa, a povećava udio slobodnog Cd^{2+} , a time se može povećati i njegova bioraspoloživost. Kadmij može tvoriti i komplekse s drugim anorganskim te organskim ligandima, dok se dio veže na suspendirane čestice. Slobodni Cd^{2+} smatra se jednim od najbioraspoloživijih oblika Cd jer se može vezati na površinu stanice i unositi u stanicu putem membranskih transportnih sustava (Lee i sur., 2024; Liang i sur., 2023). Toksičnost Cd povezana je s njegovim vezanjem za sulfhidrilne skupine proteina i narušavanjem staničnih funkcija. Izloženost Cd istodobno potiče sintezu metalotioneina (MT), proteina bogatih cisteinom koji sudjeluju u vezanju i detoksikaciji metala. Nastankom kompleksa Cd-MT smanjuje se udio slobodnog Cd u stanici, ali se ujedno može povećati njegovo zadržavanje i nakupljanje u tkivima (Nordberg i Nordberg, 2022).

U morski okoliš Cd dopijeva trošenjem stijena, vulkanskom aktivnošću, atmosferskim taloženjem i riječnim unosom. Dio Cd vezanog na suspendirane čestice taloži se i akumulira u sedimentu. U obalnim područjima dodatni unos Cd potječe ponajprije od industrijskih emisija, komunalnih i industrijskih otpadnih voda te poljoprivrednih aktivnosti, osobito uporabe fosfatnih gnojiva (slika 15) (Saravanan i sur., 2024; Xu i Yu, 2024).



Slika 15. Ciklus kruženja Cd između atmosfere, kopna, rijeka i morskog okoliša. Preuzeto i prilagođeno prema Cullen i Maldonado (2012).

Vertikalnu raspodjelu otopljenog Cd obilježavaju niže koncentracije u površinskim slojevima i njihov porast s dubinom, što je posljedica biološkog preuzimanja Cd u eufotičkoj zoni i njegova ponovnog oslobađanja tijekom razgradnje organske tvari u dubljim slojevima mora (Middag i sur., 2021). U Sredozemnom moru, uključujući priobalna područja Jadrana, na raspodjelu Cd dodatno mogu utjecati atmosferski unos i lokalni antropogeni izvori (Middag i sur., 2022; El-Sharkawy i

sur., 2025). U površinskim vodama sjevernog Jadrana koncentracije otopljenog Cd kretale su se u rasponu od približno 0,03 do 0,18 nM (Penezić i sur., 2022). Povišene koncentracije Cd u sedimentu zabilježene su u pojedinim priobalnim područjima izloženima antropogenim utjecajima, poput riječke luke i Kaštelanskog zaljeva (Cukrov i sur., 2011; Ujević i sur., 2010).

Kadmij se akumulira i u morskim organizmima. U zapadnom Sredozemnom moru, na području Balearskih otoka, najviši srednji maseni udio Cd (*Callinectes sapidus*) izmjereni su prosječni maseni udjeli Cd do $0,18 \pm 0,12$ mg/kg mokre mase (Perelló i sur., 2025). U dagnjama iz Malostonskog zaljeva izmjereni su maseni udjeli Cd u rasponu od 0,39 do 2,40 mg/kg suhe mase (Kljaković-Gašpić i sur., 2007), dok su u dagnjama s crnogorske obale jugoistočnog Jadrana izmjereni maseni udjeli od 1,7 do 2,1 mg/kg suhe mase (Stanković i sur., 2011). Navedeni rezultati potvrđuju prisutnost Cd u morskim organizmima te ukazuju na razlike u njegovoj akumulaciji među područjima istraživanja i vrstama organizama. Prema Uredbi (EU) 2023/915, najviši dopušteni maseni udjeli Cd-a za jestivi dio riba i ribljih proizvoda iznose od 0,05 do 1,0 mg/kg mokre mase, dok je za školjkaše propisan najviši dopušteni maseni udio od 0,50 mg/kg mokre mase.

2.3.6.6. Živa

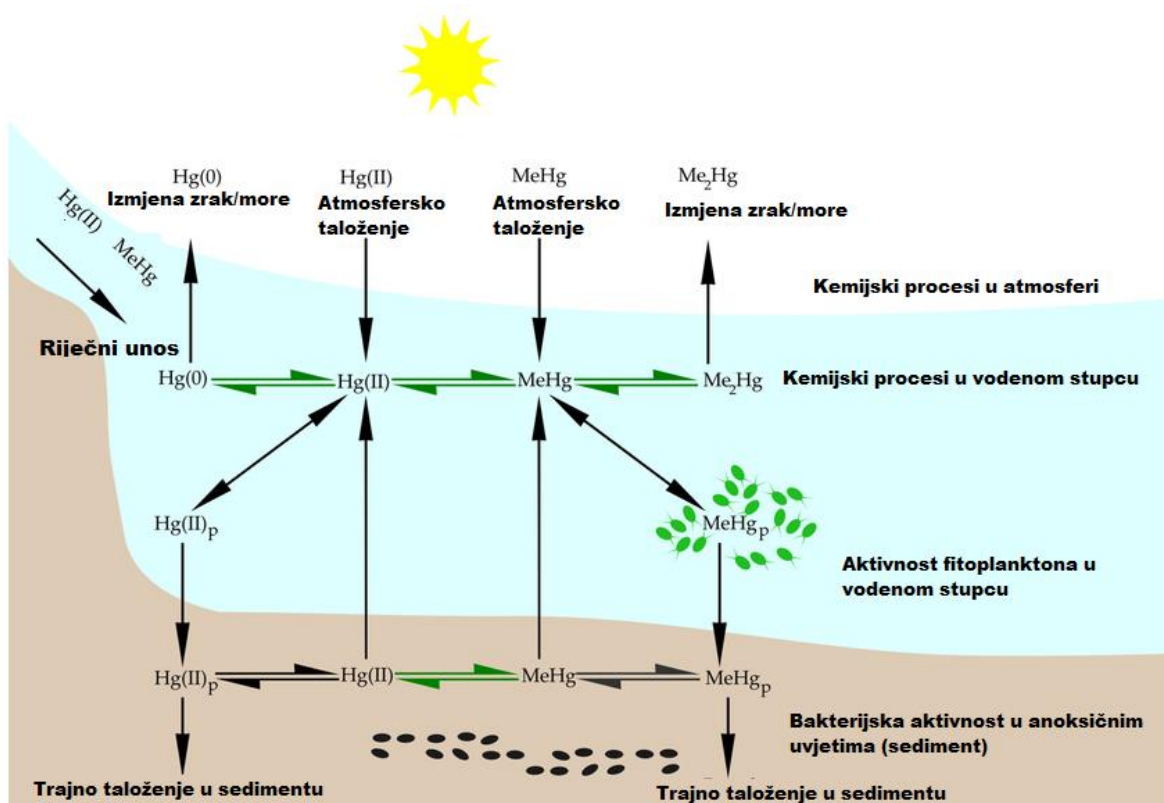
Živa (Hg) je vrlo toksičan element u morskim ekosustavima. Iako su njezine koncentracije u morskoj vodi vrlo niske i najčešće se kreću u rasponu od pikograma do nanograma po litri. U morski okoliš dospijeva prirodnim procesima, poput trošenja stijena, vulkanske i geotermalne aktivnosti te rijekama, ali i antropogenim izvorima, ponajprije izgaranjem fosilnih goriva, industrijskim procesima i otpadnim vodama (Ray i sur., 2025; UNEP, 2019).

U morskom okolišu Hg se pojavljuje u nekoliko kemijskih oblika, koji se mogu svrstati u tri glavne skupine: elementarna Hg (Hg^0), anorganske oblike dvovalentne Hg (Hg^{2+}) i organske spojeve Hg. Elementarna Hg^0 je hlapljiva te omogućuje izmjenu Hg između atmosfere i mora. Anorganski oblici Hg(II) u vodenom stupcu tvore komplekse s organskim i anorganskim ligandima, vežu se za suspendirane čestice i organsku tvar te sudjeluju u procesima adsorpcije, desorpcije i redoks-reakcijama. Sediment, osobito u obalnim i estuarijskim područjima, predstavlja važan rezervoar Hg i mjesto njezinih daljnjih biogeokemijskih transformacija, posebno na lokacijama izloženima dugotrajnom antropogenom opterećenju (Beckers i Rinklebe, 2017). Organski oblici Hg u

morskom okolišu uključuju MeHg i dimetil-živu (Me_2Hg). Dimetil-živa može nastati biotičkim i abiotičkim procesima, a njezina razgradnja može pridonijeti nastanku MeHg u morskoj vodi. Metil-živa toksikološki je i biološki najznačajniji oblik Hg zbog visoke bioraspodivnosti, akumulacije u organizmima i prijenosa kroz hranidbenu mrežu. Nakon unosa u organizam MeHg se može nakupljati u tkivima i izazvati štetne učinke već pri niskim koncentracijama (Driscoll i sur., 2013; Lamborg i sur., 2014; Sundseth i sur., 2017).

Mikrobna metilacija anorganske Hg^{2+} (slika 16) smatra se jednim od najvažnijih mehanizama nastanka MeHg u morskim sustavima. Proces se odvija ponajprije u sedimentima te u suboksičnim i anoksičnim slojevima vodenog stupca, a provode ga različite skupine mikroorganizama, uključujući sulfat-reducirajuće i željezo-reducirajuće bakterije, sintrofne mikroorganizme i metanogene arheje. Važnost mikrobne metilacije potvrđena je identifikacijom gena *hgcA* i *hgcB*, koji su ključni za pretvorbu anorganske Hg u MeHg (Parks i sur., 2013; Podar i sur., 2015). Intenzitet procesa ovisi o dostupnosti anorganske Hg, udjelu organske tvari, redoks-uvjetima i aktivnosti mikrobnih zajednica, zbog čega sedimenti i estuariji predstavljaju važna mjesta nastanka MeHg.

Metil-živa stvara stabilne komplekse s aminokiselinama, osobito s cisteinom. Kompleks MeHg s cisteinom strukturno nalikuje određenim aminokiselinama, što olakšava njegov prijenos kroz biološke membrane. Nakon ulaska u organizam MeHg se snažno veže na proteine bogate tiolnim (-SH) skupinama te stvara stabilne Hg-S komplekse koji se sporo metaboliziraju i izlučuju. Posljedica toga su dug biološki poluživot i postupno nakupljanje u tkivima (Ray i sur., 2025; Schartup i sur., 2019). Akumulacija MeHg započinje već u primarnim proizvođačima, osobito u fitoplanktonu, nakon čega se prenosi kroz hranidbenu mrežu. Zbog sporog izlučivanja njezine se koncentracije povećavaju prema višim trofičkim razinama, pa su najviše vrijednosti zabilježene u predatorskim organizmima (Lavoie i sur., 2013; Schartup i sur., 2019).



Slika 16. Biogeokemijski ciklus Hg. Preuzeto i prilagođeno prema Soerensen i sur. (2016).

Bioakumulacija i biomagnifikacija MeHg imaju značajne implikacije na zdravlje ljudi, budući da konzumacija ribe i drugih morskih organizama predstavlja glavni put izloženosti ljudi MeHg. Nakon oralnog unosa MeHg se apsorbira u probavnom sustavu, raspodjeljuje u različita tkiva te prolazi kroz krvno-moždanu i placentarnu barijeru. Metil-živa ponajprije oštećuje živčani sustav, osobito tijekom prenatalnog razvoja i ranog djetinjstva. Dugotrajnija izloženost može utjecati i na kardiovaskularni, imunosni i reproduktivni sustav (Hernandez-Jerez i sur., 2023; Ray i sur., 2025; Schartup i sur., 2019).

U vodama otvorenog Sredozemnog mora koncentracije ukupne Hg vrlo su niske i prosječno iznose oko $0,26 \pm 0,10$ ng/L (Kotnik i sur., 2007). Iznimku predstavlja sjeverni Jadran, gdje su zbog dugotrajnog unosa Hg iz rudarskog područja Idrije i njenog prijenosa rijekom Sočom prema Tršćanskom zaljevu zabilježene povišene koncentracije Hg u morskom okolišu (Hines i sur., 2000; Horvat i sur., 1999; Živković i sur., 2017). U dagnjama iz Malostonskog zaljeva maseni udjeli ukupne Hg kretali su se od 0,08 do 0,28 mg/kg suhe mase (Kljaković-Gašpić i sur., 2007), dok su

u dagnjama s crnogorske obale jugoistočnog Jadrana utvrđeni maseni udjeli od 0,07 do 0,59 mg/kg suhe mase (Marković i sur., 2012).

Povišeni maseni udjeli Hg zabilježeni su i u organizmima viših trofičkih razina. U mišićnom tkivu trlje blatarice iz Jadranskog mora izmjeren je prosječni maseni udio ukupne Hg od 0,49 mg/kg mokre mase, dok je u osliću utvrđen prosječni maseni udio od 0,18 mg/kg mokre mase (Storelli i sur., 2004). U Sredozemnom moru u mišićnom tkivu albakora (*Thunnus alalunga*) izmjereni su maseni udjeli ukupne Hg od 0,84 do 1,45 mg/kg mokre mase, dok su u plavoperajnoj tuni (*Thunnus thynnus*) utvrđeni maseni udjeli od 0,16 do 2,59 mg/kg mokre mase (Storelli i sur., 2002). Zbog izražene toksičnosti Hg, Uredbom (EU) 2023/915 propisani su najviši dopušteni maseni udjeli Hg u hrani. Za rakove, školjkaše i mišićno tkivo riba, osim vrsta navedenih u točkama 3.3.1.2 i 3.3.1.3 Priloga I. Uredbe (EU) 2023/915, granična vrijednost iznosi 0,50 mg/kg mokre mase. Za glavonošce, morske puževe i određene vrste riba navedene u točki 3.3.1.3 Priloga I. Uredbe (EU) 2023/915 najviši dopušteni maseni udio Hg iznosi 0,30 mg/kg mokre mase. Za pojedine vrste riba viših trofičkih razina, uključujući tune (*Thunnus* spp.), sabljarku (*Xiphias gladius*) i sve vrste morskih pasa (*Selachii*), dopušten je maseni udio od 1,0 mg/kg mokre mase.

2.3.6.7. Nikal

Nikal (Ni) je prijelazni metal s važnom biološkom ulogom u biljkama i mikroorganizmima. U biljkama sudjeluje u aktivnosti ureaze, dok u mikroorganizmima ulazi u sastav pojedinih metaloenzima, poput hidrogenaza. U ljudskom organizmu njegova fiziološka uloga nije jasno utvrđena te se ne smatra esencijalnim elementom (CONTAM, 2015; Genchi i sur., 2020). Biološki učinci Ni ovise o njegovu kemijskom obliku, topljivosti i putu izloženosti. Među njegovim spojevima posebno se ističe niklov karbonil ($\text{Ni}(\text{CO})_4$), hlapljiv i izrazito toksičan spoj koji pri udisanju može uzrokovati oštećenja dišnog sustava. Čovjek Ni najviše unosi hranom, dok je unos vodom za piće i zrakom uglavnom manji. Nakon apsorpcije u probavnom sustavu Ni se u krvi veže za proteine i druge molekule male molekulske mase te se raspođjeljuje u različita tkiva. Toksični učinci Ni povezani su ponajprije s nastankom oksidacijskog stresa, oštećenjem DNA i smanjenom sposobnošću popravka DNA.

U morskom okolišu Ni se uglavnom pojavljuje u dvovalentnom oksidacijskom stanju, kao slobodni ion Ni^{2+} te u obliku anorganskih i organskih kompleksa. Dio Ni vezan je za suspendirane čestice,

čijim se taloženjem prenosi prema dnu i akumulira u sedimentu. U otvorenom moru raspodjela Ni slična je raspodjeli hranjivih tvari. Dio Ni preuzimaju organizmi u površinskim vodama, dok se njegovim ponovnim oslobađanjem tijekom razgradnje organske tvari povećavaju koncentracije u dubljim slojevima (Middag i sur., 2020). Na njegovu raspodjelu utječe i miješanje vodenih masa. U obalnim i estuarijskim područjima koncentracije Ni mogu znatno varirati zbog lokalnih antropogenih izvora, promjenjivih hidrodinamičkih uvjeta te izmjene između vode, suspendirane tvari i sedimenta (Kljaković-Gašpić i sur., 2008; Ujević i sur., 2010).

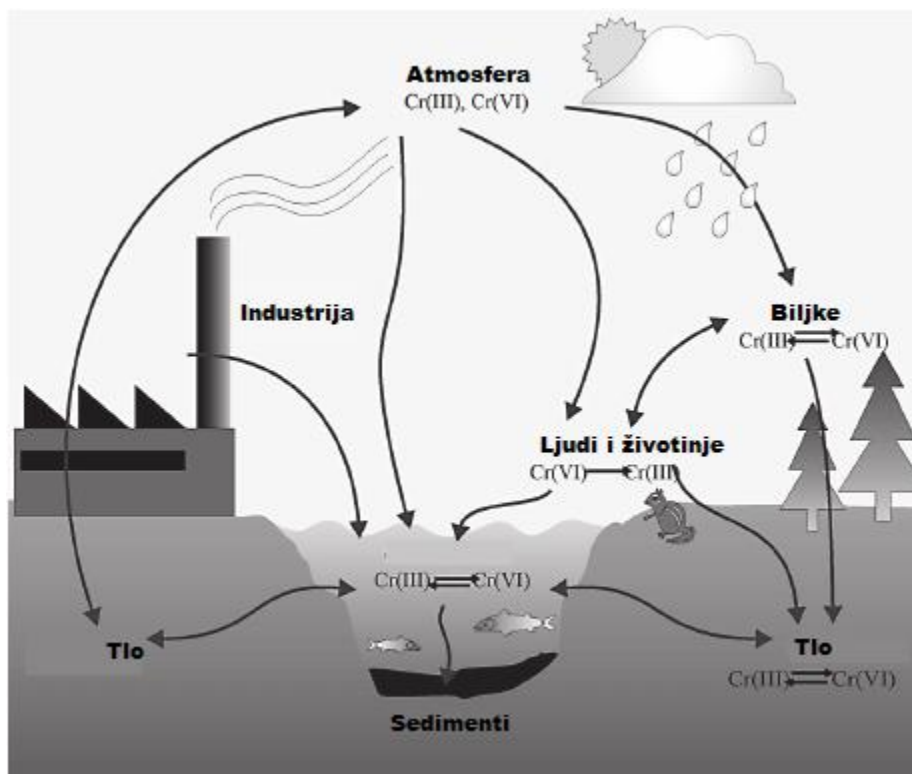
Specijacija i bioraspoloživost Ni ovise o fizikalno-kemijskim uvjetima morskog okoliša, koji utječu na njegovu raspodjelu između vode i sedimenta te na bioakumulaciju u morskim organizmima. Maseni udjeli Ni u morskim organizmima mogu biti viši u obalnim područjima izloženima izraženijem antropogenom utjecaju, osobito u blizini urbanih središta, luka i industrijskih zona. U sjeveroistočnom Jadranu, na području Istre, u tkivu dagnji s postaja u blizini luka izmjeren je prosječni maseni udio Ni od 1,7 mg/kg suhe mase, dok je na postajama uzgajališta školjkaša niži, oko 0,9 mg/kg suhe mase (Kanduč i sur., 2017). Podaci o akumulaciji Ni u školjkašima dobiveni su i tijekom istraživanja dagnji iz Malostonskog zaljeva provedenog u razdoblju pojave DSP pozitivnih uzoraka. Maseni udjeli Ni u jestivom tkivu dagnji pozitivnih na DSP kretali su se od 0,06 do 0,75 mg/kg mokre mase. U 77,6 % DSP pozitivnih uzoraka maseni udio Ni bio je viši od prosječnog masenog udjela utvrđenog u DSP negativnim uzorcima (Ujević i sur., 2015). Akumulacija Ni utvrđena je i u ribama iz Egejskog i Sredozemnog mora. U mišićnom tkivu 12 komercijalno važnih vrsta riba izmjereni su maseni udjeli Ni u rasponu od 0,03 do 1,72 mg/kg mokre mase (Türkmen i sur., 2008). U zakonodavstvu EU nisu propisane najviše dopuštene razine Ni u ribama i školjkašima namijenjenima prehrani ljudi. Međutim, Ni i njegovi spojevi uvršteni su među prioritetne tvari za procjenu kemijskog stanja površinskih voda u skladu s Direktivom (EU) 2026/805.

2.3.6.8. *Krom*

Krom (Cr) je prijelazni metal koji se u okolišu i živim organizmima pojavljuje ponajprije u dvama biološki i okolišno značajnim oksidacijskim stanjima: kao trovalentni Cr(III) i šesterovalentni Cr(VI) (EFSA, 2014). Trovalentni oblik Cr dugo se smatrao potencijalno esencijalnim elementom uključenim u regulaciju metabolizma glukoze na temelju koncepta koncepta faktora tolerancije

glukoze (engl. *glucose tolerance factor*, GTF). Međutim, novije znanstvene procjene nisu potvrdile postojanje GTF kao endogene biološke molekule niti specifičnu fiziološku ulogu Cr u ljudskom organizmu zbog čega se Cr(III) danas ne smatra esencijalnim mikronutrijentom za ljudi (EFSA, 2014; Vincent, 2017). Spojevi Cr(VI) izrazito su toksični i svrstani su u skupinu 1 kancerogenih tvari za ljude (IARC, 2012). Zbog visoke topljivosti i sličnosti s anionima sulfata i fosfata, Cr(VI) ulazi u stanice putem nespecifičnih anionskih transportnih sustava. Unutar stanice reducira se u niža oksidacijska stanja, pri čemu nastaju reaktivne kisikove vrste. Navedeni procesi mogu uzrokovati oksidacijski stres, oštećenja DNA i kromosomske promjene (Zhitkovich, 2011). Dugotrajna izloženost Cr(VI) povezuje se s povećanim rizikom razvoja karcinoma, osobito dišnog sustava (IARC, 2012). Iako je Cr(III) znatno manje toksičan, visoke doze mogu izazvati štetne učinke (EFSA, 2014; WHO, 2020).

U morski okoliš Cr dopijeva iz prirodnih i antropogenih izvora (slika 17). Prirodni izvori Cr uključuju trošenje stijena, atmosfersko taloženje i hidrotermalne izvore, dok rijeke predstavljaju važan put njegova prijenosa s kopna u more. Antropogeni izvori Cr su industrijske emisije te otpadne vode iz galvanizacije, kožarske industrije i proizvodnje pigmenata, boja i inhibitora korozije. U tlima se Cr(III) veže na mineralne i organske faze, čime se smanjuje njegova mobilnost i ograničava prijenos u podzemne i površinske vode. Oksidacija Cr(III) u topljiviji Cr(VI) povećava njegovu mobilnost i omogućuje ispiranje iz tla te prijenos u vodene sustave. U morskoj vodi Cr je prisutan u otopljenom obliku i vezan za čestice. U oksigeniranim uvjetima Cr(VI) termodinamički je stabilniji i topljiviji oblik, dok se Cr(III) veže za suspendirane čestice i organske tvari. Udio pojedinih oblika Cr može varirati ovisno o fizikalno-kemijskim uvjetima, prisutnosti organske tvari i biološkoj aktivnosti (Achterberg i Van den Berg, 1997; Cranston i Murray, 1980; Tumolo i sur., 2020; Zhitkovich, 2011). Zbog slabe topljivosti i izraženog vezanja za čestice Cr(III) lakše se uklanja iz vodenog stupca i zadržava u sedimentu, osobito u redukcijskim i anoksičnim uvjetima (Tumolo i sur., 2020; Zhitkovich, 2011). Nasuprot tome, Cr(VI) zbog veće topljivosti i stabilnosti u oksidiranim uvjetima pokazuje veću mobilnost i dulje se zadržava u vodenom stupcu (Achterberg i Van den Berg, 1997; Stumm i Morgan, 1996). Navedeni procesi određuju dostupnost i akumulaciju Cr morskim organizmima. Nakon ulaska u stanice Cr(VI) postupno se reducira preko reaktivnih međuprodukata Cr(V) i Cr(IV) do stabilnijeg Cr(III), koji se može vezati za biološke makromolekule (Zhitkovich, 2011; EFSA, 2014).



Slika 17. Shematski prikaz biogeokemijskog ciklusa Cr s prikazom prijenosa i redoks-pretvorbi između Cr(III) i Cr(VI) u atmosferi, tlu, vodenom stupcu, sedimentu i organizmima. Preuzeto i prilagođeno prema Bielicka i sur. (2005).

Koncentracije otopljenog Cr u otvorenom moru uglavnom su niske i najčešće se kreću u rasponu od približno 0,05 do 0,34 $\mu\text{g/L}$. U zapadnom Sredozemlju izmjerene su koncentracije ukupnog otopljenog Cr od približno 0,10 do 0,18 $\mu\text{g/L}$ (Achterberg i van den Berg, 1997; Wang i sur., 2023). U obalnim područjima koncentracije Cr u morskoj vodi mogu biti više nego u otvorenom moru zbog riječnog unosa i antropogenih izvora. U područjima s manjim antropogenim utjecajem maseni udjeli Cr u obalnim sedimentima uglavnom odražavaju prirodnu geokemijsku pozadinu, dok su u opterećenim područjima moguće povišene vrijednosti. Povišeni maseni udjeli Cr zabilježeni su i u sedimentima luke Rijeka (Cukrov i sur., 2011).

Krom se akumulira i u morskim organizmima, a njegov sadržaj u tkivima ovisi o njegovoj dostupnosti u okolišu, načinu prehrane te biološkim obilježjima organizama. U Malostonskom zaljevu tijekom višegodišnjeg praćenja dagnji maseni udjeli Cr u jestivom tkivu kretali su se od 0,41 do 4,61 mg/kg suhe mase, uz srednju vrijednost od 1,65 mg/kg suhe mase (Kljaković-Gašpić

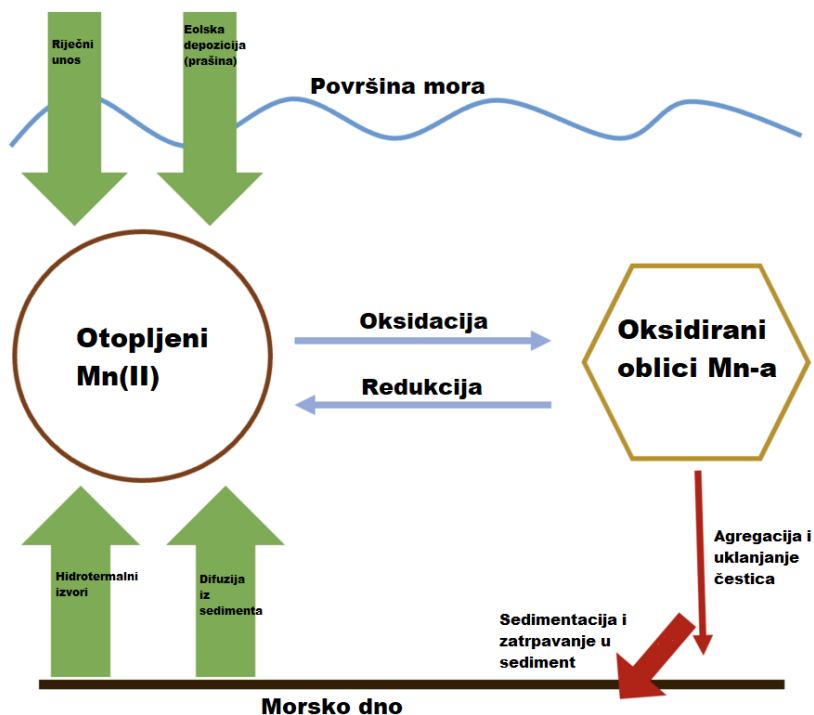
i sur., 2007). U dagnjama iz Malostonskog zaljeva tijekom epizoda pojave DSP pozitivnih uzoraka maseni udjeli Cr u jestivom tkivu kretali su se od 0,05 do 0,39 mg/kg mokre mase, uz srednje vrijednosti od 0,14 mg/kg mokre mase u DSP pozitivnim i 0,15 mg/kg mokre mase u DSP negativnim uzorcima (Ujević i sur., 2015). Akumulacija Cr potvrđena je i u ribama iz Egejskog i Sredozemnog mora, gdje su u mišićnom tkivu analiziranih vrsta izmjereni maseni udjeli Cr od 0,07 do 1,48 mg/kg mokre mase (Türkmen i sur., 2008). Za Cr Uredba (EU) 2023/915 ne propisuje najviše dopuštene razine u ribi i školjkašima prema važećem zakonodavstvu EU. U okviru zaštite voda Cr se razmatra kao onečišćujuća tvar, pri čemu su za procjenu njegova utjecaja osobito važni kemijska specijacija i različita toksičnost Cr(III) i Cr(VI).

2.3.6.9. *Mangan*

Mangan je esencijalni mikroelement koji sudjeluje u radu brojnih enzima važnih za redoks-reakcije i zaštitu stanica od oksidacijskog stresa. Među njima je i mangan-superoksid-dismutaza (Mn-SOD), jedan od važnih antioksidacijskih enzima u aerobnim organizmima. U fitoplanktonu Mn ima važnu ulogu u fotosintezi jer je sastavni dio kompleksa za oksidaciju vode u fotosustavu II (PSII). Tijekom fotosinteze taj kompleks omogućuje razgradnju molekula vode, pri čemu nastaju molekularni kisik, protoni i elektroni. Oslobođeni elektroni sudjeluju u prijenosu energije potrebne za sintezu organskih spojeva i rast stanica. Nedostatak Mn-a može ograničiti rast fitoplanktona u područjima s niskom raspoloživošću Mn, osobito u pojedinim dijelovima Južnog oceana (Browning i sur., 2021; Hawco i sur., 2022; Sunda, 2012).

U morskom okolišu Mn se pojavljuje u više oksidacijskih stanja, među kojima su najvažniji Mn(II), Mn(III) i Mn(IV). Otopljeni Mn(II) uglavnom je mobilniji i biorasploživiji, dok se oksidirani oblici Mn, osobito Mn(III) i Mn(IV), često pojavljuju u sastavu slabo topljivih oksida i oksihidroksida. Trovalentni mangan može biti prisutan i u otopljenom obliku kada je vezan za organske ligande. U morski sustav Mn dospijeva rijekama, atmosferskim taloženjem mineralne prašine, difuzijom iz sedimenta i hidrotermalnim izvorima. U oksigeniranim uvjetima Mn(II) oksidira se u više oksidacijske oblike koji se vežu za čestice i sedimentacijom uklanjaju iz vodenog stupca (slika 18). U suboksičnim i anoksičnim uvjetima dolazi do redukcije manganovih oksida i ponovnog oslobađanja topljivijih oblika Mn, osobito Mn(II), koji se mogu prenijeti iz sedimenta u vodeni stupac (slika 18). Redoks-pretvorbe Mn, uz procese vezanja za čestice, taloženja i ponovnog

oslobođanja iz sedimenta, imaju važnu ulogu u njegovu kruženju između sedimenta i morske vode te utječu na njegovu bioraspoloživost u morskom okolišu.



Slika 18. Shematski prikaz kruženja Mn u morskom okolišu.

Prirodni i antropogeni izvori utječu na raspodjelu Mn u morskom okolišu. Lokalni antropogeni izvori mogu uzrokovati povišene koncentracije Mn u priobalnim područjima i promijeniti njegovu raspodjelu između vode i sedimenta. U Sredozemnom moru koncentracije otopljenog Mn u površinskom sloju uglavnom su više nego u dubljim dijelovima mora. Sredozemno more jedno je od područja s izraženim unosom saharske prašine. Saharska prašina važan je izvor Mn-a u površinskim vodama, pri čemu se dio Mn-a vezanoga uz mineralne čestice otapa i prelazi u otopljeni oblik. Raspodjela Mn u priobalnim područjima može ovisiti i o riječnom unosu, resuspenziji sedimenta te lokalnim antropogenim izvorima. Primjer lokalnog antropogenog opterećenja zabilježen je u Šibenskom zaljevu, gdje su na okoliš utjecali rad nekadašnje tvornice elektroda i ferolegura te preostali materijal nakon prestanka proizvodnje (Huljek i sur., 2021; Middag i sur., 2021). S povećanjem dubine koncentracije otopljenog Mn uglavnom se smanjuju zbog oksidacije topljivog Mn(II) u slabije topljive oksidirane oblike koji se uklanjaju iz vodenog stupca vezanjem za čestice i taloženjem (Middag i sur., 2021).

U sedimentima i na česticama Mn se često pojavljuje u obliku oksida i oksihidroksida. Takve faze imaju visoku reaktivnost i sposobnost vezanja drugih metala, uključujući Co, Ni i Pb, zbog čega utječu na njihovu mobilnost, bioraspoloživost i preraspodjelu u okolišu (Li i sur., 2024). Mangan se akumulira i u morskim organizmima. U dagnjama s atlantske obale Maroka izmjereni su maseni udjeli Mn od 14,70 do 25,30 mg/kg suhe mase (Maanan, 2007). U dagnjama sa sredozemne obale Alžira najviši maseni udio iznosio je 20,69 mg/kg suhe mase (Abderrahmani, 2024). U srdelama (*Sardina pilchardus*) iz tjesnaca Çanakkale maseni udjeli Mn-a kretali su se od 2,80 do 5,42 µg/g, ovisno o sezoni (İrkin i Öztürk, 2021). U mišićnom tkivu atlantske plavoperajne tune iz područja Aleksandrije prosječni maseni udio Mn iznosio je 1,00 mg/kg mokre mase (Hussein i Khaled, 2014). Za Mn trenutačno nisu propisane najviše dopuštene razine u ribi i školjkašima prema važećem zakonodavstvu EU.

2.3.7. *Metali u Jadranskom moru*

Istraživanja metala u sedimentima Jadranskog mora pokazala su prostorne razlike između priobalnih, estuarijskih i otvorenih morskih područja. Raspodjela metala u sedimentima ovisi o geološkom sastavu okolnog područja, riječnom unosu, raspodjeli veličine zrna, lokalnim hidrodinamičkim uvjetima i intenzitetu antropogenih aktivnosti. U priobalnim i zatvorenijim područjima pod jačim antropogenim utjecajem mogu se pojaviti povišeni maseni udjeli pojedinih metala, dok sedimenti otvorenog mora uglavnom odražavaju prirodnu geokemijsku pozadinu (Dolenec i sur., 1998; Obhodaš i sur., 2012).

U sjevernom Jadranu osobito je značajno onečišćenje sedimenta Hg u Tršćanskom zaljevu, povezano s dugotrajnim unosom Hg iz rudarskog područja Idrije rijekom Sočom (Covelli i sur., 2001). Povišeni maseni udjeli metala zabilježeni su i u sedimentima riječke luke, gdje su povezani s dugotrajnim industrijskim aktivnostima i pomorskim prometom (Cukrov i sur., 2011). U srednjem Jadranu antropogeni utjecaj utvrđen je u sedimentima Kaštelanskog zaljeva, osobito za Pb, Cu i Zn, dok su lokalno povišene vrijednosti Cd zabilježene u dijelovima zaljeva izloženima unosu otpadnih voda (Bogner i sur., 1997; Ujević i sur., 2010). Prostorne razlike u raspodjeli metala utvrđene su i u sedimentima estuarija rijeke Krke, gdje na njihov sadržaj utječu prirodni procesi i lokalni antropogeni izvori (Cukrov i sur., 2024). U sedimentima otvorenoga srednjeg i južnog Jadrana raspodjela metala povezana je ponajprije s mineralnim sastavom sedimenta i unosom

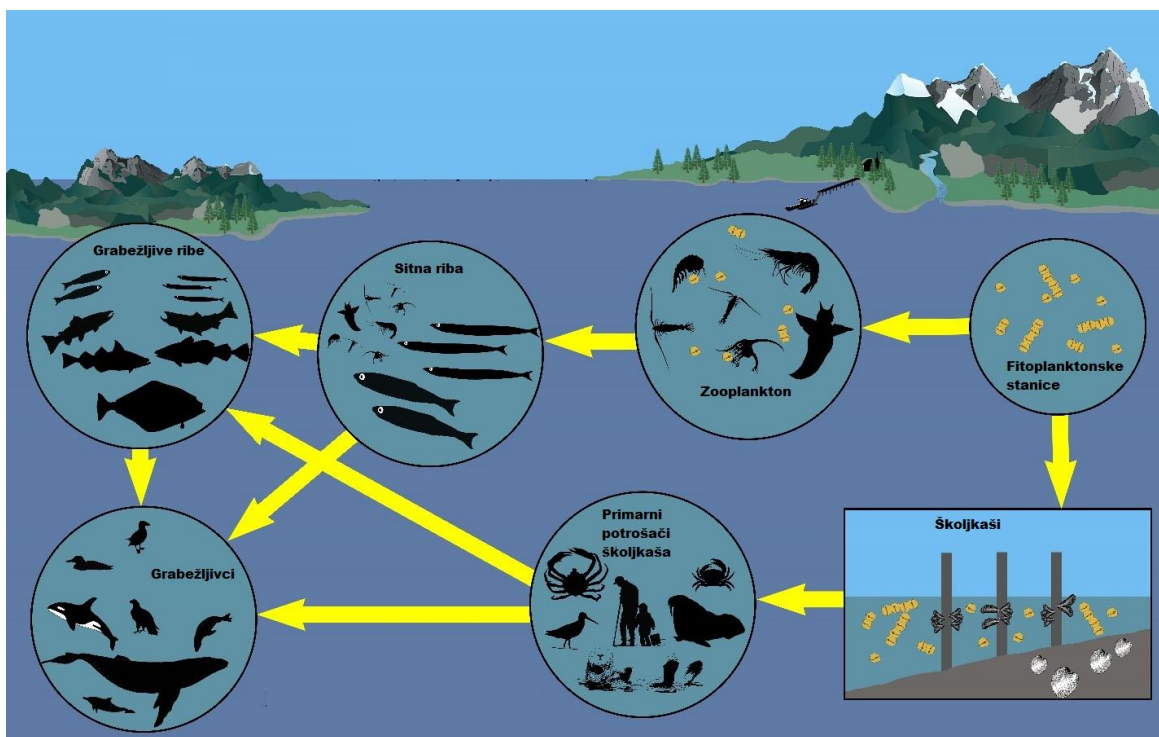
materijala s kopna, dok se lokalni antropogeni utjecaji očituju u priobalnim, lučkim i estuarijskim područjima (Dolenec i sur., 1998; Ilijanić i sur., 2014).

2.3.8. Morski biotoksini

Morski biotoksini, odnosno fiktoksini, prirodni su sekundarni metaboliti koje u morskom okolišu proizvode određene vrste mikroalgi. Termostabilni su pa se uobičajenom toplinskom obradom hrane ne razgrađuju. Među najvažnijim proizvođačima fiktoksina koji se mogu akumulirati u školjkašima su dinoflagelati rodova *Dinophysis*, *Prorocentrum*, *Protoceratium*, *Alexandrium*, *Azadinium*, *Amphidoma*, *Karenia*, *Gymnodinium* i *Pyrodinium* te dijatomeje roda *Pseudo-nitzschia* (Oh, 2023; Pinto i sur., 2023; Tamele i sur., 2019). Proizvodnja toksina i brzina njihove sinteze ovise o fiziološkom stanju stanice i okolišnim čimbenicima, kao što su temperatura mora, salinitet, svjetlosni uvjeti te dostupnost hranjivih soli, osobito dušika, fosfora i silicija (FAO, IOC-UNESCO i IAEA, 2023; Pinto i sur., 2023).

Prema topljivosti i kemijskim svojstvima morski biotoksini razvrstavaju se u lipofilne i hidrofilne skupine. Lipofilni toksini uključuju okadaičnu kiselinu (OA) i dinofizistoksine (DTX), koje primarno proizvode vrste roda *Dinophysis*, dok se pojedini derivati mogu povezati i s vrstama roda *Prorocentrum*. U lipofilne toksine ubrajaju se i pektenotoksini (PTX), povezani ponajprije s rodom *Dinophysis*; jesotoksini (YTX), koje proizvode pojedine vrste dinoflagelata, uključujući *Protoceratium reticulatum*, *Lingulodinium polyedra* i *Gonyaulax spinifera*; azaspiracidi (AZA) koje proizvode vrste rodova *Azadinium* i *Amphidoma* te ciklički imini, uključujući SPX, GYM i PnTX koje proizvode pojedine vrste morskih dinoflagelata, među kojima su *Alexandrium ostenfeldii*, *Karenia selliformis* i *Vulcanodinium rugosum* (EFSA, 2010; Finch i sur., 2024; Paz i sur., 2007, 2008; Reguera i sur., 2014; Tillmann i sur., 2009; Yang i sur., 2024). Hidrofilnu skupinu čini DK i njezini analozi, povezani s ASP-om te saksitoksin (STX) i njegovi analozi koji uzrokuju paralitičko trovanje školjkašima (engl. *paralytic shellfish poisoning*, PSP) (Pinto i sur., 2023; Visciano i sur., 2016). Glavni proizvođači DK su dijatomeje roda *Pseudo-nitzschia*, dok PSP toksine najčešće proizvode dinoflagelati roda *Alexandrium*, ali ih mogu proizvoditi i vrste *Pyrodinium bahamense* i *Gymnodinium catenatum*. U pojedinim područjima, osobito uz atlantsku obalu Iberijskog poluotoka te povremeno u dijelovima Sredozemnog mora, *G. catenatum* može biti važan izvor PSP toksina (Hallegraeff i sur., 2021; Leblad i sur., 2024).

Tijekom povoljnih okolišnih uvjeta može doći do naglog povećanja brojnosti toksičnih vrsta fitoplanktona i pojave HAB-a (Oh, 2023; Pinto i sur., 2023). Povećana brojnost toksičnih mikroalgi može dovesti do porasta koncentracije biotoksina u morskoj vodi. Međutim, intenzitet kontaminacije ne ovisi samo o brojnosti stanica, nego i o tome koliko toksina stanice proizvode. Fitoplanktonske stanice koje sadrže toksine predstavljaju početni izvor kontaminacije, a primarni prijenos biotoksina odvija se ingestijom toksičnih stanica od strane zooplanktona i organizama koji filtriraju morsku vodu, ponajprije školjkaša (Pinto i sur., 2023; Reguera i sur., 2014). Probavna žlijezda ima važnu ulogu u akumulaciji, biotransformaciji i depuraciji toksina (Reguera i sur., 2014). Tijekom biotransformacije toksini se mogu enzimski pretvoriti u derivate različite toksičnosti. Brzina i način tih promjena ovise o kemijskoj strukturi toksina, vrsti školjkaša i trajanju izloženosti. Biotoksini ulaze u morsku hranidbenu mrežu kada zooplankton, školjkaši i sitne pelagične ribe konzumiraju kontaminirani plankton ili plijen. Daljnjim trofičkim prijenosom mogu dospjeti u grabežljive ribe, rakove, morske ptice i morske sisavce (slika 19) (Barnouin i sur., 2025; Pinto i sur., 2023; Tamele i sur., 2019). Čovjek se može izložiti biotoksinima konzumacijom kontaminiranih školjkaša i drugih morskih organizama.



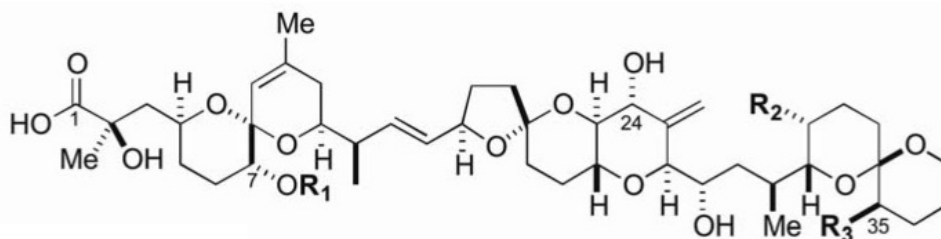
Slika 19. Trofički prijenos biotoksina kroz morsku hranidbenu mrežu. Preuzeto i prilagođeno prema Kibler (n.d.).

Najčešći simptomi trovanja nakon konzumacije školjkaša koji sadrže morske biotoksine su gastrointestinalni poremećaji, kao što su mučnina, povraćanje, dijareja i bolovi u truhu. Navedeni simptomi karakteristični za trovanje toksinima iz DSP i AZA skupine. Amnezijski toksini mogu uzrokovati neurološke simptome, primjerice glavobolju, vrtoglavicu, poremećaje pamćenja i amneziju, dok PSP toksini uzrokuju parestezije, poremećaje koordinacije, paralizuju te u težim slučajevima respiratorno zatajenje (Pinto i sur., 2023; Visciano i sur., 2016).

Radi zaštite zdravlja potrošača Uredbom (EZ) br. 853/2004 propisani su najviši dopušteni maseni udjeli reguliranih skupina morskih biotoksina u živim školjkašima namijenjenima prehrani ljudi: za OA i DTX zajedno 160 µg OA ekvivalenata/kg, za AZA 160 µg AZA ekvivalenata/kg, za YTX 3,75 mg YTX ekvivalenata/kg, za DA 20 mg DA/kg te za PSP toksine 800 µg STX diHCl ekvivalenata/kg (Europska komisija, 2019, 2021; Europski parlament i Vijeće Europske unije, 2004). Delegiranom uredbom Komisije (EU) 2021/1374, PTX su uklonjeni iz skupine reguliranih toksina (Europska komisija, 2021). Ciklički imini trenutačno nemaju harmonizirane zakonske granične vrijednosti na razini EU, ali su uključeni u procjene rizika i preporuke za praćenje zbog mogućih posljedica na javno zdravlje i gospodarskih gubitaka u sektoru školjkarstva (EFSA, 2010; Finch i sur., 2024).

2.3.8.1. DSP toksini

Toksini povezani s DSP-om pripadaju skupini lipofilnih polieterskih spojeva, među kojima su najznačajniji predstavnici OA te dinofizistoksini DTX-1 i DTX-2 (slika 20) (Valdiglesias i sur., 2013). U tkivima školjkaša često se detektiraju i DTX-3 toksini, odnosno 7-O-acilirani esteri OA, DTX-1 i DTX-2, koji nastaju biotransformacijom unesenih toksina u organizmu školjkaša (Konoki i sur., 2013; Suzuki i sur., 1999). Okadaična kiselina prvi je put strukturno opisana 1981. godine kao citotoksični polieter izoliran iz dviju morskih spužvi roda *Halichondria* (Tachibana i sur., 1981), dok je DTX-2 kasnije identificiran kao novi dijaretički toksin izoliran iz irskih dagnji tijekom istraživanja DSP toksina u školjkašima (Hu i sur., 1992). Iako je OA prvotno identificirana iz spužvi, naknadna istraživanja pokazala su da su stvarni proizvođači OA i DTX toksina određene vrste dinoflagelata, rodova *Dinophysis* i *Prorocentrum* (Reguera i sur., 2014; Valdiglesias i sur., 2013).



Okadaična kiselina (OA): $R_1=H$; $R_2=Me$; $R_3=H$

Dinofizistoksin (DTX-1): $R_1=H$; $R_2=Me$; $R_3=Me$

Dinofizistoksin (DTX-2): $R_1=H$; $R_2=H$; $R_3=Me$

Dinofizistoksin (DTX-3): $R_1=Acyl$; $R_2/R_3=H/Me$, Me/H or Me/Me

Slika 20. Strukturne formule OA, DTX-1, 2 i 3.

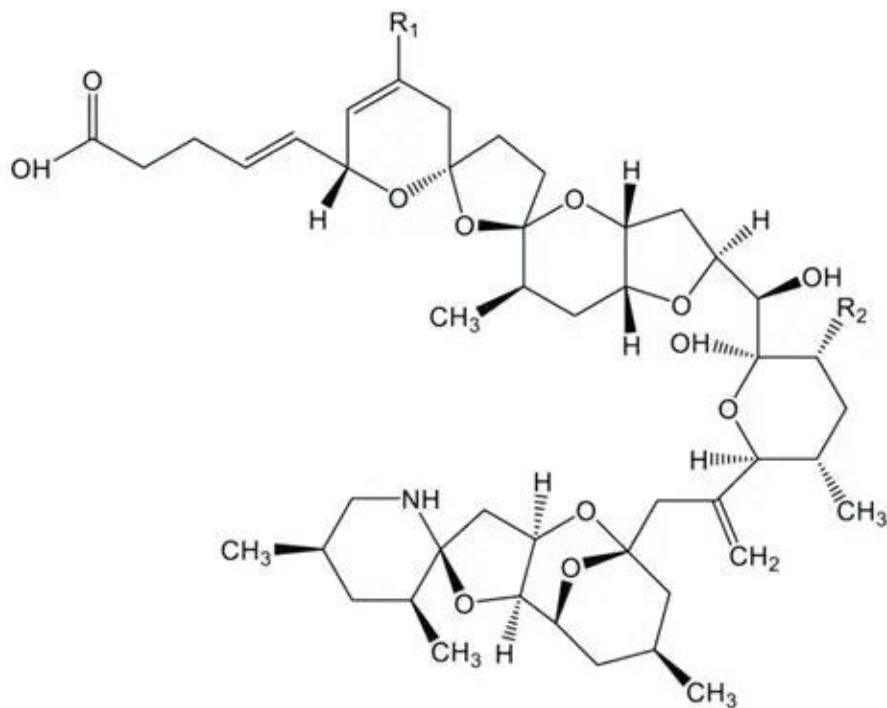
Dijaretičko trovanje školjkašima, akutni je gastrointestinalni sindrom koji nastaje nakon konzumacije školjkaša čije jestivo tkivo sadrži toksine iz OA skupine. Toksično djelovanje OA i DTX povezano je s inhibicijom serin/treonin-protein-fosfataza tipa 1 (PP1) i tipa 2A (PP2A), osobito PP2A. Posljedično dolazi do poremećaja regulacije fosforilacijskih procesa i staničnih signalnih putova ovisnih o fosforilaciji (Munday, 2013; Reguera i sur., 2014; Valdiglesias i sur., 2013). U eksperimentalnim modelima OA je opisana i kao tumor-promotor, a njezino se djelovanje povezuje s poremećajem mehanizama koji reguliraju rast i diobu stanica (Fujiki i sur., 2023; Suganuma i sur., 1988). U modelima crijevnog epitela OA povećava propusnost prostora između epitelnih stanica, čime olakšava prolazak vode i iona kroz crijevnu stijenku. Taj se učinak povezuje s nastankom dijareje, dominantnog simptoma DSP-a (Munday, 2013; Tripuraneni i sur., 1997). Uz dijareju, nakon konzumacije kontaminiranih školjkaša mogu se javiti mučnina, povraćanje i bolovi u trbuhu (Valdiglesias i sur., 2013).

Prvi klinički slučajevi dijaretičkog trovanja školjkašima zabilježeni su u Nizozemskoj 1961. godine, dok je u Japanu krajem 1970-ih prvi put potvrđen i detaljnije opisan DSP kao zaseban sindrom trovanja školjkašima. Tijekom razdoblja od 1976. do 1984. zabilježeno je više od 1000 oboljelih, pri čemu su simptomi bili uglavnom gastrointestinalni (James i sur., 2010; Trainer i sur., 2013). Zbog učestale pojavnosti u obalnim područjima Europe i drugih dijelova svijeta toksini OA skupine predmet su sustavnog praćenja sigurnosti školjkaša (Trainer i sur., 2013). U hrvatskim dagnjama iz sjeveroistočnog Jadrana profil lipofilnih toksina prvi je put cjelovito analiziran metodom LC-MS/MS u uzorcima prikupljenima tijekom epizoda DSP-a 2006. godine (Ninčević Gladan i sur., 2011). Analizirani uzorci prikupljeni su nakon cvjetanja vrsta roda *Dinophysis*, pri

čemu je najviša vrijednost OA zabilježena 12 dana nakon cvjetanja vrste *Dinophysis fortii*. Najviši maseni udio u uzorcima iz Linskog zaljeva iznosio je 1222 µg OA ekvivalenata/kg, dok je u Savudrijskoj vali iznosio 362 µg OA ekvivalenata/kg. Obje su vrijednosti prelazile najvišu dopuštenu razinu od 160 µg OA ekvivalenata/kg (EFSA, 2008; Ninčević Gladan i sur., 2011). Povišene vrijednosti toksina OA skupine zabilježene su i u zapadnom Sredozemnom moru. U istraživanju provedenom na Sardiniji od siječnja do svibnja 2015. godine u dagnjama najviši maseni udio iznosio je 1269 µg OA ekvivalenata/kg na području Feraxija te 1480 µg OA ekvivalenata/kg na području Santa Gille. Navedene su vrijednosti također znatno prelazile najvišu dopuštenu razinu (Bazzoni i sur., 2016).

2.3.8.2. AZA toksini

Azaspiracidi su skupina lipofilnih polieterskih morskih biotoksina čiju kemijsku strukturu čine spiro-prsten s dušikovim atomom i karboksilna skupina (slika 21). Akumulacija AZA toksina u školjkašima može uzrokovati azaspiracidni sindrom trovanja školjkašima (AZP), koji se u ljudi manifestira gastrointestinalnim simptomima. Navedeni simptomi povezuju se s citotoksičnim učinkom AZA toksina na stanice crijevnog epitela (Twiner i sur., 2008; Visciano i sur., 2016). Prvi dokumentirani slučajevi AZP-a povezani su s konzumacijom dagnji iz Irske u studenome 1995. godine, kada je trovanje potvrđeno kod potrošača u Nizozemskoj nakon konzumacije uvezenih školjkaša (McMahon i Silke, 1996; Twiner i sur., 2008). Spoj koji je inicijalno bio označen kao KT3 strukturno je razjašnjen 1998. godine, a spoj je označen kao AZA-1 (Satake i sur., 1998). Naknadno su iz uzoraka školjkaša izolirani i strukturno određeni analozi AZA-2 i AZA-3, čime je potvrđeno postojanje više strukturno srodnih spojeva unutar ove skupine biotoksina (Ofuji i sur., 1999).



Toxin	R ₁	R ₂
AZA1	H	CH ₃
AZA2	CH ₃	CH ₃
AZA3	H	H
AZA6	CH ₃	H

Slika 21. Strukturne formule AZA-1, 2 i 3.

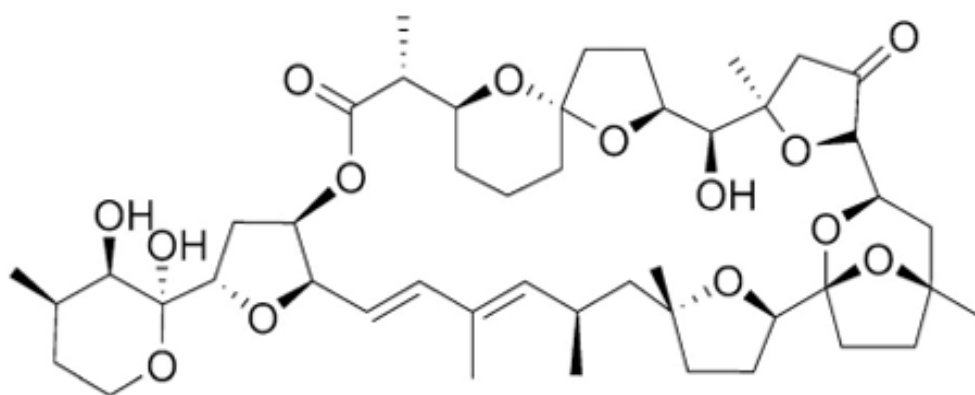
Primarni izvor AZA toksina u morskom okolišu je fitoplankton. Dinoflagelati iz porodice *Amphidomataceae* potvrđeni su proizvođači AZA toksina, pri čemu je vrsta *Azadinium spinosum* jedan od glavnih proizvođača (Krock i sur., 2012; Tillmann i sur., 2009). U literaturi se razlikuju primarni AZA analozi povezani s fitoplanktonom, među kojima se najčešće navode AZA-1 i AZA-2, od analoga koji nastaju u tkivima školjkaša nakon akumulacije toksina. Nastanak sekundarnih analoga posljedica je biotransformacijskih procesa, ponajprije hidroksilacije, karboksilacije i dekarboksilacije (Jaufrais i sur., 2012; McCarron i sur., 2008).

U europskim obalnim područjima prisutnost AZA toksina potvrđena je u školjkašima iz više regija. U Galiciji (Španjolska) u dagnjama je izmjeren ukupni maseni udio AZA toksina od 0,24 mg/kg (240 µg/kg), dok je u Bretanji (Francuska) u kapicama izmjeren maseni udio od 0,32 mg/kg (320

$\mu\text{g/kg}$). Obje vrijednosti prelazile su najvišu dopuštenu razinu u EU od $160 \mu\text{g AZA}$ ekvivalenata/kg jestivog dijela školjkaša (Magdalena i sur., 2003; Europski parlament i Vijeće Europske unije, 2004). U Jadranskom moru AZA toksini utvrđuju se sporadično i u niskim masenim udjelima. U dagnjama iz Neumskog zaljeva detektiran je AZA-2 s najvišim izmjerenim masenim udjelom od $3,5 \mu\text{g/kg}$, dok je u dagnjama iz Makarskog zaljeva izmjeren maseni udio od $3,8 \mu\text{g/kg}$. U Šibenskom zaljevu potvrđena je prisutnost AZA-2 kao dominantnog analoga, uz detekciju dodatnih analoga AZA-6, AZA-9, AZA-10, AZA-19, AZA-41 i AZA-43 (Bulić i sur., 2025; Talić i sur., 2020).

2.3.8.3. PTX toksini

Pektenotoksini skupina su lipofilnih morskih biotoksina (slika 22.) koje u morskom okolišu proizvode dinoflagelati roda *Dinophysis*. Budući da pojedine vrste roda *Dinophysis* proizvode i toksine iz skupine OA, PTX toksini se najčešće se pojavljuju zajedno s toksinima iz skupine OA (EFSA, 2009; Ninčević Gladan i sur., 2011). U literaturi je opisan veći broj PTX analoga, među kojima se najčešće navode PTX-1, PTX-2, PTX-3, PTX-4, PTX-6 i PTX-7 (EFSA, 2009).



Slika 22. Strukturna formula PTX-2.

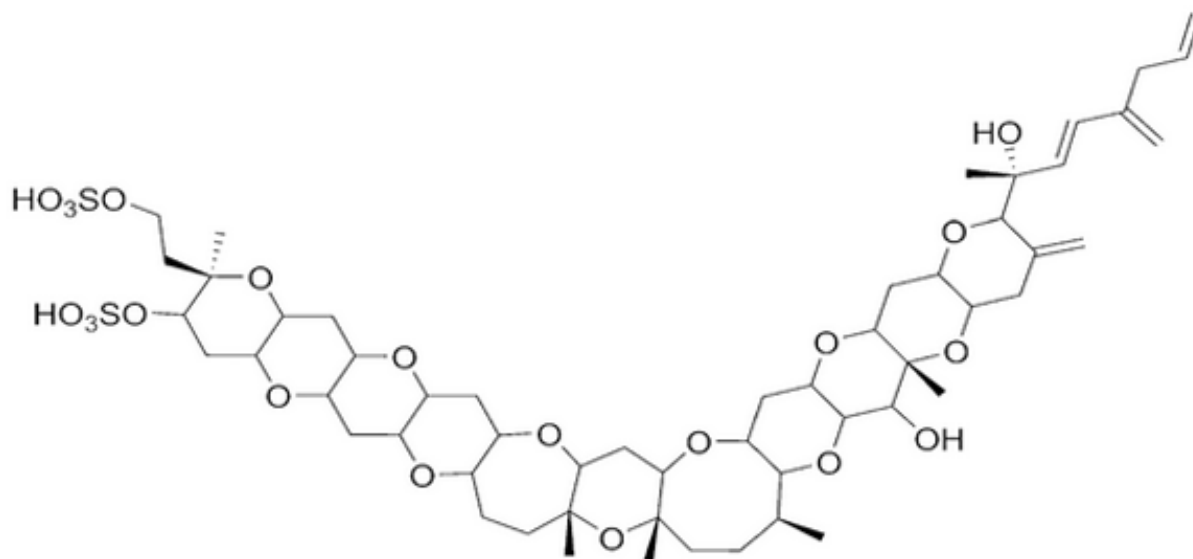
Nakon akumulacije u školjkašima PTX toksini mogu prolaziti metaboličke promjene, zbog čega se u njihovim tkivima često utvrđuju različiti metaboliti. Jedan od glavnih analoga PTX-2 može se u tkivima pojedinih vrsta školjkaša enzimski pretvoriti u PTX-2 sekokiselinu (PTX-2SA) i njezin epimer 7-epi-PTX-2SA. Suzuki i sur. (2001) pokazali su da se u ekstraktima tkiva zelenousne dagnje *Perna canaliculus* više od 90 % PTX-2 može pretvoriti u navedene oblike u kratkom vremenu. Miles i sur. (2003) izolirali su PTX-2 iz vrste *Dinophysis acuta* te dodatno potvrdili

njegovu pretvorbu u PTX-2SA. Navedeni rezultati pokazuju da se sastav PTX analoga u tkivima školjkaša može značajno razlikovati od sastava toksina prisutnih u fitoplanktonu.

Prisutnost PTX toksina potvrđena je i u hrvatskom dijelu Jadranskog mora. U Kaštelanskom zaljevu u hepatopankreasu dagnji utvrđena je prisutnost 7-epi-PTX-2SA, pri čemu je najviši maseni udio iznosio 0,62 mg/kg (Pavela-Vrančić i sur., 2001; 2006). Prisutnost PTX-2SA potvrđena je i u dagnjama iz sjeveroistočnog Jadrana, pri čemu je u uzorcima iz Linskog zaljeva najviši maseni udio iznosio 81 µg PTX-2SA/kg (Ninčević Gladan i sur., 2011). Delegiranom uredbom Komisije (EU) 2021/1374 PTX-i više nisu uključeni u skupinu reguliranih morskih biotoksina za koje je na razini EU-a propisan najviši dopušteni maseni udio u školjkašima, jer nisu dokumentirani štetni učinci kod ljudi povezani s njihovom prisutnošću u školjkašima (EFSA, 2009; Europska komisija, 2021).

2.3.8.4. YTX toksini

Jesotoksini skupina su lipofilnih polieterskih morskih biotoksina koji u svojoj strukturi sadrže dvije sulfatne skupine (slika 23). U školjkašima su uz YTX često prisutni i brojni strukturno srodni analozi (Paz i sur., 2008). Jesotoksin je prvi put izoliran 1986. godine iz probavne žlijezde kapice *Patinopecten yessoensis* u Japanu, dok je njegova struktura opisana 1987. godine (Murata i sur., 1987). Iako su YTX toksini prvotno identificirani u školjkašima, naknadno je potvrđeno da ih proizvode dinoflagelati. Među potvrđenim proizvođačima YTX toksina nalaze se *Protoceratium reticulatum*, *Lingulodinium polyedrum* (ranije *Gonyaulax polyedra*) i *Gonyaulax spinifera*, pri čemu se *P. reticulatum* često navodi kao jedan od glavnih proizvođača (Paz i sur., 2008; Satake i sur., 1997).



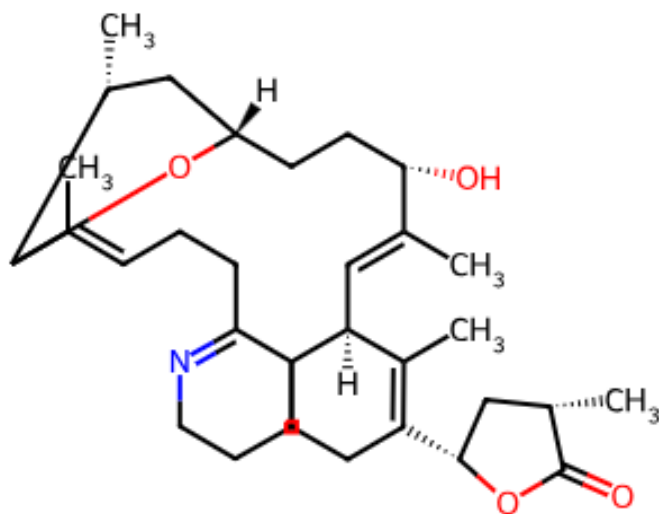
Slika 23. Strukturna formula YTX-a.

U pokusima na miševima nakon intraperitonealne primjene YTX uočene su histopatološke promjene miokarda, dok su nakon primjene desulfatiziranog derivata utvrđene promjene u jetri i gušterači (Paz i sur., 2008; Terao i sur., 1990). U literaturi se navodi visoka akutna toksičnost YTX-a nakon intraperitonealne primjene, pri čemu doza od približno 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ može biti letalna za miševе. Međutim, oralna toksičnost znatno je niža, a do danas nisu potvrđeni slučajevi trovanja ljudi povezani s YTX toksinima (Alfonso i sur., 2016; Paz i sur., 2008).

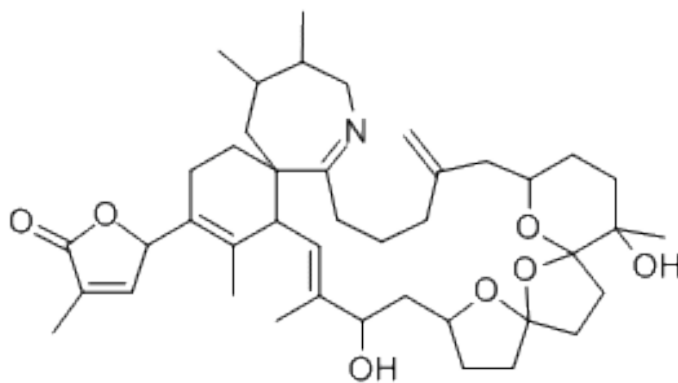
Pojavnost YTX-a i strukturno srodnih analoga potvrđena je u Jadranskom moru. Satake i sur. (1997) iz probavnih žlijezda dagnji uzgajanih uz jadransku obalu Italije izolirali su i strukturno odredili analoge homoYTX i 45-hidroksihomojesotoksin (45-OH-homoYTX). U hrvatskom dijelu Jadrana prisutnost YTX toksina potvrđena je u okviru programa praćenja lipofilnih morskih biotoksina u školjkašima. U uzorcima prikupljenima 2007. godine YTX toksini utvrđeni su na više lokacija duž hrvatske obale, a najviši maseni udio, određen ELISA metodom, iznosio je 7,9 mg YTX ekvivalenata/kg u Medulinskom zaljevu (Ninčević Gladan i sur., 2010). Navedena vrijednost prelazi najvišu dopuštenu razinu u EU od 3,75 mg YTX ekvivalenata/kg. Istraživanja potvrđuju da maseni udjeli YTX toksina u Jadranskom moru mogu dosegnuti ili premašiti propisanu graničnu vrijednost, što opravdava potrebu za kontinuiranim praćenjem ove skupine toksina u školjkašima (Rubini i sur., 2021).

2.3.8.5. Ciklički imini

Ciklički imini skupina su lipofilnih morskih biotoksina makrocikličke strukture koje karakterizira prisutnost cikličke iminske skupine važne za njihovu biološku aktivnost (slika 24 i slika 25). Ovisno o podskupini toksina, njihove strukture mogu sadržavati spiroketalne, bicikličke ili tricikličke eterske prstenove, zbog čega pokazuju veliku strukturnu raznolikost. U literaturi se ciklički imini opisuju kao toksini u nastajanju (engl. *emerging toxins*), odnosno skupina toksina čija se prisutnost u školjkašima i fitoplanktonu sve češće potvrđuje primjenom suvremenih analitičkih metoda, dok su podatci o izloženosti ljudi i mogućim učincima cikličkih imina na zdravlje još uvijek nedostatni (Bacchiocchi i sur., 2020; EFSA, 2010). U ovu skupinu ubrajaju se ponajprije spirolidi (SPX) i gimnodimini (GYM), ali i druge podskupine, primjerice pinatoksini (PnTX) i pteriatoksini (PtTX) (Bacchiocchi i sur., 2020; EFSA, 2010). Spirolide primarno proizvodi dinoflagelat *Alexandrium ostenfeldii*, dok GYM proizvodi *Karenia selliformis*, ali i pojedini sojevi vrste *A. ostenfeldii*. Pinatoksine proizvodi dinoflagelat *Vulcanodinium rugosum*. Pteriatoksini su strukturno srodni PnTX, a prvi su put izolirani iz školjkaša *Pteria penguin*. Smatra se da mogu nastati biotransformacijom PnTX G u školjkašima, dok njihov izvorni proizvođač u morskom okolišu nije zasebno potvrđen (Aráoz i sur., 2020; EFSA, 2010; Mardones i sur., 2020).



Slika 24. Strukturna formula GYM A.



Slika 25. Strukturna formula 13-desmetilSPX C (SPX 1).

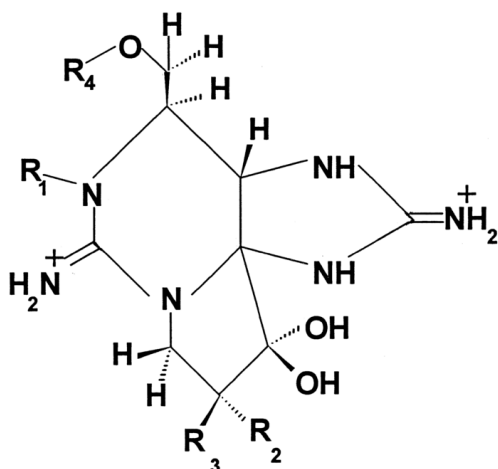
Mehanizam djelovanja SPX i GYM toksina temelji se na vezanju za nikotinske acetilkolinске receptore i inhibiciji njihova djelovanja, čime ometaju prijenos živčanih signala i mogu uzrokovati neuromuskularnu blokadu. U pokusima na miševima nakon intraperitonealne primjene cikličkih imina uočeni su neurotoksični simptomi te pri višim dozama, respiratorni zastoj (Aráoz i sur., 2020; EFSA, 2010). Međutim, zbog ograničenih podataka o oralnoj toksičnosti i izloženosti ljudi te nepostojanja dokumentiranih slučajeva trovanja povezanih s unosom cikličkih imina hranom, za ovu skupinu toksina još uvijek nisu propisane harmonizirane zakonske granične vrijednosti na razini EU (Bacchiocchi i sur., 2020; EFSA, 2010). Za SPX toksine u literaturi se navodi predložena smjernica od 400 $\mu\text{g}/\text{kg}$ tkiva školjkaša, koja nije zakonski obvezujuća vrijednost. Za GYM toksine takva vrijednost nije utvrđena (EFSA, 2010). Za PnTX G French Agency for Food, Environmental and Occupational Health & Safety (ANSES) je predložio privremenu akutnu referentnu vrijednost od 0,13 $\mu\text{g}/\text{kg}$ tjelesne mase, kojoj odgovara koncentracija od 23 μg PnTX G/kg ukupnog tkiva školjkaša (Arnich i sur., 2020).

Među često utvrđenim analogima cikličkih imina su SPX 1, 13,19-didesmetilSPX C, GYM A i PnTX G (Aráoz i sur., 2020; EFSA, 2010). Nakon akumulacije u školjkašima ciklički imini mogu prolaziti metaboličke transformacije, zbog čega se uz izvorne analoge u tkivima školjkaša mogu utvrditi i strukturno izmijenjeni derivati. Posljedično, sastav cikličkih imina u školjkašima ne mora u potpunosti odgovarati profilu prisutnom u fitoplanktonu (Bacchiocchi i sur., 2020; EFSA, 2010). Uz glavne SPX analoge opisani su i hidroksilirani te oksidirani oblici, uključujući 27-hidroksi i 27-okso derivate (Bacchiocchi i sur., 2020). Pojavnost cikličkih imina potvrđena je u Jadranskom moru. U istraživanju provedenom na uzorcima dagnji s obale regije Marche u središnjem Jadranu

tijekom 2014. i 2015. godine potvrđena je prisutnost SPX 1, 13,19-didesmetilSPX C i GYM A. Najviši maseni udio ukupnih SPX-a iznosio je 29,2 $\mu\text{g}/\text{kg}$, dok je za GYM A izmjeren najviši maseni udio od 12,1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (Bacchiocchi i sur., 2020). U hrvatskom dijelu južnog Jadrana provedeno je sustavno istraživanje 29 cikličkih imina u dagnjama. Najviši izmjereni maseni udio za GYM A iznosio je 39,28 $\mu\text{g}/\text{kg}$, za SPX 1 13,79 $\mu\text{g}/\text{kg}$, za PnTX G 9,77 $\mu\text{g}/\text{kg}$, a za 13-desmetilSPX D 3,55 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (Bulić i sur., 2025). Maseni udjeli ukupnih SPX-a i PnTX G bili su niži od prethodno navedenih orijentacijskih vrijednosti od 400 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i 23 $\mu\text{g}/\text{kg}$ mesa školjkaša.

2.3.8.6. PSP toksini

Paralitički toksini čine skupinu hidrofilnih gvanidinskih alkaloida (slika 26) Najpoznatiji i najčešće praćeni analozi su saksitoksin (STX), neosaksitoksin (NEO), goniatoxini (GTX1–GTX4), dekarbamoilirani analozi (npr. dcSTX, dcNEO, dcGTX2 i dcGTX3) te N-sulfokarbamoilni analozi, odnosno C-toksini (npr. C1 i C2) (EFSA, 2009; Roje-Busatto i Ujević, 2014).



	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
STX	H	H	H	CONH ₂
B1 (GTX5)	H	H	H	CONHSO ₃
GTX 2	H	OSO ₃	H	CONH ₂
C1 (epi GTX8)	H	OSO ₃	H	CONHSO ₃
GTX 3	H	H	OSO ₃	CONH ₂
C2 (GTX8)	H	H	OSO ₃	CONHSO ₃
NEO	OH	H	H	CONH ₂
B2 (GTX6)	OH	H	H	CONHSO ₃
GTX 1	OH	OSO ₃	H	CONH ₂
C3	OH	OSO ₃	H	CONHSO ₃
GTX 4	OH	H	OSO ₃	CONH ₂
C4	OH	H	OSO ₃	CONHSO ₃
dc-STX	H	H	H	H
dc-GTX 2	H	OSO ₃	H	H
dc-GTX 3	H	H	OSO ₃	H
dc-NEO	OH	H	H	H
dc-GTX 1	OH	OSO ₃	H	H
dc-GTX 4	OH	H	OSO ₃	H

Slika 26. Opća strukturna formula PSP toksina.

Mehanizam djelovanja PSP toksina temelji se na blokadi naponski ovisnih natrijevih kanala u membranama živčanih i mišićnih stanica. Time se sprječava ulazak natrijevih iona u stanicu, čime se onemogućuje provođenje živčanih impulsa te dolazi do poremećaja neuromuskularnog prijenosa i razvoja neurotoksičnih učinaka (Cestèle, 2000; EFSA, 2009; Pinto i sur., 2023; Visciano i sur., 2016). Simptomi PSP trovanja u ljudi najčešće uključuju parestezije, odnosno trnce i utrnulost, vrtoglavicu, slabost, ataksiju, mučninu i povraćanje, dok u težim slučajevima može doći do progresivne paralize i respiratornog zatajenja (EFSA, 2009; Pinto i sur., 2023; Visciano i sur., 2016).

Paralitičko trovanje školjkašima ubraja se među najranije opisane sindrome trovanja morskom hranom u priobalnim područjima. Povijesni zapisi o PSP epizodama povezanim s konzumacijom školjkaša potječu još s kraja 18. stoljeća na području sjeveroistočnog Pacifika, gdje su trovanja zabilježena 1793. i 1799. godine (McIntyre i sur., 2021; Trainer, 2003). U jugoistočnoj Aziji više su puta zabilježene PSP epizode povezane s cvjetanjima dinoflagelata *Pyrodinium bahamense*, osobito na području Filipina, gdje su opisana velika trovanja školjkašima s brojnim oboljelima i zabilježenim smrtnim ishodima (Estudillo, 1984).

Paralitičke toksine proizvode dinoflagelati roda *Alexandrium*, *Gymnodinium* i *Pyrodinium*, pri čemu su među važnim proizvođačima *Gymnodinium catenatum* i *Pyrodinium bahamense*. U europskim i sredozemnim priobalnim područjima pojava PSP toksina u školjkašima najčešće se povezuje s vrstama roda *Alexandrium* (Accoroni i sur., 2023; Anderson i sur., 2011). Sastav i udjeli pojedinih analoga PSP toksina u školjkašima mogu se razlikovati od sastava toksina prisutnih u fitoplanktonu zbog biotransformacijskih procesa u organizmu školjkaša (Bricelj i Shumway, 1998; EFSA, 2009).

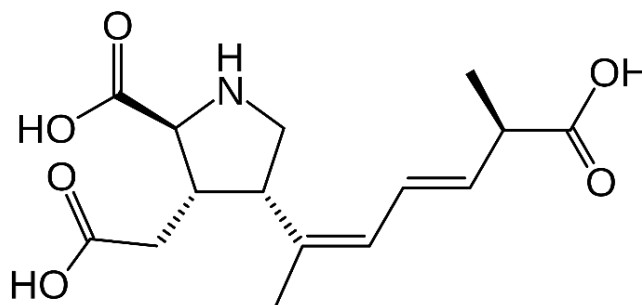
U Sredozemnom moru PSP epizode dokumentirane su u više područja. Duž talijanske obale prekoračenja propisane najviše dopuštene razine od 800 µg STX diHCl ekvivalenata/kg školjkaša zabilježena su rijetko (Europska komisija, 2019, 2021; Europski parlament i Vijeće Europske unije, 2004). Najviši maseni udjeli PSP toksina utvrđeni su na Sardiniji, u zaljevu Oristano, gdje su dosežali do 2941 µg STX ekvivalenata/kg, te na Siciliji, do 13 782 µg STX ekvivalenata/kg (Accoroni i sur., 2024; Lugliè i sur., 2017). U sjevernom Jadranu ranije je zabilježeno i prekoračenje na talijanskoj obali regije Emilia-Romagna, gdje je u dagnjama u svibnju 1994.

godine izmjereno 1 926,60 μg STX ekvivalenata/kg (Zoffoli i sur., 2025). U hrvatskom dijelu srednjeg Jadrana PSP toksičnost potvrđena je u dagnjama iz Kaštelanskog zaljeva tijekom 1990-ih godina, no utvrđeni maseni udjeli toksina bili su ispod 800 μg STX ekvivalenata/kg (Pavela-Vrančić i Marasović, 2004). Prvi potvrđeni profil PSP toksina u uzgojenim dagnjama duž istočne jadranske obale opisan je u uzorcima prikupljenima tijekom zime i proljeća 2009. godine. U pojedinim uzorcima maseni udjeli prelazili su zakonski propisanu granicu od 800 μg STX ekvivalenata/kg, a među dominantnim analogima bili su STX i GTX2/3 (Ujević i sur., 2012).

2.3.8.7. ASP toksini

Amnezijski toksini predstavljaju skupinu hidrofilnih spojeva čiji je najvažniji predstavnik DK, ciklička aminokiselina s tri karboksilne skupine i heterocikličkim prstenom (slika 27). Domoična kiselina djeluje agonist ionotropnih glutamatnih receptora, osobito kainatnih i AMPA receptora, čime uzrokuje prekomjernu stimulaciju živčanih stanica i razvoj ekscitotoksičnih učinaka. Amnezijsko trovanje školjkašima u ljudi može se očitovati gubitkom kratkotrajnog pamćenja, dezorijentacijom i konvulzijama, dok u težim slučajevima može doći i do smrtnog ishoda (Bates i sur., 1989; Petroff i sur., 2021).

Glavni proizvođači DK su dijatomeje roda *Pseudo-nitzschia*, dok je proizvodnja DK potvrđena i kod pojedinih vrsta roda *Nitzschia* (Bates i sur., 1989, 2018). U Jadranskom moru proizvodnja DK potvrđena je kod vrsta *P. calliantha*, *P. delicatissima*, *P. multistriata* i *P. galaxiae*. Uz DK se u školjkašima i fitoplanktonu mogu pojaviti i strukturno srodni izomeri, uključujući epi-domoičnu kiselinu (epi-DK) i izodomoične kiseline (iso-DK A – F). Njihova zastupljenost može se razlikovati ovisno o vrsti organizma i procesima transformacije i eliminacije toksina (EFSA, 2009).



Slika 27. Strukturna formula DK.

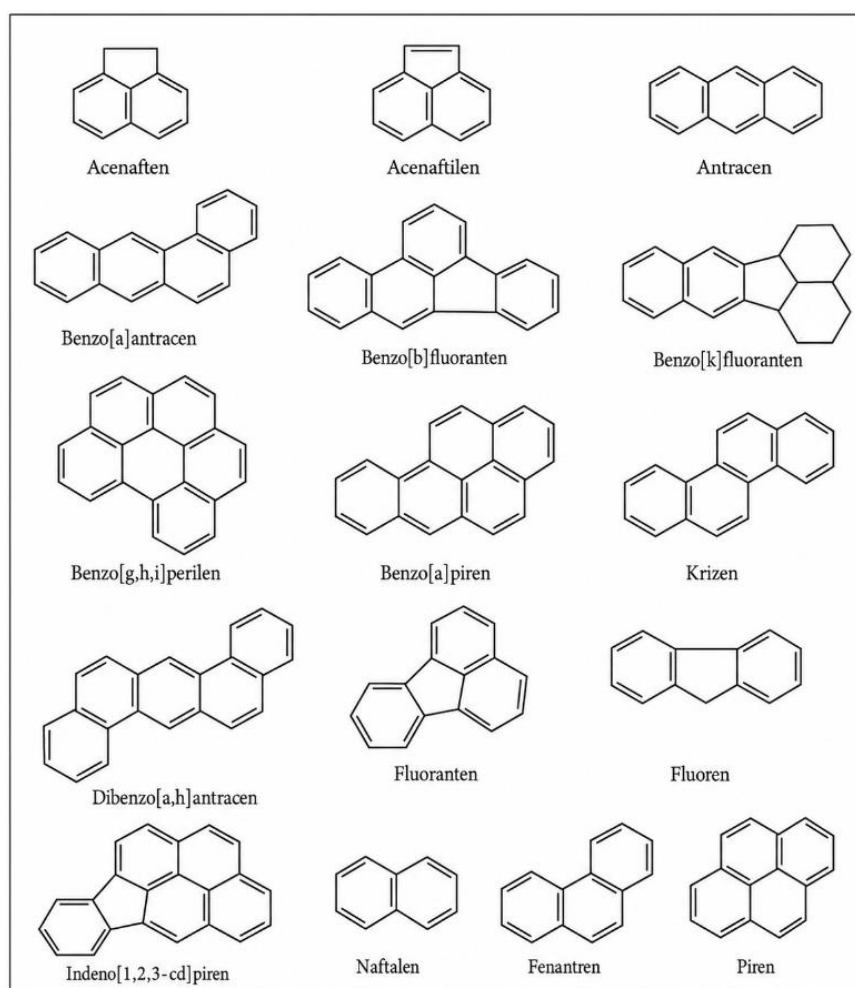
Prva velika dokumentirana epizoda ASP-a zabilježena je 1987. godine u Kanadi, kada je nakon konzumacije dagnji kontaminiranih DK zabilježen velik broj slučajeva trovanja s izraženim neurološkim simptomima i smrtnim ishodima (Perl i sur., 1990). Nakon toga, pojava DK i privremena zatvaranja proizvodnih područja školjkaša zabilježeni su u različitim dijelovima svijeta, osobito uz obale Sjeverne Amerike, Europe, Azije i Novog Zelanda (Bates i sur., 2018; Trainer i sur., 2011). U Jadranskom moru DK je prvi put potvrđena u dagnjama s talijanske obale u prosincu 2000. godine, dok je u hrvatskim vodama prvi put utvrđena u siječnju 2006. godine (Ciminiello i sur., 2005; Ujević i sur., 2010). U hrvatskom dijelu Jadrana najviši izmjereni maseni udio DK iznosio je 6549 µg/kg cijelog tkiva školjkaša, što je bilo ispod propisane granice EU od 20 000 µg/kg (Ujević i sur., 2010). Dugogodišnji podatci iz Galicije na sjeverozapadnoj obali Španjolske potvrđuju učestalu pojavnost DK i epizode prekoračenja propisane granice EU (Blanco i sur., 2021). Tijekom službenog praćenja provedenog u Francuskoj 2015. godine najviši maseni udio DK iznosio je 284 mg/kg u velikim kopicama (*Pecten maximus*) iz područja Bresta te 33 mg/kg u školjkašima roda *Donax* s obale Gironde (ANSES, 2016). Prisutnost DK potvrđena je i u različitim morskim organizmima. U uzorcima ascidija roda *Microcosmus* iz sjevernog Jadrana najviši izmjereni maseni udio iznosio je 24,3 µg/kg, dok je u kraljičinih kopicama (*Aequipecten opercularis*) izmjereno do 810 µg/kg (Kvrgić i sur., 2022). Akumulacija DK potvrđena je i u pelagičnim ribama, uključujući sardine i incune, koje mogu sudjelovati u prijenosu toksina kroz hranidbenu mrežu tijekom cvjetanja dijatomeja (Trainer i sur., 2011).

2.3.9. PAH-ovi

2.3.9.1. Molekularna obilježja i klasifikacija PAH-ova u okolišu

Policiklički aromatski ugljikovodici skupina su organskih spojeva građenih od ugljika i vodika, a njihove molekule sastoje se od dvaju ili više međusobno kondenziranih aromatskih prstenova (US EPA, 2018; ATSDR, 1995). Delokalizirani π -elektroni raspoređeni su između aromatskih prstenova koji dijele zajedničke ugljikove atome te pridonose stabilnosti molekule (ATSDR, 1995; Lawal, 2017). Zbog hidrofobnih svojstava PAH-ovi se vežu na suspendirane čestice i organsku tvar te se talože u sedimentu (ATSDR, 1995; Chimjarn i sur., 2021). Na njihovu raspodjelu u okolišu utječu sadržaj organske tvari, udio ukupnog organskog ugljika i veličina čestica sedimenta, pri čemu se PAH-ovi češće vežu na sitnije čestice (ATSDR, 1995; Chizhova i sur., 2025).

Klasificiraju se prema broju aromatskih prstenova i molekularnoj masi na PAH-ove niske molekulske mase (engl. *low molecular weight*, LMW) s 2 do 3 aromatska prstena i PAH-ove visoke molekulske mase (engl. *high molecular weight*, HMW) s četiri ili više aromatskih prstenova (ATSDR, 1995; Femi-Oloye i sur., 2024). U LMW skupinu ubrajaju se naftalen (Naph), acenaftilen (Acy), acenaften (Ace), fluoren (Flu), fenantren (Phe) i antracen (Ant), dok HMW skupinu čine fluoranten (Flt), piren (Pyr), benzo[a]antracen (BaA), krizen (Chr), benzo[b]fluoranten (BbF), benzo[k]fluoranten (BkF), benzo[a]piren (BaP), dibenzo[a,h]antracen (DahA), indeno[1,2,3-cd]piren (IcdP) i benzo[ghi]perilen (BghiP) (slika 28) (Femi-Oloye i sur., 2024; Zelinkova i Wenzl, 2015). Topljivost PAH-ova u vodi smanjuje se s porastom broja aromatskih prstenova i molekulske mase. Istodobno se povećavaju njihova lipofilnost i sklonost sorpciji na čvrstu fazu, što se najčešće odražava višim vrijednostima koeficijenta raspodjele n-oktanol/voda ($\log K_{ow}$) (Femi-Oloye i sur., 2024).



Slika 28. Strukturne formule PAH-ova.

Osim prema broju aromatskih prstenova, PAH-ovi se mogu klasificirati i prema strukturnim obilježjima na roditeljske (nesupstituirane) i supstituirane PAH-ove. Supstituirani PAH-ovi nastaju kada je jedan ili više atoma vodika u molekuli zamijenjen drugim atomom ili funkcionalnom skupinom. Među njima se najčešće izdvajaju alkilirani PAH-ovi, nitro-PAH-ovi i oksigenirani PAH-ovi. U odnosu na roditeljske PAH-ove, pojedini supstituirani PAH-ovi mogu imati drukčija fizikalno-kemijska svojstva te veću reaktivnost i toksičnost (US EPA, 2018; Cao i sur., 2023).

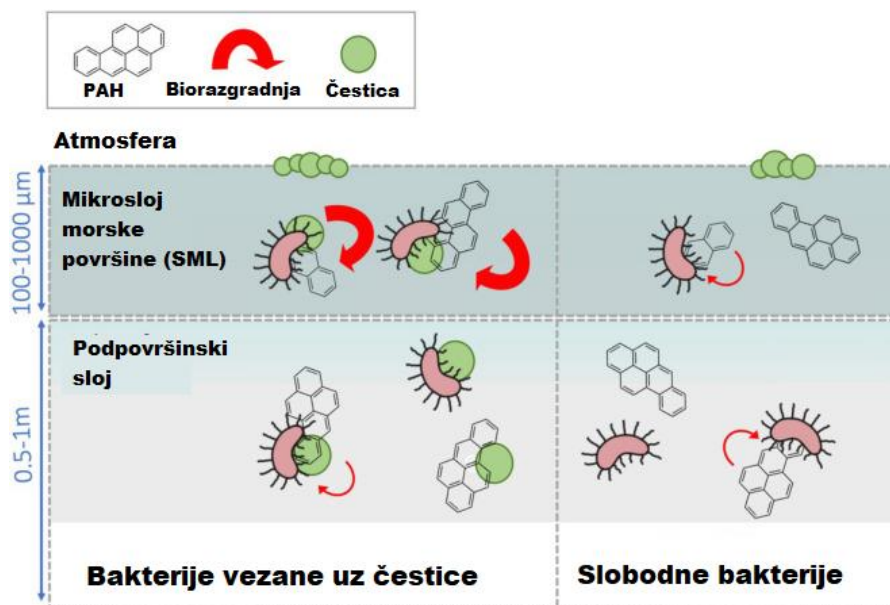
Uredbom Komisije (EU) 2023/915 propisani su najviši dopušteni maseni udjeli PAH-ova u hrani. Kao pokazatelji prisutnosti PAH-ova koriste se BaP i zbroj četiriju PAH-ova (PAH4), koji uključuje BaP, BaA, BbF i Chr. Najviši dopušteni maseni udjeli PAH-ova u školjkašima iznose 5 µg/kg za BaP i 30 µg/kg za PAH4 (Europska komisija, 2023). Preporukom Komisije 2005/108/EZ naglašena je potreba praćenja većeg broja PAH-ova radi pouzdanije procjene izloženosti i utvrđivanja može li se BaP koristiti kao pouzdan pokazatelj prisutnosti PAH-ova u hrani. Preporuka obuhvaća 15 prioriternih PAH-ova, uz dodatno praćenje benzo[c]fluorena.

2.3.9.2. *Kruženje PAH-ova u morskom okolišu*

Policiklički aromatski ugljikovodici iz atmosfere dospijevaju u more taloženjem čestica iz zraka te ispiranjem i prijenosom PAH-ova oborinama. U more dospijevaju i rijekama, površinskim otjecanjem oborinskih voda s urbanih i industrijskih površina, ispuštanjem otpadnih voda, izlivanjem nafte te drugim antropogenim aktivnostima (ATSDR, 1995). U atmosferi LMW PAH-ovi češće su prisutni u plinovitoj fazi, dok se HMW PAH-ovi uglavnom vežu uz čestice aerosola (Keyte i sur., 2013). U atmosferi PAH-ovi mogu reagirati s hidroksilnim radikalima, ozonom, nitratnim radikalima i dušikovim dioksidom, pri čemu nastaju oksigenirani i nitrirani derivati PAH-ova različite reaktivnosti i toksičnosti (Keyte i sur., 2013).

Nakon ulaska u more PAH-ovi se raspodjeljuju između otopljene frakcije, koloida i frakcije vezane uz suspendirane čestice. Na njihov prijenos i prostornu raspodjelu utječu morske struje i miješanje vodenih masa, koji omogućuju prijenos PAH-ova između površinskih i dubljih slojeva mora (Farrington i Takada, 2014). Važnu ulogu u razmjeni PAH-ova između atmosfere i mora ima mikrosloj morske površine (engl. *sea surface microlayer*, SML), tanki površinski sloj na granici zraka i mora. Taj je sloj obogaćen organskom tvari i suspendiranim česticama. Zbog toga se PAH-ovi u njemu mogu zadržavati, pa njihove koncentracije mogu biti više nego u podpovršinskom

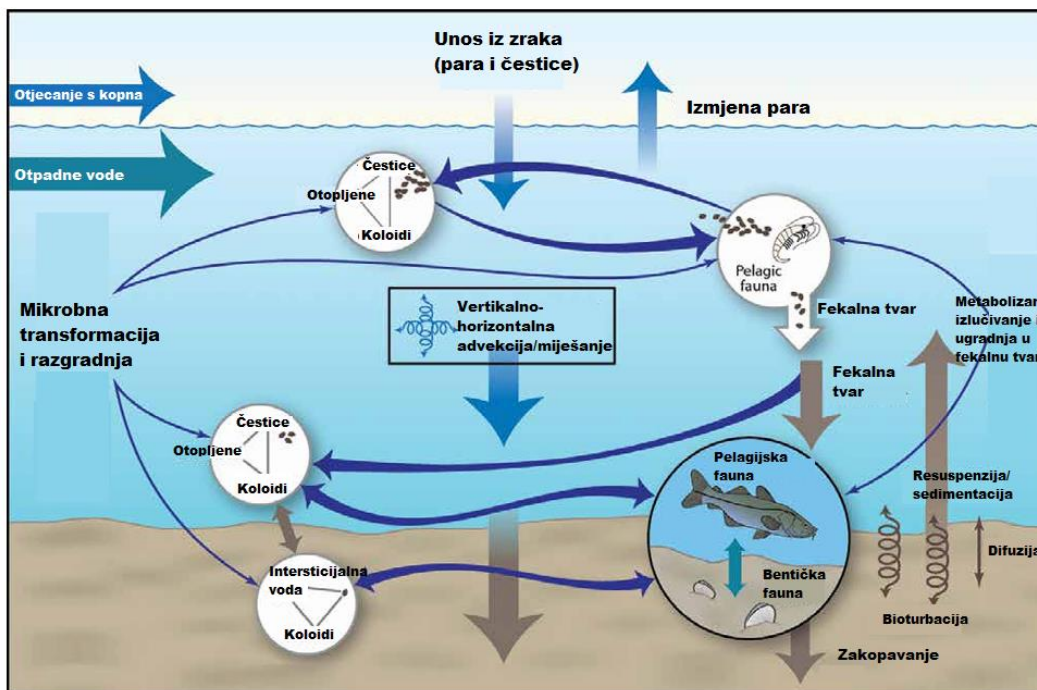
sloju mora (Cincinelli i sur., 2001, 2005). U SML-u i podpovršinskom sloju prisutne su bakterije vezane uz čestice, koje mogu sudjelovati u razgradnji PAH-ova adsorbiranih na čestice te slobodnoživuće bakterije, koje mogu razgrađivati PAH-ove u otopljenoj frakciji (slika 29). U istraživanju provedenom u obalnom području Antarktike uklanjanje PAH-ova bilo je brže u SML-u nego u podpovršinskom sloju mora. Najbrže su se uklanjali hidrofobniji PAH-ovi vezani uz čestice, što upućuje na važnu ulogu bakterijskih zajednica vezanih uz čestice (Martínez-Varela i sur., 2022).



Slika 29. Raspodjela i biorazgradnja PAH-ova u SML-u i podpovršinskom sloju mora. Preuzeto i prilagođeno prema Martínez-Varela i sur. (2022).

U površinskim slojevima mora PAH-ovi mogu podlijetati fotokemijskim transformacijama, dok se dio spojeva vezanih uz čestice taloži prema sedimentu, gdje se mogu dugotrajno zadržavati (ATSDR, 1995). Sediment je važan spremnik PAH-ova, ali se PAH-ovi iz njega mogu ponovno osloboditi u vodeni stupac. Do oslobađanja može doći resuspenzijom sedimenta, prijelazom PAH-ova iz sedimenta u intersticijalnu vodu te bioturbacijom, odnosno miješanjem sedimenta djelovanjem bentičkih organizama. Navedeni procesi mogu utjecati na bioraspoloživost PAH-ova (Farrington i Takada, 2014; Zhang i sur., 2024). Vertikalni prijenos PAH-ova prema dnu povezan je i s biološkim procesima. Policiklički aromatski ugljikovodici vezani uz organske čestice mogu se taložiti prema dnu zajedno s fekalnim peletama pelagičkih organizama, morskim snijegom i ostacima fitoplanktona. Taj se proces naziva biološka pumpa (Farrington i Takada, 2014). Morski

organizmi mogu unositi PAH-ove iz otopljene frakcije, suspendiranih čestica i hrane. Policiklički aromatski ugljikovodici se zatim mogu prenositi hranidbenom mrežom između pelagičkih i bentičkih organizama (ATSDR, 1995). Glavni procesi prijenosa, transformacije i kruženja PAH-ova između atmosfere, vodenog stupca, sedimenta i morskih organizama prikazani su na slici 30.



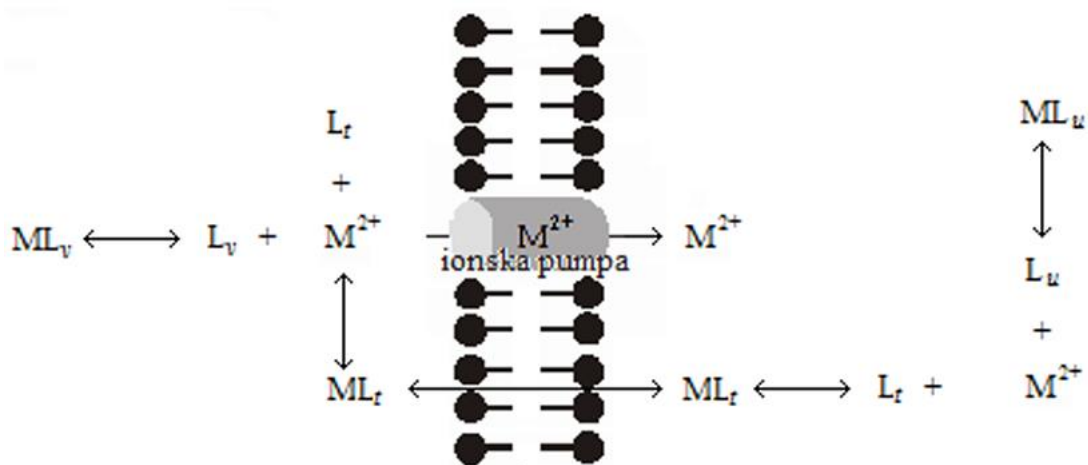
Slika 30. Biogeokemijski ciklus PAH-ova u morskom okolišu. Preuzeto i prilagođeno prema Farrington i Takada (2014).

2.4. Mehanizmi bioakumulacije onečišćujućih tvari (metala i PAH-ova) u školjkašima

Bioakumulacija je posljedica ravnoteže između unosa i eliminacije onečišćujućih tvari iz organizma. Kada je unos veći od eliminacije, njihov se maseni udio u tkivima tijekom vremena povećava. Za procjenu akumulacije mogu se koristiti faktor biokoncentracije (engl. *bioconcentration factor*, BCF) i faktor bioakumulacije (engl. *bioaccumulation factor*, BAF). Faktor biokoncentracije opisuje unos onečišćujuće tvari iz vode, dok BAF obuhvaća unos iz svih izvora, uključujući vodu i hranu. Pri procjeni prijenosa onečišćujućih tvari iz sedimenta u organizme može se koristiti i faktor akumulacije biota-sediment (engl. *biota-sediment accumulation factor*, BSAF). Na bioakumulaciju metala i PAH-ova u školjkašima utječu biološki

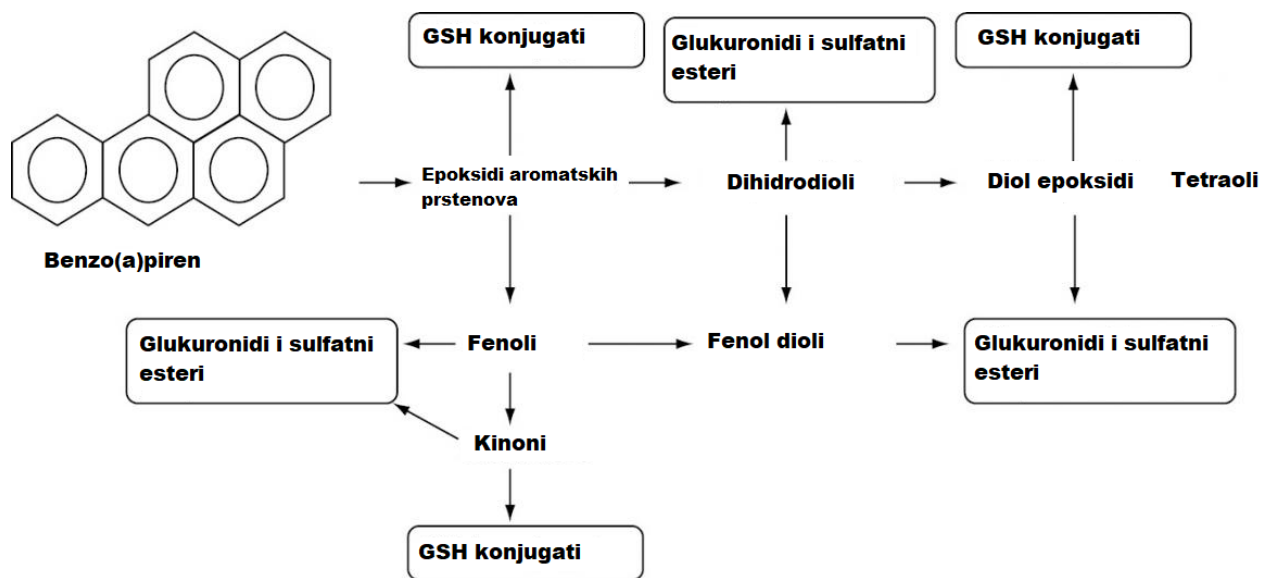
i okolišni čimbenici. Od bioloških čimbenika važni su veličina, dob, reproduktivni ciklus i fiziološko stanje organizma. Tijekom gametogeneze i mrijesta mogu se mijenjati maseni udjeli onečišćujućih tvari u tkivima zbog promjena u fiziološkom stanju organizma i raspodjeli tvari između tkiva (Amiard i sur., 2005; Bates i sur., 2021; Knopf i sur., 2020). Od okolišnih čimbenika važni su temperatura, salinitet, pH, sadržaj organske tvari i strujanje mora. Ti čimbenici mogu utjecati na kemijske oblike i bioraspoloživost metala, raspodjelu PAH-ova u okolišu te unos i eliminaciju onečišćujućih tvari iz organizma. Njihov učinak ovisi o svojstvima pojedine onečišćujuće tvari i lokalnim uvjetima u okolišu (Bates i sur., 2021; Luoma i Rainbow, 2005).

Metali i PAH-ovi mogu ući u školjkaše iz otopljene frakcije vode te unosom suspendiranih čestica, fitoplanktona, detritusa i resuspendiranih čestica sedimenta na koje su onečišćujuće tvari vezane (Baumard i sur., 1998; Luoma i Rainbow, 2005). Vezanje metala za organske i anorganske ligande u morskoj vodi utječe na njihove kemijske oblike, a time i na njihovu bioraspoloživost i toksičnost. Slobodni ioni metala uglavnom su lakše dostupni za unos u organizam (Moffett i Boiteau, 2024). Nakon unosa u organizam PAH-ovi i metali zadržavaju se i nakupljaju u tkivima različitim mehanizmima. Zbog lipofilnih svojstava PAH-ovi prolaze kroz biološke membrane difuzijom i nakupljaju se u tkivima bogatima lipidima, a metali se nakon ulaska u stanice vežu za unutarstanične ligande i pohranjuju u različitim dijelovima stanice. Dio metala ostaje metabolički dostupan, dok se dio može pohraniti u oblicima koji smanjuju njegovu toksičnost (Rainbow, 2006) (slika 31).



Slika 31. Shematski prikaz prijenosa dvovalentnog metalnog iona kroz staničnu membranu uz sudjelovanje liganada i membranskih transportnih proteina. L_t – transportni ligand; L_u – unutarnji ligand; L_v – vanjski ligand; M – metal. Preuzeto i prilagođeno prema Rainbow (1997).

Maseni udjeli PAH-ova u tkivima školjkaša ovise o njihovoj koncentraciji u okolišu, udjelu PAH-ova vezanih uz organsku tvar i suspendirane čestice te udjelu lipida u tkivima školjkaša. Nakon ulaska u stanice PAH-ovi mogu podlijegati biotransformaciji, odnosno enzimskim reakcijama kojima se mijenja njihova kemijska struktura i olakšava njihovo izlučivanje iz organizma (Gan i sur., 2021; Livingstone, 1998). Biotransformacija se odvija u dvije faze. U reakcijama faze I PAH-ovi se najčešće oksidiraju djelovanjem enzima iz skupine citokroma P450. Pritom mogu nastati reaktivni metaboliti. Primjerice, biotransformacijom BaP-a mogu nastati epoksidni, dihidrodiolni, fenolni i kinonski metaboliti (slika 32). Pojedini reaktivni metaboliti mogu reagirati s DNA, proteinima i drugim biomolekulama te uzrokovati genotoksične i oksidativne učinke (Gan i sur., 2021; IARC, 2010; Livingstone, 1998). U reakcijama faze II metaboliti se konjugiraju s polarnim molekulama, primjerice glutationom (GSH), glukuronskom kiselinom ili sulfatima (slika 32). Time se povećava njihova topljivost u vodi i olakšava njihovo izlučivanje iz organizma. Tijekom biotransformacije mogu nastati i reaktivne kisikove vrste, koje mogu uzrokovati oksidativna oštećenja biomolekula i dijelova stanice (Gan i sur., 2021; Livingstone, 1998; Ravi i sur., 2022).



Slika 32. Shematski prikaz biotransformacije BaP. Preuzeto i prilagođeno prema Marinković i sur. (2013).

Probavna žlijezda važna je za akumulaciju, biotransformaciju i detoksikaciju onečišćujućih tvari u školjkašima. Neesencijalni metali, kao i esencijalni metali prisutni u suvišku, mogu se pohraniti u oblicima kojima se smanjuju njihova reaktivnost i toksičnost (Amiard i sur., 2005; Marigómez i

sur., 2002). Toksični učinci metala ovise ponajprije o udjelu metala koji ostaje dostupan za sudjelovanje u procesima unutar stanice. Metali pohranjeni u detoksiciranim oblicima imaju manju mogućnost interakcije sa staničnim komponentama (Rainbow, 2006). Važnu ulogu u regulaciji i detoksikaciji metala imaju MT-i koji vežu metale poput Cd-a, Cu-a i Zn-a te smanjuju njihovu toksičnost (Amiard i sur., 2005; Wang i Rainbow, 2010). Dio metala pohranjuje se i u lizosomima, granulama bogatim metalima i rezidualnim tijelima. Na taj se način smanjuje njihova dostupnost za sudjelovanje u procesima unutar stanice i omogućuje njihovo dulje zadržavanje u tkivima (Marigómez i sur., 2002; Rainbow, 2006).

2.5. *Važnost školjkaša i sedimenta kao bioindikatora onečišćenja mora*

Školjkaši su u morskom okolišu izloženi onečišćujućim tvarima. Budući da filtriraju velike količine morske vode i suspendiranih čestica te akumuliraju onečišćujuće tvari u tkivima, koriste se kao bioindikator onečišćenja mora (El Boudammoussi i sur., 2025; Fattorini, 2025; Luoma i Rainbow, 2005; Rainbow, 2002; Yap i sur., 2021). Onečišćujuće tvari mogu unositi iz otopljene frakcije vode, suspendiranih čestica i hrane (Bryan i Darracott, 1979; Rainbow, 2002). Analizom školjkaša može se procijeniti izloženost onečišćujućim tvarima tijekom duljeg razdoblja jer se smanjuje utjecaj kratkotrajnih promjena njihovih koncentracija u morskoj vodi (Goldberg, 1975; Rainbow, 2002; Amiard i sur., 2005). Analiza njihova ukupnog mekog tkiva važna je i za procjenu rizika za potrošače te kontrolu zdravstvene ispravnosti hrane. Ovisno o cilju istraživanja, mogu se zasebno analizirati probavna žlijezda, škrge i stopalo, a mogu se analizirati i bisusna vlakna. Različita tkiva mogu sadržavati različite koncentracije onečišćujućih tvari (slika 33).



Slika 33. Unutarnja građa dagnje.

Među školjkašima se u programima praćenja onečišćenja morskog okoliša često koriste dagnje roda *Mytilus* (Amiard i sur., 2005; Goldberg, 1975; Rainbow, 2002). Pogodne su za praćenje onečišćenja zbog široke rasprostranjenosti u priobalnim područjima, sjedilačkog načina života, sposobnosti akumulacije onečišćujućih tvari i dostupnosti na staništima pogodnima za uzorkovanje. Sediment, za razliku od morskih organizama, pruža uvid u taloženje i dugotrajnije zadržavanje onečišćujućih tvari. Metali i hidrofobni organski spojevi mogu se vezati uz sitnozrnate čestice i organsku tvar te se nakupljati u sedimentu. Zbog toga se analizom sedimenta može procijeniti dugotrajnije opterećenje okoliša onečišćujućim tvarima (Eggleton i Thomas, 2004; Förstner i Wittmann, 1981).

3. MATERIJALI I METODE

3.1. Područje istraživanja

Jadransko more poluzatvoreni je bazen Sredozemnog mora smješten između Apeninskog i Balkanskog poluotoka. Pruža se u smjeru sjeverozapad-jugoistok u duljini od približno 800 km te zauzima površinu od oko 138 000 km². Zapadna obala Jadrana slabo je razvedena, za razliku od istočne obale koja je uglavnom izgrađena od karbonatnih stijena i obilježena krškim reljefom. Pripada dalmatinskom tipu obale, koji se odlikuje usporednim pružanjem otoka, kanala i kopna u dinarskom smjeru, pretežno sjeverozapad-jugoistok. Takav tip obale nastao je potapanjem potapanjem krškog reljefa, pri čemu su viši dijelovi reljefa postali otoci, a niži dijelovi morski kanali (Pikelj i Juračić, 2013). Na temelju batimetrijskih obilježja Jadranski bazen sastoji se od triju glavnih morfoloških cjelina: sjevernojadranske, srednjoadranske i južnojadranske kotline. Južni Jadran, obuhvaćen ovim istraživanjem, proteže se od Palagruškog praga do Otrantskih vrata te obuhvaća Južnojadransku kotlinu, najdublji dio Jadrana, s dubinama većim od 1200 m. Razmjena vode između Jadranskog i Jonskog mora odvija se kroz Otrantska vrata, široka približno 72 – 75 km, s dubinom praga od približno 750 – 780 m (Cerrano i sur., 2015; Vrdoljak i sur., 2021).

Cirkulacija u Jadranskom moru odvija se uglavnom u ciklonskom smjeru te je određena geomorfologijom bazena, atmosferskim djelovanjem i razlikama u gustoći morske vode. Toplija i slanija voda iz Jonskog mora ulazi u Jadran kroz Otrantska vrata uz istočnu obalu te tvori Istočnojadransku obalnu struju koja teče prema sjeverozapadu. Istodobno, hladnija i manje slana voda, pod utjecajem rijeka, osobito rijeke Po, otječe prema jugoistoku uz zapadnu obalu kao Zapadnojadranska obalna struja (Artegiani i sur., 1997; Orlić i sur., 1992). Termohalinska cirkulacija ima važnu ulogu u stvaranju, obnavljanju i prijenosu dubokih voda Jadrana te u razmjeni vodenih masa između Jadrana i istočnog Sredozemlja. Među glavnim vodenim masama Jadrana izdvajaju se: (1) Jadranska površinska voda, koja dominira površinskim slojem i pod snažnim je utjecajem rijeka, oborina i sezonskog zagrijavanja; (2) Levantska intermedijarna voda, koja kroz Otrantska vrata ulazi iz istočnog Sredozemlja i širi se intermedijarnim slojevima Jadrana te (3) Jadranska duboka voda, koja nastaje tijekom zimskog razdoblja kao posljedica hlađenja i povećanja gustoće površinskih voda. Međudjelovanje navedenih vodenih masa određuje vertikalnu

raspodjelu temperature, saliniteta i gustoće te značajno utječe na biogeokemijske procese i svojstva vodenog stupca u Jadranskom moru (Cushman-Roisin i sur., 2001; Manca i sur., 2002).

Novija oceanografska mjerenja i analize dugoročnih nizova podataka ukazuju na porast temperature vodenih masa Jadrana te porast saliniteta u pojedinim područjima i slojevima, u skladu s trendovima zabilježenima u Sredozemnom moru (Kubin i sur., 2023; Skliris i sur., 2024). Kontinuirana mjerenja provedena u sjevernom Jadranu tijekom posljednjih desetljeća pokazala su porast temperature kroz cijeli vodeni stupac, dok su promjene saliniteta prostorno neujednačene i uglavnom nisu statistički značajne. Mjerenja duž jugozapadne jadranske padine u razdoblju 2012. – 2020. zabilježila su porast temperature i saliniteta dubokih voda (Paladini de Mendoza i sur., 2023; Vilibić i sur., 2019). Promjene temperature i saliniteta u Jadranu mogu utjecati na gustoću novonastalih gustih voda te na intenzitet vertikalnog miješanja vodenog stupca. Povezane su i s izmjenama ciklonskog i anticiklonskog režima cirkulacije u Jonskom moru, poznatima kao BiOS mehanizam, koje utječu na dotok intermedijarnih vodenih masa u Jadran, a posredno i na razmjenu vodenih masa te vertikalni transport kisika i hranjivih tvari u duboke slojeve mora (Mihanović i sur., 2021; Vilibić i sur., 2019).

Raspodjela sedimenta u Jadranskom moru ovisi o hidrodinamičkim uvjetima, batimetriji, riječnim unosima i geološkim značajkama obale. U zaštićenim priobalnim područjima, estuarijima i depresijama povoljniji su uvjeti za taloženje sitnozrnatih, pretežno muljevutih sedimenata, dok u područjima izloženima jačem djelovanju valova i struja češće dolazi do resuspenzije i prijenosa sedimenta. Pjeskoviti sedimenti zastupljeni su u plićim priobalnim područjima i na dijelovima šelfa, a uz razvedenu kršku obalu istočnog Jadrana česta su i stjenovita dna. U zapadnom dijelu sjevernog i srednjeg Jadrana, uz talijansku obalu, prevladavaju sitnozrnati sedimenti, dok se takav materijal taloži i u dubljim depresijama srednjeg i južnog Jadrana. Uz istočnu obalu Jadrana u plićim područjima često su zastupljeni karbonatni pijesak i šljunak, dok u zaštićenijim i dubljim područjima prevladavaju sitnozrnati sedimenti s višim udjelom praha i gline (Cerrano i sur., 2015; Matijević i sur., 2008).

Glavni izvori riječnog terigenog materijala su u sjevernom i zapadnom dijelu jadranskog sliva, pri čemu najveći doprinos imaju rijeka Po i rijeke Apeninskog poluotoka. Riječni se sediment resuspendira i prenosi duž zapadnog šelfa djelovanjem valova i Zapadnojadranske obalne struje

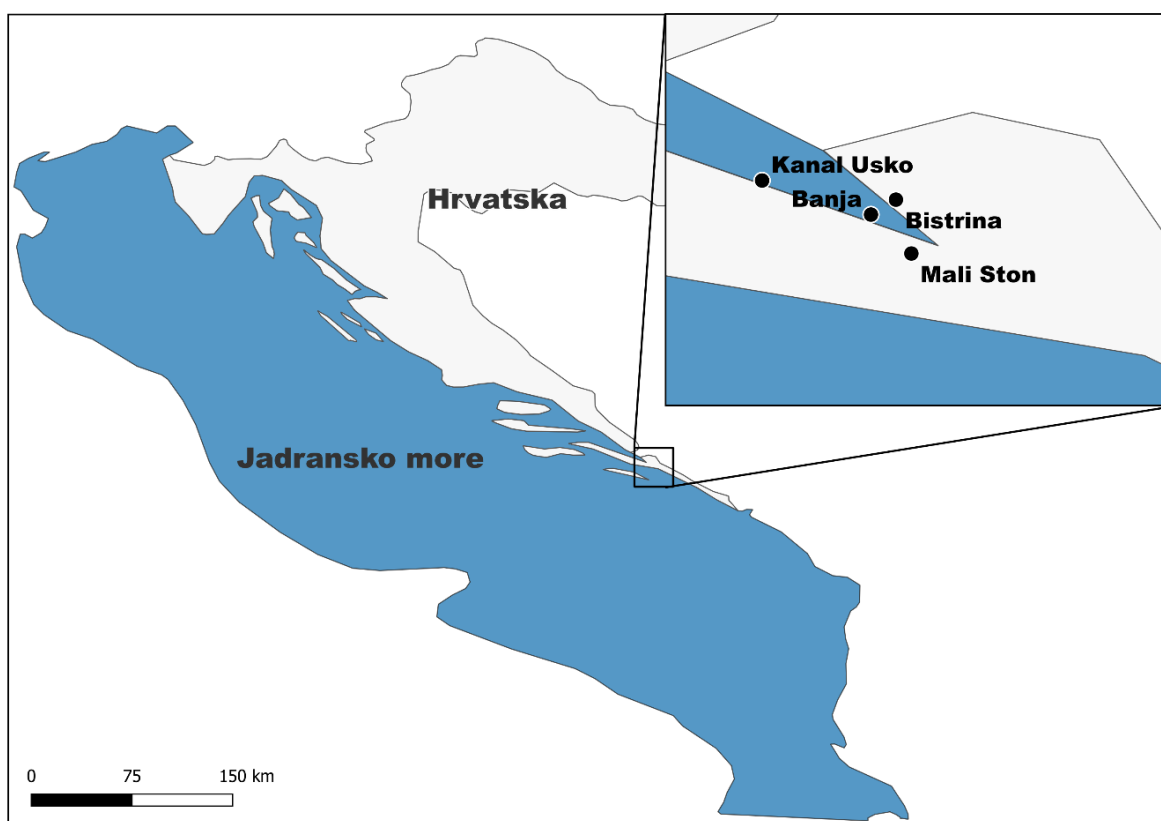
(Harris i sur., 2008; Sherwood i sur., 2004). Količina sedimenta koju u Jadransko more unose rijeke istočne obale znatno je manja, a taloženje tog materijala najizraženije je u priobalnim područjima i estuarijima. U područjima nakupljanja sitnozrnatog materijala može doći i do povećanog zadržavanja organske tvari i onečišćujućih tvari vezanih za čestice sedimenta (Cukrov i sur., 2024; Giglio i sur., 2020; Jurina i sur., 2013; Magi i sur., 2002; Mandić i Pavela-Vrančić, 2017).

3.1.1. Malostonski zaljev

Malostonski zaljev smješten je u južnom dijelu hrvatske obale Jadranskog mora, unutar Dubrovačko-neretvanske županije. Omeđen je poluotokom Pelješcem na jugozapadu i kopnom na sjeveroistoku. Prema sjeverozapadu Malostonski zaljev povezan je s Neretvanskim kanalom, u koji se ulijeva rijeka Neretva. Šire područje Malostonskog zaljeva i Malog mora administrativno se prostire unutar općina Dubrovačko primorje, Janjina, Slivno i Ston. Zaljev je dug približno 28 km i širok do 6,1 km, a najveća dubina iznosi 29 m, pri čemu se na približno 80 % njegove površine dubina kreće između 20 i 29 m. Geološku podlogu područja pretežito izgrađuju vodopropusne karbonatne stijene s razvijenim krškim sustavom, podzemnim tokovima i vruljama. Uz obalu je morsko dno pretežno stjenovito, a prema dubljim dijelovima postupno prelazi u muljevito. Na hidrološke i ekološke uvjete u zaljevu utječu izmjena vode s otvorenim morem, podzemni izvori slatke vode, osobito u njegovu unutarnjem dijelu te rijeka Neretva, čiji je utjecaj izraženiji u vanjskom dijelu zaljeva (Kršinić i sur., 2016; Tomšić i Lovrić, 2004). Intenzitet slatkovodnih dotoka mijenja se tijekom godine, što uzrokuje prostorne i sezonske promjene temperature i saliniteta te povremenu termohalinsku stratifikaciju vodenog stupca. Slatkovodni dotoci pridonose unosu hranjivih soli i stvaranju povoljnih uvjeta za razvoj fitoplanktona. Dostupnost organske tvari i planktona pogoduje rastu i razvoju školjkaša, zbog čega se Malostonski zaljev smatra jednim od najznačajnijih područja školjkarstva u Jadranu (Jasprica i Car, 2003; Peharda i sur., 2012; Radić i sur., 2014; Viličić i sur., 1998). Uzgoj školjkaša u Malostonskom zaljevu ima dugu tradiciju, posebno u uvali Bistrina, koja se navodi kao jedno od najvažnijih uzgojnih područja kamenica u Hrvatskoj (Cetinić, 2024; Tomšić i Lovrić, 2004).

Malostonski zaljev dio je ekološke mreže Natura 2000, a šire područje Malostonskog zaljeva i Malog mora zaštićeno je i kao posebni rezervat u moru. Plan upravljanja za razdoblje 2023. – 2032. definira ciljeve očuvanja prirodnih vrijednosti i smjernice za održivo upravljanje područjem. Za

potrebe istraživanja odabrane su četiri reprezentativne postaje: Kanal Usko, Banja, Bistrina i Mali Ston (slika 34). Ove postaje odabrane su tako da obuhvate različite ekološke uvjete unutar Malostonskog zaljeva, a njihov raspored temelji se na ranijim istraživanjima u kojima su ista ili slična područja prepoznata kao važna za praćenje promjena fizikalno-kemijskih i bioloških parametara (Čalić i sur., 2013; Lučić i Onofri, 1990; Viličić i sur., 1998). Važnost prostornog praćenja okolišnih uvjeta i kakvoće uzgojnih područja potvrđuju i novija istraživanja prisutnosti onečišćujućih tvari u školjkašima iz Malostonskog zaljeva (Vuletić i sur., 2021; Papini i Rakaj, 2025).



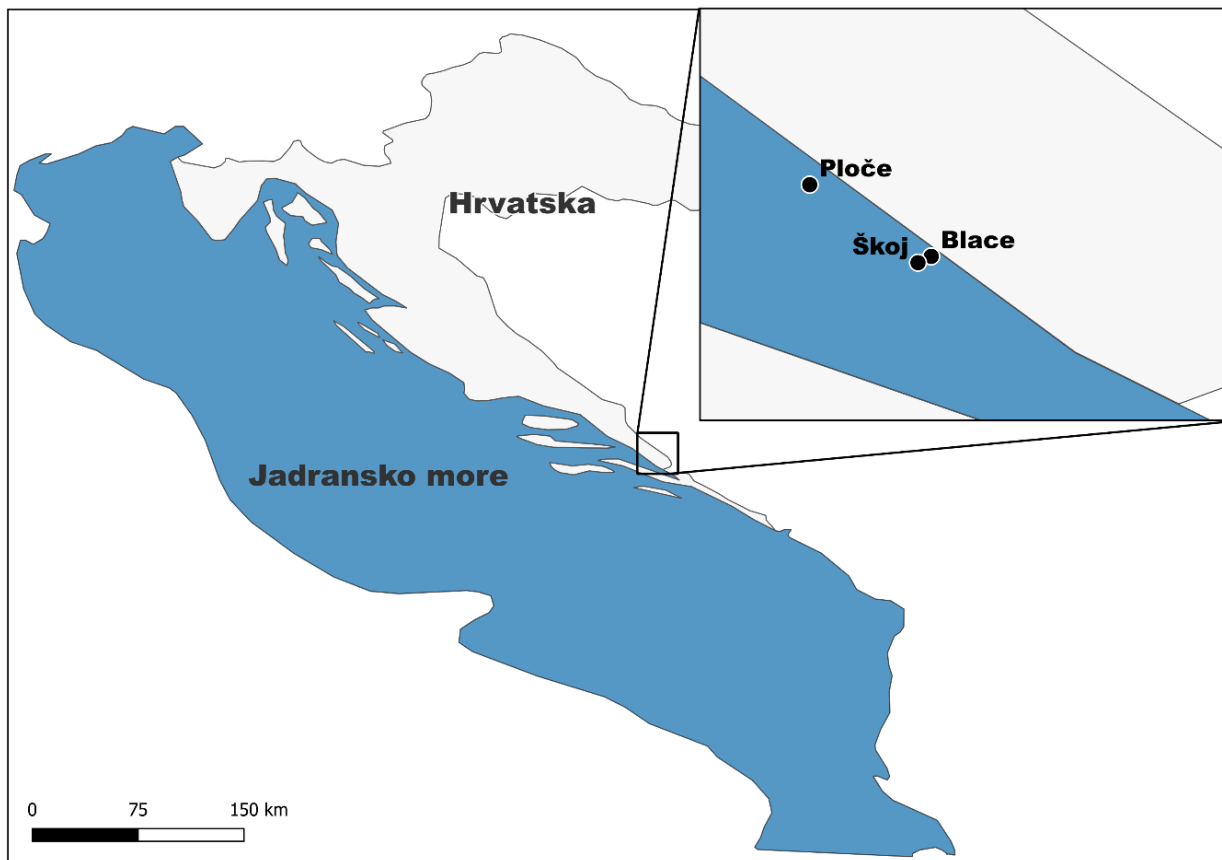
Slika 34. Položaj kontrolnih točaka uzorkovanja (Kanal Usko, Banja, Bistrina i Mali Ston).

Postaja Kanal Usko smještena je u sjeverozapadnom dijelu istraživanog područja, gdje povezuje unutarnji dio Malostonskog zaljeva s vanjskim dijelom akvatorija. Budući da se na tom području uzgajaju školjkaši, postaja je važna za procjenu njihove izloženosti onečišćujućim tvarima prisutnima u morskom okolišu. Postaja Banja nalazi se u središnjem dijelu zaljeva, u području u kojem se isprepleću utjecaji morske vode i slatkovodnih dotoka. Odabrana je radi praćenja

moćueg unosa onećišćujućih tvari s kopna te njihova prijenosa i raspodjele unutar zaljeva. Postaja Bistrina smještena je u zašćienoju uvali u središnjem dijelu Malostonskog zaljeva. Budući da je uvala Bistrina jedno od važnijih područja uzgoja školjkaša, ova je postaja pogodna za praćenje kakvoće uzgojnog područja i prisutnosti onećišćujućih tvari u školjkašima. Postaja Mali Ston nalazi se u unutarnjem, jugoistoćnom dijelu zaljeva, gdje je izražen utjecaj slatkovodnih dotoka iz okolnoga krškog područja. Omogućuje praćenje prirodnih i antropogenih utjecaja na okolišne uvjete te usporedbu s postajama smještenima u središnjem i zapadnijem dijelu istraživanog područja.

3.1.2. Estuarijsko područje rijeke Neretve

Neretva je najveća rijeka hrvatskog dijela istoćne obale Jadrana. Izvire u planinskom području Bosne i Hercegovine te nakon približno 225 km toka utjeće u Jadransko more na području južne Hrvatske (IUCN/UNEP, 2011). U donjem toku oblikuje prostranu deltu nastalu taloženjem rijećnog sedimenta, jedno od najvrjednijih moćvarnih područja istoćne obale Jadrana. Deltu karakterizira razgranat sustav rukavaca, plitkih laguna, moćvarnih kanala i boćatih ušća, koji ćine prijelazno područje između slatkovodnog i morskog okoliša (Mužinić, 2007). Zbog očuvanih moćvarnih staništa i važnosti za ptice selice, delta Neretve uvrštena je 1992. godine na Ramsarski popis moćvarnih područja od međunarodnog znaćaja (Ramsar Secretariat, 1992). Geomorfološka i hidrološka obilježja delte omogućuju razvoj zajednica prilagoćdenih promjenjivom salinitetu, među kojima su brojne vrste riba, beskralježnjaka i ptica moćvarica. Dotok slatke vode bogate suspendiranom tvari i hranjivim solima pogoduje primarnoj proizvodnji. Rijeka ima važnu ulogu i u prijenosu sitnozrnatog sedimenta prema Neretvanskom kanalu, gdje se rijećni materijal taloži, osobito u područjima povoljnima za njegovu akumulaciju (Giglio i sur., 2020; Jurina i sur., 2013; Margeta, 2024). Za potrebe ovog istraživanja odabrane su tri istraživaćke postaje: Ploće, Blace i Škoj (slika 35), koje su zbog svojih hidrografskih i sedimentoloških obilježja pogodne za istraživanje akumulacije onećišćujućih tvari u sedimentu i školjkašima te za procjenu antropogenih utjecaja na priobalni i estuarijski okoliš.



Slika 35. Položaj kontrolnih točaka uzorkovanja (Ploče, Blace i Škoj).

Postaja Ploče obuhvaća područje u blizini ušća Neretve i luke Ploče, gdje se može očekivati izraženiji antropogeni utjecaj na morski okoliš. Zbog blizine urbano-lučkog područja i riječnog ušća prikladna je za praćenje mogućeg unosa i akumulacije onečišćujućih tvari u sedimentu i školjkašima. Postaja Blace smještena je uz rub delte Neretve, u području miješanja slatke vode i priobalnog mora. Zbog blizine poljoprivrednih površina i riječnih dotoka pogodna je za praćenje mogućeg prijenosa hranjivih soli, organske tvari i onečišćujućih tvari s kopna, osobito nakon obilnijih oborina i pojačanog površinskog otjecanja. Postaja Škoj nalazi se u akvatoriju otočića Škoj, jugoistočno od delte Neretve, u području uzgoja školjkaša. Zbog položaja u prijelaznom području između estuarijskog i priobalnog morskog okoliša prikladna je za praćenje utjecaja riječnog dotoka, promjena fizikalno-kemijskih uvjeta te biorasploživosti i bioakumulacije onečišćujućih tvari u školjkašima.

3.2. Uzorkovanje

Ukupno 84 uzorka dagnji prikupljena su tijekom dvogodišnjeg razdoblja (2022. – 2023.), u intervalima od dva mjeseca, na ukupno sedam postaja koje obuhvaćaju Malostonski zaljev (Kanal Usko, Banja, Bistrina i Mali Ston) i estuarijsko područje rijeke Neretve (Ploče, Blace i Škoj). Na svakoj postaji prikupljeno je oko 4 kg školjkaša kako bi se osigurao reprezentativan uzorak. Cjelokupno meko tkivo jedinki homogenizirano je neposredno nakon uzorkovanja. U slučajevima kada analize nisu mogle biti odmah provedene, uzorci su zamrznuti i pohranjeni na -20 °C. Iz homogenata mase 200 – 250 g izdvojeno je približno 30 g za liofilizaciju, namijenjenih analizama metala, dok je ostatak homogenata pohranjen za analize PAH-ova, lipofilnih i hidrofilnih morskih biotoksina.

Istodobno je prikupljeno i 84 uzorka površinskog sedimenta, uzorkovanih na istim postajama i u istim vremenskim intervalima kao i uzorci dagnji. Uzorkovanje je provedeno korerom, pri čemu su uzimani uzorci jezgre iz površinskog sloja dubine 0 – 2 cm. Na svakoj je postaji prikupljeno približno 1 kg površinskog sedimenta, koji je nakon uzorkovanja zamrznut na -20 °C do laboratorijske obrade. Za potrebe analiza uzorci su liofilizirani, nakon čega je približno 150 g izdvojeno za određivanje fizikalno-kemijskih svojstava sedimenta (određivanje veličine zrna, udio organske tvari i karbonata), dok je oko 50 g korišteno za analize metala i PAH-ova.

3.3. Određivanje fizikalno-kemijskih karakteristika sedimenta

3.3.1. Podjela klastičnih sedimenata na osnovi veličine zrna

Za opis i klasifikaciju veličine zrna klastičnih sedimenata u sedimentologiji se primjenjuju različite ljestvice i sustavi razvrstavanja, ovisno o rasponu veličina zrna i svrsi analize. Jedan od najčešće korištenih sustava jest Wentworthova ljestvica (Wentworth, 1922), koja se temelji na geometrijskom nizu veličina zrna s omjerom 2 između susjednih razreda (slika 36). Za jednostavniji prikaz i statističku obradu podataka o veličini zrna primjenjuje se ϕ (phi) skala, koju je uveo Krumbein (1934). Veličina zrna izražava se prema jednadžbi:

$$\phi = -\log_2 d \quad (1)$$

gdje je d promjer zrna izražen u milimetrima. Vrijednost ϕ povećava se smanjenjem veličine zrna: krupnije čestice imaju niže, često negativne ϕ -vrijednosti, dok sitnije čestice imaju više ϕ -

vrijednosti. Primjena ϕ -skale omogućuje standardizirani prikaz širokog raspona veličina zrna te jednostavniju statističku obradu i grafičko prikazivanje podataka o veličini zrna (Wentworth, 1922; Krumbein, 1934).

WENTHWORTHOVA PODJELA				
MILIMETRI	MIKRONI	PHI (Φ)	ENGLJSKI NAZIVI	HRVATSKI NAZIVI
4096		-12		
1024		-10	BOULDER	BLOKOVI
256		-8	COBBLE	OBLUCI
64		-6	PEBBLE	KRUPNI ŠLJUNAK
16		-4		
4		-2		
3,38		-1,75		
2,83		-1,5		SITNI ŠLJUNAK
2,38		-1,25	GRANULE	ŠLJUNAK
2		-1	VERY COARSE SAND	VRLO KRUPNI
1,68		-0,75		
1,14		-0,5		
1,19		-0,25		
1		0		
0,84		0,25	COARSE SAND	KRUPNI
0,71		0,5		
0,59		0,75		
0,50	500	1		
0,42	420	1,25	MEDIUM SAND	SREDNJI
0,35	350	1,5		
0,3	300	1,75		
0,25	250	2		
0,21	210	2,25		
0,177	177	2,5	FINE SAND	SITNI
0,149	149	2,75		
0,125	125	3		
0,105	105	3,25		
0,088	88	3,5	VERY FINE SAND	VRLO SITNI
0,074	74	3,75		
0,0625	63	4		PJESAK
0,053	53	4,25	COARSE SILT	KRUPNI
0,044	44	4,5		
0,037	37	4,75		
0,031	31	5	MEDIUM SILT	SREDNJI
0,0156	15,6	6		
0,0078	7,8	7	FINE SILT	SITNI
0,0039	3,9	8	VERY FINE SILT	VRLO SITNI
0,002	2	9	COARSE CLAY	KRUPNI
0,00098	0,98	10	MEDIUM CLAY	SREDNJI
0,00049	0,49	11	FINE CLAY	SITNI
0,00024	0,24	12	VERY FINE CLAY	VRLO SITNI
0,00012	0,12	13	COLLOID	GLINA
0,00006	0,06	14		KOLOIDI
				OTOPLJENO

Slika 36. Klasifikacija i nomenklatura klastičnih sedimenata na osnovi veličine zrna prema Wentworthu (1922). Preuzeto i prilagođeno prema Tišljar (1994).

Rspodjela veličine zrna sedimenta u ovom radu određen je kombinacijom mokrog prosijavanja i laserske difrakcije pomoću uređaja Malvern Mastersizer 3000E. Uzorci sedimenta mokro su prosijani na situ s otvorima veličine 0,5 mm. Sitnija frakcija (< 0,5 mm) analizirana je laserskim granulometrom, dok je krupnija frakcija (> 0,5 mm) osušena i dodatno prosijana kroz set sita s otvorima veličine 1, 2 i 4 mm. Rezultati obiju metoda objedinjeni su radi prikaza ukupne raspodjele veličine zrna. Dobiveni podaci prikazani su kumulativnim krivuljama, pri čemu je veličina zrna izražena u ϕ -jedinicama. Granice veličinskih frakcija (šljunak, pijesak, prah i glina) određene su prema Wentworthovoj klasifikaciji (Wentworth, 1922) (tablica 1).

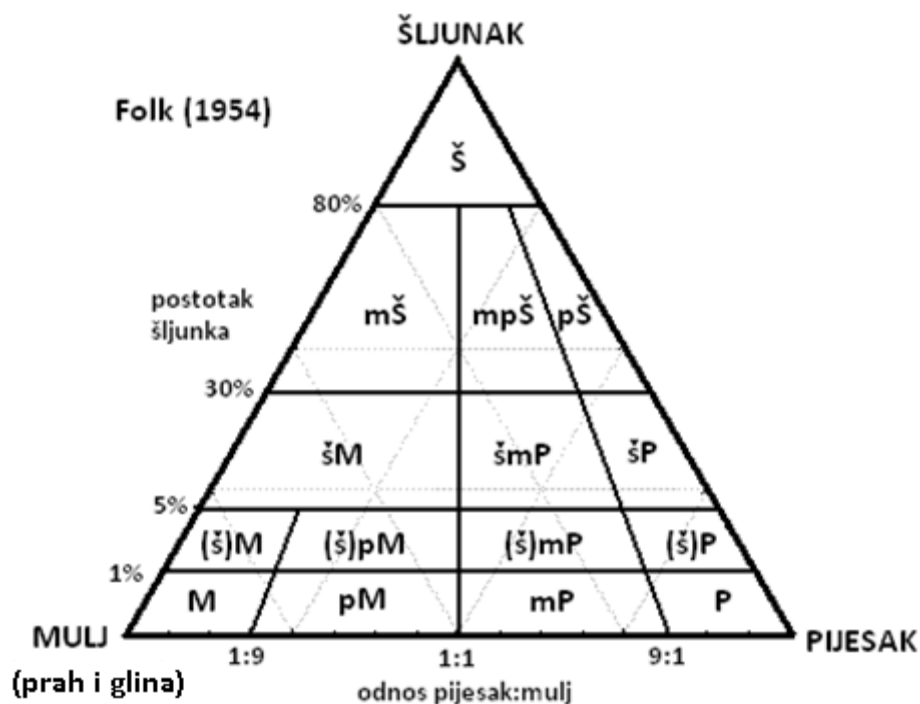
Tablica 1. Granice veličinskih frakcija prema Wentworth (1922).

Frakcija	Veličina zrna (mm)	Veličina zrna (ϕ)
Šljunak	> 2,00	< -1 ϕ
Pijesak	0,063 – 2,00	4 – (-1) ϕ
Prah	0,004 – 0,063	8 – 4 ϕ
Glina	< 0,004	> 8 ϕ

3.3.2. Tip sedimenta prema Folkovoj klasifikaciji

U prirodnim uvjetima sedimenti su rijetko sastavljeni isključivo od čestica jedne veličinske frakcije, već se najčešće sastoje od različitih udjela gline, praha, pijeska i šljunka. Stoga sedimentološka karakterizacija, osim određivanja veličine zrna, obuhvaća i primjenu odgovarajuće nomenklature koja se temelji na kvantitativnim odnosima pojedinih veličinskih frakcija.

U ovom radu tip sedimenta definiran je prema Folk-ovoj klasifikaciji (Folk, 1954), prikazanoj na slici 37, na temelju udjela šljunka te omjera pijeska i muljevite frakcije (prah + glina), a sedimenti su klasificirani prema Folk-ovoj nomenklaturi kao: M – mulj, pM – pjeskoviti mulj, (š)M – neznatno šljunkoviti mulj, (š)pM – neznatno šljunkovito pjeskoviti mulj, šM – šljunkoviti mulj, P – pijesak, mP – muljeviti pijesak, (š)mP – neznatno šljunkovito muljeviti pijesak, šmP – šljunkovito muljeviti pijesak, šP – šljunkoviti pijesak, Š – šljunak, mŠ – muljeviti šljunak, mpŠ – muljevito pjeskoviti šljunak i pŠ – pjeskoviti šljunak.



Slika 37. Folk-ova (1954) klasifikacija klastičnih sedimenata na osnovi međusobnog udjela pojedinih kategorija zrna.

Za izračun granulometrijskih parametara korištene su vrijednosti veličine zrna očitane pri kumulativnim postocima od 5 %, 16 %, 50 %, 84 % i 95 %, prema metodologiji Folk i Ward (1957). Na temelju tih vrijednosti izračunati su prosječna veličina zrna (M_z), medijalna veličina zrna (M_d) i sortiranost (S_o), primjenom formula prikazanih u tablici 2.

Tablica 2. Granulometrijski parametri i formule izračuna (Folk i Ward, 1957).

Parametar	Formula	Opis
M_z	$(\phi_{16} + \phi_{50} + \phi_{84}) / 3$	Srednja vrijednost raspodjele veličine zrna
M_d	ϕ_{50}	Veličina zrna kod koje 50 % čestica ima manji, a 50 % veći promjer
S_o	$((\phi_{84} - \phi_{16}) / 4) + ((\phi_{95} - \phi_5) / 6,6)$	Pokazatelj raspodjele veličina zrna

Dobivene vrijednosti parametra S_o iskorištene su za klasifikaciju stupnja sortiranosti prema kriterijima Folk i Ward (1957) (tablica 3).

Tablica 3. Klasifikacija sortiranosti (Folk i Ward, 1957).

So	Klasifikacija
< 0,35	Vrlo dobro sortirano
0,35 – 0,50	Dobro sortirano
0,50 – 0,70	Umjereno dobro sortirano
0,70 – 1,00	Umjereno sortirano
1,00 – 2,00	Loše sortirano
2,00 – 4,00	Vrlo loše sortirano
> 4,00	Izuzetno loše sortirano

3.3.3. Kemijske analize sedimenta

Za kemijsku analizu sedimenta korišteni su sljedeći reagensi: 30 %-tna otopina vodikova peroksida (H_2O_2 (30%)), 4 M klorovodična kiselina (HCl) i kalcijev karbonat (CaCO_3), kao i porculanski lončići za žarenje, sušionik, peć za žarenje, Erlenmayerove tikvice volumena 250 mL, gumeni čepovi s otvorom, staklene cjevčice, plastične cjevčice za spajanje, posudice volumena 5 mL, analitička vaga (Mettler PM 480) te kalcijev klorid (CaCl_2) koji je služio kao sredstvo za sušenje u staklenim cjevčicama.

Udio organske tvari u sedimentu određen je gravimetrijski. Prethodno osušeni porculanski lončići izvagani su, nakon čega je u svaki lončić dodano najmanje 0,5 g uzorka sedimenta. Lončići s uzorcima sušeni su preko noći u sušioniku na 110 °C, ohlađeni i ponovno izvagani. Uzorci se preliju s H_2O_2 (30%), u količini dovoljnoj da se prekrije sav uzorak. Uzorci su zatim žareni šest sati na 450 °C, nakon čega su ohlađeni i ponovno izvagani. Udio organske tvari izražen je u postotku prema jednadžbi:

$$\text{Organska tvar (\%)} = \frac{(b-c)}{(b-a)} * 100 \quad (2)$$

gdje su:

a – masa lončića (g);

b – masa osušenog uzorka u lončiću (g);

c – masa žarenog uzorka u lončiću (g).

Udio karbonata u sedimentu također je određen gravimetrijski, prema metodi Loringa i Rantale (1992). Najmanje 1 g suhog uzorka stavljeno je u prethodno izvaganu Erlenmeyerovu tikvicu volumena 250 mL. U tikvicu je umetnuta posudica s 5 mL 4 M HCl, a tikvica je zatvorena gumenim čepom s umetnutom staklenom cjevčicom ispunjenom s CaCl₂, čiji su krajevi začepljeni vatom. Tikvica je izvagana, a zatim nagnuta kako bi se kiselina prelila preko uzorka. Tijekom sljedeća dva sata tikvica je povremeno lagano promućkana kako bi uzorak ostao u dodiru s kiselinom. Nakon završetka reakcije sustav je rastavljen, a tikvica ponovno izvagana. Razlika u masi (P) odgovara gubitku mase zbog oslobađanja ugljikova dioksida (CO₂). Postupak je ponovljen s 0,1 g čistog CaCO₃, pri čemu je izmjereni gubitak mase označen kao Q. Udio karbonata u uzorku izračunat je prema jednadžbi:

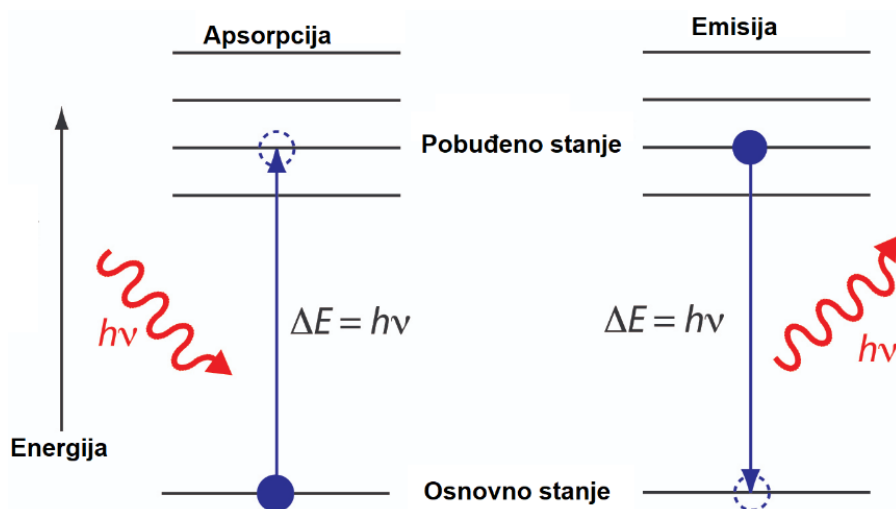
$$CaCO_3 (\%) = \frac{P (g) * 0,1 g}{Q (g) * m (g)} * 100 \quad (3)$$

3.4. *Određivanje masenih udjela metala u školjkašima i sedimentu*

Kvantitativna analiza metala u uzorcima mekog tkiva školjkaša i površinskog sedimenta provedena je AAS metodom. Za određivanje Fe, Mn i Zn primijenjena je plamena atomska apsorpcijska spektrometrija (engl. *flame atomic absorption spectrometry*, FAAS), dok su Cd, Pb, Cu, Cr i Ni određeni atomskom apsorpcijskom spektrometrijom s elektrotoplinskom atomizacijom u grafitnoj peći (engl. *graphite furnace atomic absorption spectrometry*, GFAAS). Sadržaj Hg određen je DMA metodom.

3.4.1. *Princip rada AAS*

Atomska apsorpcijska spektrometrija ubraja se među temeljne spektroskopske tehnike za kvantitativno određivanje metala u uzorcima iz okoliša. Metoda se temelji na tome da slobodni atomi analita u plinovitom stanju apsorbiraju elektromagnetsko zračenje karakteristične valne duljine, pri čemu elektroni prelaze iz osnovnog u pobuđeno energetska stanje. Analitički signal predstavlja apsorbanciju, odnosno smanjenje intenziteta upadnog zračenja uzrokovano apsorpcijom energije atoma analiziranog elementa (slika 38).



Slika 38. Shematski prikaz elektronskih prijelaza pri apsorpciji i emisiji.

Svaki metal ima karakterističan linijski apsorpcijski spektar. U odgovarajućem mjernom području apsorpcija je proporcionalna koncentraciji analita, u skladu s Beer-Lambertovim zakonom (Bings i sur., 2010; Skoog i sur., 2018; Welz i Sperling, 1998), koji se izražava jednadžbom:

$$A = \log(I_0/I) = \varepsilon * b * c \quad (4)$$

gdje je:

A – apsorpcija na danoj valnoj duljini svjetlosti;

I_0 – intenzitet upadnog zračenja;

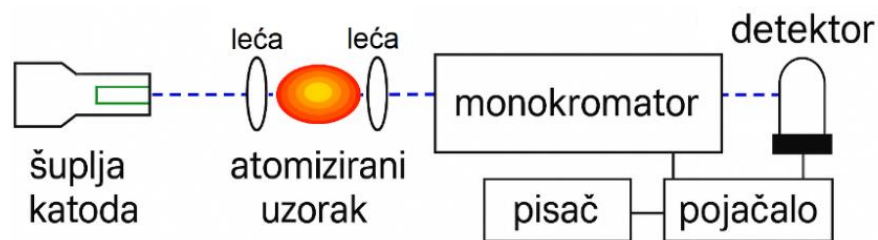
I – intenzitet propuštenog zračenja nakon prolaska kroz uzorak;

ε – molarni apsorpcijski koeficijent (L/molcm);

b – duljina puta svjetlosti kroz uzorak (cm);

c – koncentracija tvari u otopini (mol/L).

Atomski apsorpcijski spektrometar sastoji se od izvora zračenja koji emitira karakterističnu valnu duljinu analiziranog elementa, atomizatora koji pretvara analit u slobodne atome, monokromatora koji izdvaja odabranu valnu duljinu te detektora koji mjeri intenzitet propuštenog zračenja i pretvara ga u električni signal. Kao izvor zračenja najčešće se primjenjuje šuplja katodna žarulja, dok vrsta atomizatora ovisi o primijenjenoj tehnici: plamen kod FAAS-a ili grafitna peć kod GFAAS-a. Shematski prikaz osnovnih dijelova AAS prikazan je na slici 39.



Slika 39. Shema AAS.

Razlikuju se tri glavna načina atomizacije:

1. FAAS – uzorak se priprema u obliku otopine, nakon čega se pomoću nebulizatora raspršuje u obliku aerosola i prenosi u komoru za miješanje. Fina maglica ulazi u plamen koji se najčešće sastoji od smjese zrak-acetilen ili dušikov(I) oksid-acetilen (N_2O -acetilen). U plamenu dolazi do isparavanja otapala, disocijacije spojeva i atomizacije analita. Apsorpcija zračenja odvija se pri karakterističnoj rezonantnoj valnoj duljini pojedinog elementa. Ovu tehniku karakteriziraju jednostavna izvedba, stabilan rad i relativno niski troškovi, zbog čega se često primjenjuje za određivanje metala prisutnih u višim koncentracijama u različitim okolišnim matricama. Nedostatci uključuju nižu osjetljivost i više GD u odnosu na GFAAS, budući da je vrijeme zadržavanja atoma u zoni apsorpcije relativno kratko (Bings i sur., 2010; Skoog i sur., 2018; Welz i Sperling, 1998).
2. GFAAS – mali volumen uzorka pipetira se izravno u grafitnu cijev koja služi kao atomizator. Električnim zagrijavanjem provodi se programirana sekvenca sušenja, pirolize, atomizacije i čišćenja. Tijekom sušenja uklanja se otapalo, dok se pirolizom uklanja dio sastavnica matriksa koje bi mogle ometati mjerenje. U fazi atomizacije analit se prevodi u slobodne atome te se mjeri apsorpcija karakterističnog zračenja. Završna faza čišćenja provodi se pri vrlo visokim temperaturama radi uklanjanja ostataka uzorka i reagensa sa stijenki grafitne cijevi. Budući da se atomizacija odvija u malom volumenu, a atomi se dulje zadržavaju u optičkoj zoni, GFAAS omogućuje veću osjetljivost i niže GD od FAAS-a. Metoda je pogodna za analizu malih količina uzorka, no zahtijeva dulje vrijeme analize te je osjetljivija na utjecaj matriksa, zbog čega se često primjenjuju matriks modifikatori (Bings i sur., 2010; Skoog i sur., 2018; Welz i Sperling, 1998).

3. DMA – sadržaj Hg određuje se metodom koja kombinira toplinsku razgradnju uzorka, amalgamaciju i atomsku apsorpcijsku spektrometriju. Prethodna digestija uzorka nije potrebna. Uzorak se unosi izravno u uređaj, gdje prolazi faze sušenja i toplinske razgradnje u struji kisika. Pri povišenoj temperaturi Hg prelazi u plinovito stanje, nakon čega se pare prenose do zlatnog amalgamatora, na kojem se selektivno zadržavaju. Brzim zagrijavanjem amalgamatora oslobođene pare Hg prenose se u optičku ćeliju, gdje se mjeri apsorbanacija pri valnoj duljini od 253,7 nm. Ovu metodu karakteriziraju kratko vrijeme analize, minimalna priprema uzorka i smanjen rizik od kontaminacije, uz visoku osjetljivost i niske GD (Bussan i sur., 2015; US EPA, 2007).

3.4.2. Priprema laboratorijskog pribora

Kako bi se osigurala analitička točnost i smanjio rizik od kontaminacije tijekom određivanja metala, korišten je laboratorijski pribor izrađen od polietilena visoke gustoće (HDPE), politetrafluoretilena (PTFE) i nehrđajućeg čelika. Prije uporabe, teflonske posudice za mikrovalnu digestiju očišćene su prema laboratorijskom protokolu:

- posudice preko noći ostavljene u otopini laboratorijskog deterdžent radi uklanjanja površinskih onečišćenja;
- potom su triput isprane deioniziranom vodom te ostavljene da se suše na zraku najmanje jedan sat;
- dodatno čišćenje provedeno je u zatvorenim PTFE posudicama primjenom otopine pripremljene od 15 mL deionizirane vode i 5 mL koncentrirane dušične kiseline (HNO₃, pro analysis, p.a.). Zagrijavanje je provedeno u mikrovalnom sustavu prema programu čišćenja koji je uključivao četiri faze: zagrijavanje na 170 °C pri tlaku od 35 bar tijekom 10 min, zatim zagrijavanje na 200 °C pri tlaku od 35 bar tijekom 16 min, hlađenje na 50 °C pri tlaku od 25 bar tijekom 11 min te održavanje temperature od 50 °C tijekom 2 min radi postupnog izjednačavanja tlaka s atmosferskim tlakom;
- po završetku ciklusa čišćenja, posudice su triput isprane deioniziranom vodom i osušene.

3.4.3. Priprema uzoraka

Približno 0,2 g liofiliziranog i homogeniziranog mekog tkiva dagnji podvrgnuto je razgradnji u mikrovalnom sustavu korištenjem mješavine 5 mL HNO₃ (suprapur, s.p.) i 2 mL H₂O₂. Program zagrijavanja obuhvaćao je više faza s postupnim povećanjem temperature i tlaka radi razgradnje organske matrice uzorka. U prvoj fazi temperatura je linearno povećavana do 150 °C tijekom 10 min pri tlaku od 30 bar i snazi od 50 %. U drugoj fazi temperatura je povećana na 190 °C tijekom 5 min te održavana 15 min pri tlaku od 35 bar i snazi od 80 %. Nakon završetka digestije sustav je hlađen pri 50 °C tijekom 10 min, čime je omogućeno sigurno smanjenje unutarnjeg tlaka i stabilizacija uzorka prije otvaranja posudica. Nakon završene mikrovalne digestije, uzorci su razrijeđeni deioniziranom vodom do konačnog volumena od 20 mL.

Za analizu sedimenta približno 0,1 g liofiliziranog i homogeniziranog uzorka sedimenta razgrađeno je u mikrovalnom sustavu mješavinom 4 mL HNO₃ (s.p.), 1 mL HCl i 1 mL fluorovodične kiseline (HF). Program mikrovalnog zagrijavanja za mineralizaciju anorganske matrice sedimenta uključivao je dvije faze. Početni ciklus mikrovalne digestije silikatne matrice sedimenta uključivao je zagrijavanje do 180 °C tijekom 10 min pri tlaku od 35 bar i snazi od 80 %, uz održavanje navedene temperature tijekom dodatnih 10 min. Slijedilo je hlađenje pri 50 °C tijekom 10 min i tlaku od 25 bara. Po završetku digestije i nakon potpunog hlađenja posudica, uzorcima je dodano 6 mL zasićene otopine borne kiseline (H₃BO₃) radi kompleksiranja zaostalih fluoridnih iona i smanjenja njihova ometajućeg djelovanja u daljnjoj analizi. Nakon dodatka H₃BO₃ uzorci su ponovno zagrijani u mikrovalnom sustavu: temperatura je povećana do 190 °C tijekom 10 min pri tlaku od 35 bar i snazi od 80 %, a zatim održavana pri toj temperaturi tijekom dodatnih 10 min. Nakon hlađenja sadržaj posudica razrijeđen je deioniziranom vodom do konačnog volumena od 50 mL.

3.4.4. Materijali i kemikalije

Za analizu metala u uzorcima tkiva dagnji i sedimenta korišteni su reagensi visoke čistoće. Upotrijebljene su slijedeće kemikalije i materijali:

- HNO₃ (> 68 %, stupanj čistoće: PrimarPlus – za analize tragova; Fisher Chemical, SAD);
- HNO₃ (65 %, stupanj čistoće: p.a.; LabExpert, KEFO d.o.o., Slovenija);

- HCl (~ 37 %, stupanj čistoće: PrimarPlus – za analize tragova; Fisher Chemical, SAD);
- HF (stupanj čistoće: TraceMetal Grade – za analize metala u tragovima; Fisher Chemical, SAD);
- H₂O₂ (30 – 32 %, stupanj čistoće: PrimarPlus – za analize tragova; Fisher Chemical, SAD);
- H₃BO₃ (99,99 %, stupanj čistoće: za metale u tragovima, Acros Organics, Thermo Scientific, SAD);
- standardna otopina Cd, Cr, Cu, Pb, Zn, Fe, Mn, Ni, Hg (1000 ppm u dušičnoj kiselini; Fisher Chemical, SAD);
- deionizirana voda (Evoqua Water Technologies, SAD);
- argon (99,99 %) i acetilen (99,6 %);
- amonijev dihidrogenfosfat (NH₄H₂PO₄) (100 g/L, 99,99 %; ROTI®Star, Carl Roth GmbH + Co. KG, Njemačka);
- paladijev nitrat (Pd(NO₃)₂) (10,0 ± 0,2 g/L Pd u približno 16 % HNO₃; Sigma-Aldrich/Merck, Njemačka);
- magnezijev nitrat (Mg(NO₃)₂) (10,0 g/L ± 0,3 g/L Mg u približno 17 % HNO₃; Sigma-Aldrich Co., SAD);
- certificirani referentni materijali (CRM): NIST SRM 2976 (liofilizirano i homogenizirano tkivo dagnje, National Institute of Standards and Technology, SAD) i IAEA-433 (liofilizirani i usitnjeni uzorak morskog sedimenta, International Atomic Energy Agency, Monaco).

Instrumentalna i laboratorijska oprema:

- analitička vaga (PM 480; Mettler Toledo, Švicarska);
- sustav za pročišćavanje vode (Evoqua Water Technologies, SAD);
- sustav za mikrovalnu digestiju (Speedwave; Berghof, Njemačka);
- AAS s GFAAS i FAAS atomizatorom (PinAAcle 900T; PerkinElmer, SAD);
- DMA-80 evo (Milestone, Italija);
- volumetrijske tikvice i odmjerne posude;
- pipete volumena 100 µL – 1 mL, 0,5 – 5 mL, 1 – 10 mL (Eppendorf, Njemačka);
- plastične posudice volumena 50 mL i rukavice.

3.4.5. AAS uvjeti za analize metala

3.4.5.1. FAAS

Određivanje masenih udjela Fe, Mn i Zn provedeno je FAAS metodom na njihovim karakterističnim rezonantnim apsorpcijskim linijama, uz primjenu sljedećih valnih duljina (λ): Mn – 279,5 nm, Zn – 213,9 nm i Fe – 248,3 nm.

Za stvaranje plamena korištena je smjesa acetilena kao gorivoga plina i zraka kao oksidansa. Protok acetilena iznosio je 2,0 L/min, dok je protok zraka iznosio 17,0 L/min. Korekcija pozadinske apsorpcije provedena je Zeemanovom metodom, kojom se uklanja utjecaj apsorpcije i raspršenja svjetlosti koji ne potječu od analiziranog elementa.

3.4.5.2. GFAAS

Određivanje masenih udjela metala Pb, Cd, Ni, Cr i Cu provedeno je GFAAS metodom. Uzorci volumena 20 μ L automatski su uvedeni u grafitnu cijev pomoću automatskog uzorkivača. Program rada grafitne peći obuhvaćao je faze sušenja, pirolize, atomizacije i čišćenja uz primjenu argona kao inertnog plina. Za svaki analizirani metal optimizirani su temperatura i trajanje pojedinih faza programa grafitne peći:

- Pb, $\lambda = 283,3$ nm
 - sušenje: 110 °C, 30 s, protok plina 250 mL/min
 - piroliza: 850 °C, 20 s, protok plina 250 mL/min
 - atomizacija: 1600 °C, 5 s, bez protoka plina
 - čišćenje: 2450 °C, 3 s, protok plina 250 mL/min
- Cd, $\lambda = 228,8$ nm
 - sušenje: 110 °C, 30 s, protok plina 250 mL/min
 - piroliza: 500 °C, 20 s, protok plina 250 mL/min
 - atomizacija: 1500 °C, 5 s, bez protoka plina
 - čišćenje: 2450 °C, 3 s, protok plina 250 mL/min
- Ni, $\lambda = 232,0$ nm
 - sušenje: 110 °C, 30 s, protok plina 250 mL/min
 - piroliza: 1100 °C, 20 s, protok plina 250 mL/min

- atomizacija: 2300 °C, 5 s, bez protoka plina
- čišćenje: 2450 °C, 3 s, protok plina 250 mL/min
- Cr, $\lambda = 357,9$ nm
 - sušenje: 110 °C, 30 s, protok plina 250 mL/min
 - piroliza: 1500 °C, 20 s, protok plina 250 mL/min
 - atomizacija: 2300 °C, 5 s, bez protoka plina
 - čišćenje: 2450 °C, 3 s, protok plina 250 mL/min
- Cu, $\lambda = 324,8$ nm
 - sušenje: 110 °C, 30 s, protok plina 250 mL/min
 - piroliza: 1200 °C, 20 s, protok plina 250 mL/min
 - atomizacija: 2000 °C, 5 s, bez protoka plina
 - čišćenje: 2450 °C, 3 s, protok plina 250 mL/min

Za određivanje Cd primijenjen je matriks modifikator Pd + Mg(NO₃)₂, dok je za Pb korišten modifikator NH₄H₂PO₄ + Mg(NO₃)₂. Modifikator Pd + Mg(NO₃)₂ pripremljen je razrjeđivanjem 1,0 mL standardne otopine Pd (10 g/L) i 0,10 mL standardne otopine Mg (10 g/L) deioniziranom vodom do konačnog volumena od 10 mL. Modifikator NH₄H₂PO₄ + Mg(NO₃)₂ pripremljen je razrjeđivanjem 1,0 mL otopine NH₄H₂PO₄ (100 g/L) i 0,10 mL standardne otopine Mg (10 g/L) deioniziranom vodom do konačnog volumena od 10 mL. Primjenom matriks-modifikatora smanjen je utjecaj matriksa, poboljšana je stabilnost analita tijekom faze pirolize te su povećane točnost i ponovljivost određivanja.

3.4.5.3. DMA

Ukupni maseni udio Hg u uzorcima sedimenta i mekog tkiva školjkaša određen je pomoću uređaja DMA-80, koji omogućuje izravno određivanje ukupne Hg bez prethodne kemijske razgradnje uzorka. Uzorci su izvagani u kvarcne posudice ($\approx 0,3$ g za uzorke školjkaša te $\approx 0,1$ g za uzorke sedimenta), nakon čega su podvrgnuti ciklusima zagrijavanja i analize. Postupak analize traje približno 7 min po uzorku, a obuhvaćao je sljedeće faze:

- Sušenje – provedeno tijekom 90 s uz zagrijavanje do 200 °C, čime je uklonjena vlaga iz uzorka.

- Toplinska razgradnja – temperatura je tijekom 120 s povećana do 650 °C, nakon čega je održavana na 650 °C tijekom dodatnih 90 s radi razgradnje matrice uzorka i oslobađanja Hg.
- Katalitička oksidacija – plinoviti produkti toplinske razgradnje prenošeni su strujom kisika kroz katalizator zagrijan na 565 °C, pri čemu je dovršena oksidacija i smanjen utjecaj interferirajućih spojeva.
- Pročišćavanje sustava – provedeno tijekom 60 s radi uklanjanja zaostalih plinova i produkata razgradnje iz sustava.
- Amalgamacija i detekcija – Hg pare prenošene su strujom kisika visoke čistoće pri protoku od 120 mL/min do zlatnog amalgamatora, na kojem je Hg selektivno zadržan. Nakon amalgamacije, amalgamator je zagrijan na 900 °C tijekom 12 s, pri čemu su oslobođene pare Hg prenesene u optičku ćeliju i kvantificirane mjerenjem apsorbancije pri valnoj duljini od 253,7 nm.

3.4.6. Validacija analitičkog postupka

Kako bi se osigurale točnost, preciznost i pouzdanost određivanja metala u uzorcima mekog tkiva školjkaša i površinskog sedimenta, provedena je validacija analitičkog postupka unutar laboratorija uporabom odgovarajućih CRM-ova. Validacija je uključivala usporedbu izmjerenih i certificiranih vrijednosti te procjenu iskorištenja, relativne standardne devijacije (RSD), GD i granice kvantifikacije (GK). Preciznost metode atomske apsorpcijske spektrometrije procijenjena je određivanjem ponovljivosti mjerenja prema AOAC smjernicama. Prema navedenim smjernicama, u biološkim matricama prihvatljivima se smatraju RSD vrijednosti do 15 %, dok se pri određivanju analita u vrlo niskim koncentracijama, blizu GD, toleriraju i vrijednosti do 30 %. Dobivene vrijednosti RSD za sve analizirane metale bile su unutar granica prihvatljivosti.

Istinitost metode procijenjena je usporedbom izmjerenih i certificiranih vrijednosti u CRM-ovima. Dobivena iskorištenja iznosila su između 90 % i 110 %. Utjecaj mogućih interferencija smanjen je primjenom karakterističnih valnih duljina za svaki analizirani metal, odgovarajuće korekcije pozadinske apsorpcije te prema potrebi, matriks-modifikatora. Linearnost kalibracijskih pravaca potvrđena je za sve analizirane metale unutar definiranoga radnog područja. Koeficijenti determinacije (R^2) iznosili su $R^2 > 0,99$. Osjetljivost metode potvrđena je niskim vrijednostima GD

i GK. Dobivene vrijednosti GD i GK za školjkaše, izražene u mg/kg suhe mase, iznosile su: Cu 0,03 i 0,11; Cr 0,03 i 0,09; Pb 0,01 i 0,03; Zn 0,88 i 2,93; Mn 1,18 i 3,93; Fe 3,36 i 11,2; Cd 0,01 i 0,03 i Ni 0,022 i 0,07. Vrijednosti GD i GK za sediment, izražene u mg/kg suhe mase, iznosile su: Cd 0,01 i 0,03; Ni 0,15 i 0,50; Cu 0,10 i 0,32; Cr 0,39 i 1,29; Fe 13 i 44; Pb 0,13 i 0,43; Mn 3,21 i 10,68 te Zn 2,24 i 7,47.

3.4.7. Kalibracija i kvantifikacija

Kvantitativno određivanje metala u uzorcima provedeno je metodom vanjske kalibracije. Kalibracijske otopine pripremljene su serijskim razrjeđivanjem temeljnih standardnih otopina metala koncentracije 1000 mg/L. Za svaki metal konstruiran je kalibracijski pravac s četiri kalibracijske točke, pri čemu su kalibracijski rasponi definirani zasebno za uzorke školjkaša i uzorke sedimenta. Za uzorke školjkaša kalibracijski rasponi iznosili su: Cd 1 – 4 µg/L; Pb 10 – 40 µg/L; Cr 10 – 40 µg/L; Ni 20 – 80 µg/L; Cu 20 – 80 µg/L; Zn 0,50 – 2 mg/L; Mn 0,30 – 1,20 mg/L; Fe 3 – 12 mg/L. Za uzorke sedimenta kalibracijski rasponi iznosili su: Cd 0,50 – 2 µg/L; Pb 20 – 80 µg/L; Cr 10 – 40 µg/L; Ni 20 – 80 µg/L; Cu 20 – 80 µg/L; Zn 0,20 – 0,80 mg/L; Mn 0,40 – 1,60 mg/L; Fe 3 – 12 mg/L.

Slijepa proba pripremljena je i analizirana radi utvrđivanja mogućeg doprinosa reagensa i postupka pripreme uzorka izmjerenom signalu. Dobivene vrijednosti uzete su u obzir pri izračunu koncentracija metala u uzorcima. Na temelju izmjerenih vrijednosti apsorbancije standardnih otopina za svaki je metal konstruiran kalibracijski pravac primjenom linearnoga regresijskog modela. Koncentracije metala u analiziranim uzorcima određene su interpolacijom iz kalibracijskog pravca.

Maseni udio metala u uzorku izračunat je prema sljedećoj jednadžbi:

$$\gamma_u = \frac{\gamma_o * V * R}{m_u} \quad (5)$$

gdje su:

- γ_u – maseni udio metala u uzorku (mg/kg);
- γ_o – koncentracija metala u otopini nakon digestije (mg/L);

- V – konačni volumen otopine nakon digestije (L);
- R – razrjeđenje prije analize (bezdimenzionalno);
- m_u – masa uzorka korištena za analizu (kg suhe mase).

3.4.8. *Iskazivanje rezultata*

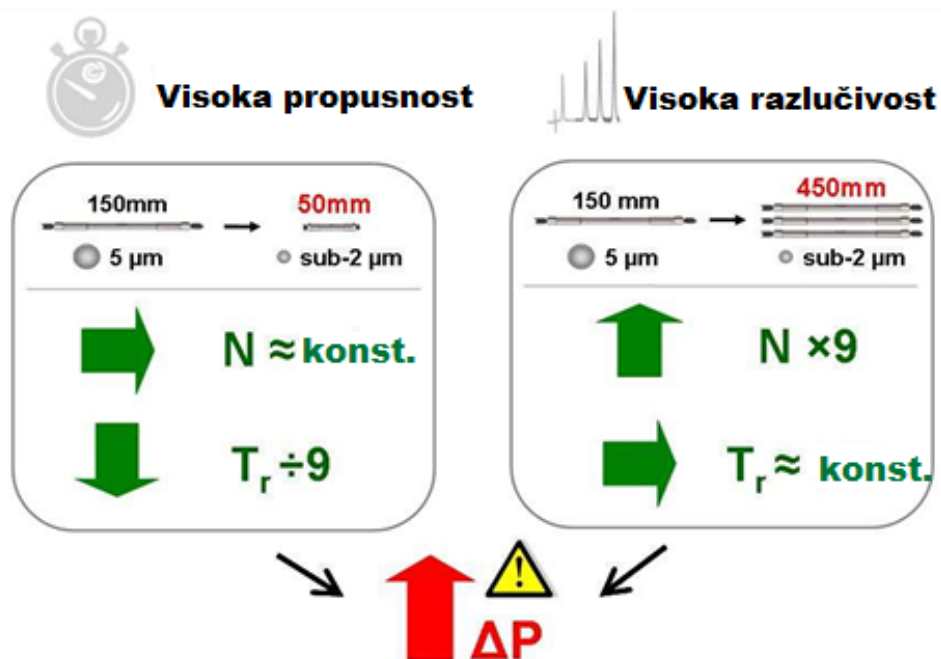
Rezultati analize metala u uzorcima sedimenta i školjkaša prikazani su kao maseni udjeli izražene u mg/kg suhe mase.

3.5. *Određivanje masenih udjela hidrofilnih i lipofilnih biotoksina u školjkašima*

Određivanje masenih udjela biotoksina u tkivu dagnji obuhvaća kvantitativnu analizu hidrofilnih i lipofilnih biotoksina te ASP toksina. Hidrofilni toksini određeni su metodom UHPLC-FLD, dok su lipofilni i ASP toksini kvantificirani metodom LC-MS/MS. Za kvalitativno određivanje analoga cikličkih imina primijenjena je metoda HRMS.

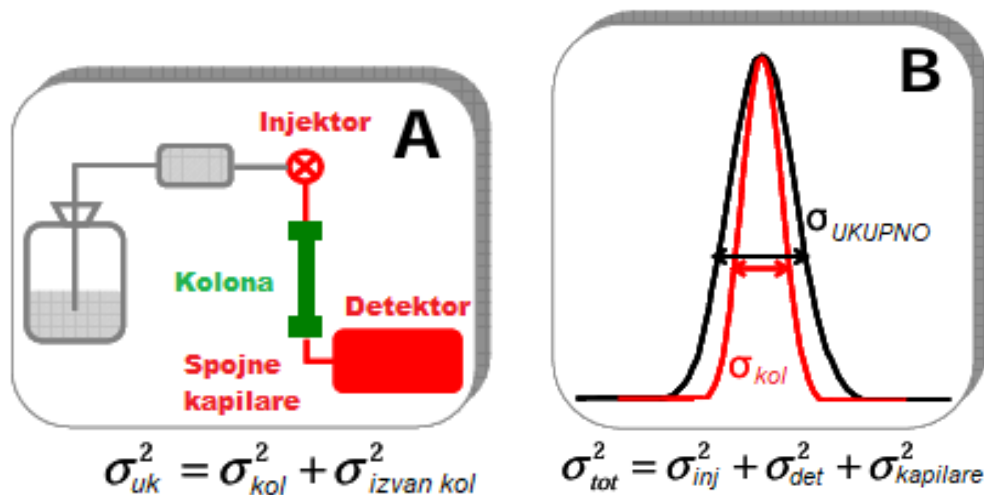
3.5.1. *Princip rada UHPLC*

Metoda UHPLC predstavlja tehnološki napredak klasične HPLC metode, kojom se omogućuje bolje razdvajanje analita i kraće vrijeme analize. Osnovna značajka UHPLC-a je primjena kromatografskih kolona punjenih česticama stacionarne faze vrlo malog promjera (najčešće < 2 μm). Smanjenjem veličine čestica smanjuje se udaljenost koju molekule analita moraju prijeći između mobilne i stacionarne faze, čime se poboljšava separacija, smanjuje širenje kromatografskih pikova i povećava broj teorijskih tavana (N) (slika 40) (De Vos i sur., 2021). Uži kromatografski pikovi pridonose povećanju osjetljivosti jer se pri istoj injektiranoj količini analita postiže viši omjer signal/šum, što olakšava pouzdanu identifikaciju i kvantifikaciju ciljanih spojeva (De Vos i sur., 2021). Smanjenje promjera čestica povećava hidraulički otpor protoku mobilne faze te dovodi do porasta tlaka (ΔP) zbog čega je za UHPLC analize nužna instrumentacija prilagođena radu pri povišenim tlakovima (slika 40).



Slika 40. Kolone punjene česticama promjera manjeg od 2 µm – učinak smanjenja promjera čestica stacionarne faze (5 µm → < 2 µm) na razdvajanje analita i vrijeme analize.

Sustavi UHPLC omogućuju rad pri tlakovima od 600 do 1300 bar, ovisno o konstrukciji instrumenta, dok HPLC sustavi uglavnom rade pri tlakovima do približno 400 bar (De Vos i sur., 2021). Dodatna prednost UHPLC-a je mogućnost primjene manjih volumena injektiranja uzorka. Primjena prevelikog volumena može dovesti do širenja kromatografskih pikova i smanjenja razlučivosti, osobito pri analizi složenih uzoraka i određivanju analita prisutnih u niskim koncentracijama (De Vos i sur., 2021). Na širinu kromatografskih pikova ne utječu samo procesi unutar kolone nego i dijelovi kromatografskog sustava kroz koje uzorak prolazi prije ulaska u kolonu i nakon izlaska iz nje. Dodatno širenje kromatografskog pika može nastati u injekcijskom sustavu, spojnim kapilarama, ventilima, spojevima i detektorskoj ćeliji zbog difuzije i disperzije analita te prisutnosti mrtvih volumena, što smanjuje učinkovitost razdvajanja analita (slika 41.) (De Vos i sur., 2021).



Slika 41. Širenje kromatografskog pika izvan kolone – doprinos injektora, spojnih kapilara i detektora ukupnom širenju pika. Na slici σ označava standardnu devijaciju, odnosno mjeru širine pika, a σ^2 varijancu (kvadrat širine pika). Ukupna varijanca pika (σ^2_{uk}) predstavlja zbroj varijance nastale u koloni (σ^2_{kol}) i varijance nastale izvan kolone ($\sigma^2_{izvan\ kol}$): $\sigma^2_{uk} = \sigma^2_{kol} + \sigma^2_{izvan\ kol}$. Širenje pika prikazano je kao zbroj doprinosa varijanci injektora (σ^2_{inj}), detektora (σ^2_{det}) i spojnih kapilara ($\sigma^2_{kapilare}$): $\sigma^2_{tot} = \sigma^2_{inj} + \sigma^2_{det} + \sigma^2_{kapilare}$. Crna krivulja prikazuje ukupni kromatografski pik (σ_{ukupno}), dok crvena krivulja prikazuje doprinos kolone širenju pika (σ_{kol}).

3.5.2. Hidrofilni toksini (PSP skupina)

Za određivanje masenih udjela hidrofilnih toksina iz PSP skupine primijenjena je UHPLC metoda s fluorescencijskom detekcijom (FLD) uz predkolonsku oksidaciju. Analitički postupak temeljen je na metodi AOAC Official Method 2005.06 i pripadajućem protokolu Referentnog laboratorija Europske unije za morske biotoksine (EU Reference Laboratory for Monitoring of Marine Biotoxins, 2020; AOAC International, 2019). Toksini PSP skupine izrazito su polarni i dobro topljivi u vodi te razrijeđenim kiselinama. U metodi s predkolonskom oksidacijom kromatografski se ne razdvajaju samo izvorni PSP analozi, nego njihovi oksidacijski produkti. Razdvajanje se provodi kromatografijom obrnute faze.

3.5.2.1. Priprema uzoraka

U polipropilensku epruvetu volumena 50 mL odvagano je $5,00 \pm 0,02$ g homogeniziranog mekog tkiva školjkaša, nakon čega je dodano 3 mL 1 %-tne otopine octene kiseline. Smjesa je

homogenizirana vrtložnim miješanjem tijekom 2 min pri najvišoj brzini, a zatim inkubirana 5 min u vodenoj kupelji na 100 °C te ohlađena na sobnu temperaturu. Nakon hlađenja smjesa je ponovno homogenizirana vrtložnim miješanjem tijekom 2 min i centrifugirana 10 min. Supernatant je dekantiran u epruvetu volumena 15 mL. Zaostali talog ponovno je ekstrahiran dodatkom 3 mL 1 %-tne otopine octene kiseline. Smjesa je ponovno homogenizirana vrtložnim miješanjem i centrifugirana. Dobiveni supernatant spojen je s prvim ekstraktom, a otopina je razrijeđena deioniziranom vodom do konačnog volumena od 10 mL. Radi provjere prirodne fluorescencije matriksa analiziran je i kontrolni ekstrakt bez oksidacije. Kako bi se zadržao jednak konačni volumen reakcijske smjese, reagensi koji sudjeluju u oksidacijskoj reakciji zamijenjeni su odgovarajućim volumenom deionizirane vode. U kontroli za peroksidnu oksidaciju dodano je 295 µL deionizirane vode, dok je u kontroli za perjodatnu oksidaciju dodano 505 µL deionizirane vode. Prije injektiranja u UHPLC-FLD sustav svi su ekstrakti filtrirani kroz najlonski membranski filter poroznosti 0,22 µm te preneseni u kromatografske vialice.

3.5.2.2. *Materijali i kemikalije*

Za analizu biotoksina korištene su isključivo kemikalije visoke čistoće. Upotrijebljene kemikalije uključuju:

- deionizirana voda (Evoqua Water Technologies, SAD);
- ACN, HPLC stupnja čistoće (J.T. Baker, SAD);
- MeOH, HPLC stupnja čistoće (J.T. Baker, SAD);
- glacijalna octena kiselina (J.T. Baker, SAD);
- amonij acetat (0,01 M) (Fisher Chemical, SAD);
- amonij formijat (0,10 M i 0,30 M) (Honeywell, Njemačka);
- natrij hidrogen fosfat (0,30 M) (Fluka Analytical, Švicarska);
- dinatrij hidrogen fosfat (0,30 M) (Thermo Scientific, SAD);
- H₂O₂ (10 % vodena otopina (aq)) (Supelco, SAD);
- natrij klorid (0,05 M i 0,30 M) (Fisher Chemical, SAD);
- natrij hidroksid (NaOH – 0,20 M i 1,00 M aq) (T.T.T., Hrvatska);
- perjodna kiselina (0,03 M) (Carlo Erba, Italija);

- kolonice za pročišćavanje na krutoj fazi, SPE C18 i SPE-COOH (CBA) (Bond Elut, Agilent Technologies, SAD).

Za potrebe kvantifikacije korišteni su pojedinačni certificirani referentni standardi (STX, dcSTX, NEO, dcNEO, GTX1,4, GTX2,3, dcGTX2,3, GTX5, C1,2), nabavljeni od Instituta za morske bioznanosti Nacionalnog istraživačkog vijeća (NRC), Halifax, Nova Scotia, Kanada, te iz laboratorija CIFGA S.A., Lugo, Španjolska.

Instrumentalna i laboratorijska oprema obuhvaćala je:

- 1290 Infinity II UHPLC sustav s FLD-om (Agilent Technologies, SAD);
- analitičku vagu (PM 480; Mettler Toledo, Švicarska);
- homogenizator (Waring, SAD);
- centrifugu (Rotina 420R; Andreas Hettich GmbH & Co. KG, Njemačka);
- vodenu kupelj (Mettler, Njemačka);
- vrtložnu miješalicu (SA8; Stuart, Ujedinjeno Kraljevstvo);
- pipete volumena 100 µL – 1 mL, 0,50 – 5 mL, 1 – 10 mL (Eppendorf, Njemačka);
- pH-metar (Metrohm, Švicarska);
- aparatura za vakum ekstrakciju na krutoj fazi (LabPort, Njemačka);
- volumetrijske tikvice i odmjerne posude;
- plastične posudice volumena 50 mL i jednokratne rukavice.

3.5.2.3. *Uvjeti rada UHPLC metode*

Za analizu toksina iz PSP skupine korištena je kolona Supelcosil LC-18 (150 × 4,6 mm, 5 µm; Supelco, SAD) pri temperaturi 30 °C. Kromatografsko razdvajanje provedeno je u skladu s postupkom HPLC-FLD metode s predkolonskom oksidacijom (EU Reference Laboratory for Monitoring of Marine Biotoxins, 2020; AOAC Official Method 2005.06 – Standard Operating Procedure, 2019), uz primjenu puferirane mobilne faze na bazi amonijeva formijata. Mobilna faza sastojala se od 0,10 M amonijevog formijata (pH 6 podešen 0,10 M octenom kiselinom) te 0,10 M amonijevog formijata u 5 % ACN-u (pH 6 podešen 0,10 M octenom kiselinom). Analize su provedene pri protoku 1,50 mL/min u gradijentnom načinu eluiranja: 0 – 5 min 0 – 5 % B; 5 – 9 min 5 – 70 % B; 9 – 11 min povratak na 5 % B; 11 – 12,50 min 0 % B; 12,50 – 15 min održavanje

na 0 % B. Ukupno trajanje metode iznosilo je 15 min. Detekcija je provedena FLD-om pri valnim duljinama pobude i emisije $\lambda_{ex} = 340$ nm i $\lambda_{em} = 390$ nm. Volumen injektiranja iznosio je 40 μ L za uzorke nakon perjodne i peroksidne oksidacije.

3.5.2.4. Validacija analitičkog postupka

Preciznost metode za određivanje biotoksina iz PSP skupine (STX, NEO, dcSTX, GTX1,4, GTX2,3, dcGTX2,3, GTX5, C1,2, dcNEO) procijenjena je na temelju ponovljivosti i obnovljivosti. Dobivene RSD vrijednosti za sve analizirane toksine bile su niže od 15 %, čime su zadovoljeni unaprijed definirani kriteriji prihvatljivosti. Istinitost metode procijenjena je usporedbom izmjerenih vrijednosti s certificiranim vrijednostima CRM-ova te s dodijeljenim vrijednostima uzoraka analiziranih u sklopu međulaboratorijskih ispitivanja sposobnosti (engl. *proficiency test*, PT). Dobivena iskorištenja analiziranih toksina iznosila su između 80 % i 120 % te su bila unutar utvrđenih granica prihvatljivosti. Linearnost kalibracijskih pravaca potvrđena je za sve analizirane toksine u ispitivanom koncentracijskom području ($R^2 \geq 0,98$).

Za PSP toksine vrijednosti GD i GK iznosile su: dcGTX2,3 – GD 1,06 μ g/kg i GK 12,86 μ g/kg; dcSTX – GD 1,91 μ g/kg i GK 6,08 μ g/kg; GTX2,3 – GD 2,14 μ g/kg i GK 6,83 μ g/kg; GTX5 – GD 0,39 μ g/kg i GK 1,24 μ g/kg; STX – GD 1,07 μ g/kg i GK 3,41 μ g/kg; C1,2 – GD 4,22 μ g/kg i GK 13,42 μ g/kg; GTX1,4 – GD 6,81 μ g/kg i GK 21,69 μ g/kg; NEO – GD 1,78 μ g/kg i GK 11,31 μ g/kg te dcNEO – GD 2,09 μ g/kg i GK 6,65 μ g/kg.

3.5.2.5. Kalibracija i kvantifikacija

Kvantifikacija PSP toksina provedena je metodom vanjske kalibracije, pri čemu su korištene certificirane standardne otopine. Radne standardne otopine pripravljene su serijskim razrjeđivanjem odgovarajućih osnovnih standardnih otopina deioniziranom vodom. Kalibracijsko područje obuhvaćalo je koncentracije od 0,01 do 0,60 μ g/mL za C1,2; od 0,01 do 0,50 μ g/mL za dcGTX2,3 i GTX5; od 0,03 do 0,80 μ g/mL za dcNEO; od 0,01 do 0,20 μ g/mL za dcSTX; od 0,02 do 0,60 μ g/mL za GTX1,4; od 0,01 do 0,30 μ g/mL za GTX2,3; od 0,002 do 0,90 μ g/mL za NEO te od 0,01 do 0,30 μ g/mL za STX. Za svaki toksin izrađen je kalibracijski pravac na temelju šest kalibracijskih točaka unutar navedenog radnog raspona.

Maseni udio (w) pojedinog toksina u ekstraktu izračunat je prema jednadžbi:

$$w \text{ (toksina)} = \frac{(y-b)}{a} * \frac{V_r}{m} * D \quad (6)$$

gdje je y površina kromatografskog pika, b odsječak na y os, a nagib kalibracijskog pravca, V_r ukupni volumen ekstrakta, m masa uzorka, a D faktor razrjeđenja (ukoliko je ekstrakt bio razrijeđen).

3.5.2.6. *Iskazivanje rezultata*

Rezultati kvantifikacije toksina iz PSP skupine iskazani su kao $\mu\text{g STX}\cdot\text{2HCl}$ ekvivalenata/kg mokre mase tkiva školjkaša. Maseni udio pojedinog toksina, izražen kao ekvivalent $\text{STX}\cdot\text{2HCl}$, izračunan je uzimajući u obzir koncentraciju toksina u ekstraktu, ukupni volumen ekstrakta, masu analiziranog uzorka, faktor razrjeđenja, faktor ekvivalentne toksičnosti i molarnu masu $\text{STX}\cdot\text{2HCl}$:

$$W_i = \frac{(C_i * V_r * D * TEF_i * M_r(\text{STX}\cdot\text{2HCl}))}{m} \quad (7)$$

gdje su:

w_i – maseni udio pojedinog toksina izražen kao $\mu\text{g STX}\cdot\text{2HCl}$ ekvivalenata/kg mokre mase;

C_i – koncentracija pojedinog toksina u ekstraktu ($\mu\text{mol/L}$);

V_r – ukupni volumen ekstrakta (L);

D – faktor razrjeđenja ekstrakta;

TEF_i – faktor ekvivalentne toksičnosti pojedinog toksina;

$M_r(\text{STX}\cdot\text{2HCl})$ – molarna masa $\text{STX}\cdot\text{2HCl}$ ($372,20 \mu\text{g}/\mu\text{mol}$);

m – masa analiziranog uzorka (kg mokre mase).

Ukupna toksičnost toksina iz PSP skupine izračunana je zbrajanjem masenih udjela pojedinačnih toksina izraženih kao ekvivalenti $\text{STX}\cdot\text{2HCl}$:

$$\Sigma\text{PSP} (\mu\text{g STX} \cdot \text{2HCl ekvivalenata/kg}) = \Sigma (w_i) \quad (8)$$

gdje je C_i maseni udio pojedinog analoga ($\mu\text{g/kg}$), a TEF_i faktor ekvivalentne toksičnosti.

Vrijednosti TEF (tablica 4) preuzete su iz znanstvenog mišljenja Europske agencije za sigurnost hrane (EFSA, 2009). Budući da epimerni parovi GTX1,4, GTX2,3, dcGTX2,3 i C1,2 nakon oksidacije daju iste produkte i određuju se zajedno, za izračun ukupne toksičnosti primijenjen je viši TEF pojedinog epimera unutar para.

Tablica 4. Vrijednosti TEF za glavne analoge PSP toksina.

Skupina biotoksina	Toksin	TEF
STX	STX	1,0
	NEO	1,0
	dcSTX	1,0
	dcNEO	0,4
	GTX1,4	1,0
	GTX2,3	0,6
	dcGTX2,3	0,4
	GTX5	0,1
	C1,2	0,1

3.5.3. Lipofilni biotoksini i ASP skupina

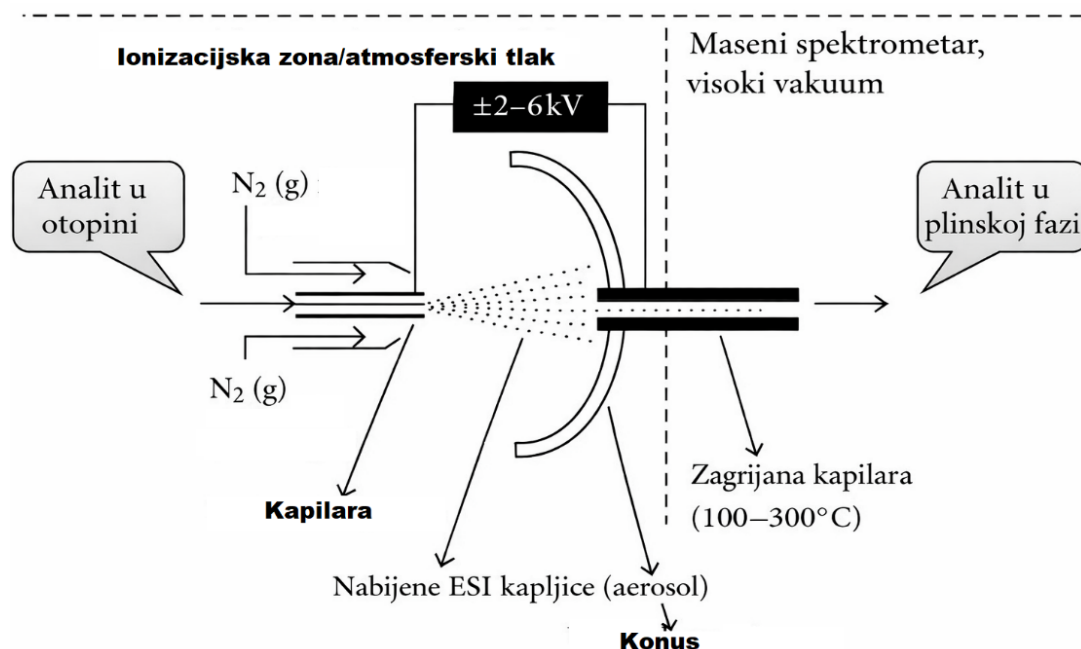
Analiza lipofilnih morskih biotoksina u jestivom mekom tkivu dagnji provedena je validiranom UHPLC-MS/MS metodom, utemeljenom na službenom protokolu EU-a za određivanje lipofilnih morskih biotoksina u školjkašima (EU-Harmonised SOP for Determination of Lipophilic Marine Biotoxins in Molluscs by LC-MS/MS, 2015). Domoična kiselina, koja pripada skupini ASP toksina, također je određena validiranom UHPLC-MS/MS metodom. Za naprednu karakterizaciju i otkrivanje potencijalno novih analoga cikličkih imina primijenjena je metoda UHPLC-QTOF.

3.5.3.1. Princip rada UHPLC-MS/MS i UHPLC-QTOF

Spektrometrija masa analitička je metoda koja omogućuje detekciju, identifikaciju i kvantifikaciju širokog spektra spojeva na temelju razdvajanja iona u plinskoj fazi prema omjeru mase i naboja (m/z). Dobiveni maseni spektar prikazuje raspodjelu iona prema njihovim m/z omjerima i intenzitetu signala, čime se dobivaju informacije o molekulskoj masi, fragmentaciji i relativnoj zastupljenosti iona. Uređaji visoke rezolucije omogućuju vrlo precizno određivanje mase iona uz

masenu točnost reda nekoliko ppm, što omogućuje određivanje elementarnog sastava i razlikovanje spojeva s vrlo sličnim nominalnim masama (De Hoffmann i Stroobant, 2007; Gross, 2017). Zbog toga su HRMS sustavi prikladni za karakterizaciju nepoznatih ili novih analoga. Dodatna prednost ovih sustava je mogućnost provedbe neciljane analize, koja omogućuje naknadno pretraživanje već prikupljenih podataka u slučaju pojave novih analoga od interesa (García-Juan i sur., 2025; Otero i Silva, 2022; Zendong i sur., 2015).

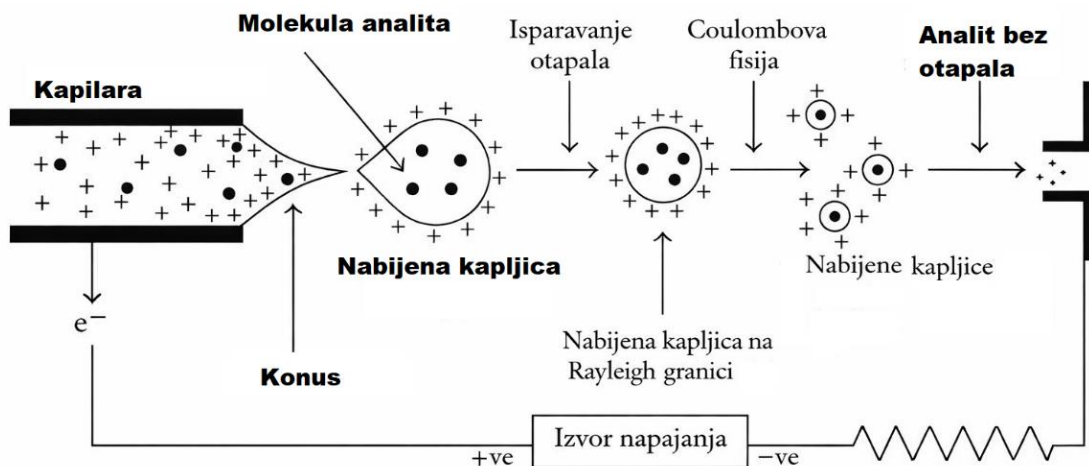
U analizi morskih biotoksina analiti se razdvajaju na UHPLC koloni, a zatim se uvode u maseni spektrometar. U metodama UHPLC-MS/MS i UHPLC-QTOF ionizacija se provodi elektroraspršenjem (ESI) pri atmosferskom tlaku u pozitivnom ili negativnom načinu rada, ovisno o kemijskim svojstvima analita (Holčapek i sur., 2012; Niessen, 2006;). Tijekom ESI ionizacije otopina uzorka dovodi se u kapilaru, pri čemu se na vrhu raspršivača u prisutnosti električnog polja i strujanja dušika formira aerosol nabijenih kapljica. Nastale kapljice prolaze kroz zonu desolvatacije, a ioni se dalje prenose kroz ulazni konus i zagrijanu kapilaru iz područja atmosferskog tlaka prema području vakuuma masenog spektrometra (slika 42).



Slika 42. Shematski prikaz ESI izvora ionizacije pri atmosferskom tlaku. Preuzeto i prilagođeno prema Banerjee i Mazumdar (2012).

Nastanak iona odvija se postupnim smanjenjem volumena kapljica zbog isparavanja otapala, pri čemu se povećava gustoća naboja do Rayleighove granice. Nakon toga dolazi do Coulombove

fisije i stvaranja manjih sekundarnih kapljica. Ponavljanjem navedenih procesa u završnoj fazi nastaju ioni koji ne sadrže molekule otapala (slika 43).



Slika 43. Mehanizam stvaranja iona ESI ionizacijom. Preuzeto i prilagođeno prema Banerjee i Mazumdar (2012).

Sustav UHPLC-MS/MS temelji se na tandemskoj analizi masa pomoću trostrukog kvadrupola (QQQ). U prvom kvadrupolu selektira se prekursor ion, u kolizijskoj ćeliji dolazi do njegove fragmentacije, a treći kvadrupol detektira odabrane produkt ione. Kvantifikacija se provodi u načinu praćenja višestrukih reakcija (engl. *multiple reaction monitoring*, MRM), kojim se selektivno prate prijelazi odabranih prekursor i produkt iona (D'Amore i sur., 2022; Holčapek i sur., 2012). Za razliku od QQQ pristupa usmjerenog na ciljanu kvantifikaciju, UHPLC-QTOF kombinira kvadrupol s TOF analizatorom, pri čemu se m/z omjeri određuju na temelju vremena leta iona.

3.5.3.2. Priprema uzoraka

Ekstrakcija lipofilnih morskih biotoksina i DK provedena je iz $2,00 \pm 0,05$ g mokrog, prethodno homogeniziranog mekog tkiva dagnji. Homogenat je prenesen u epruvete volumena 50 mL te je dodano 9 mL MeOH-a. Uzorci su homogenizirani vrtložnim miješanjem tijekom 2 min pri najvećoj brzini, a zatim centrifugirani 10 min pri 4500 okretaja u minuti (o./min.). Dobiveni supernatant dekantiran je u novu epruvetu, dok je preostali talog ponovno ekstrahiran s dodatnih 9 mL MeOH-a uz iste uvjete homogenizacije i centrifugiranja. Nakon spajanja supernatana volumen ekstrakta podešen je na 20 mL dodatkom MeOH-a. Prije injektiranja u LC-MS/MS i UHPLC-QTOF sustav

ekstrakti su filtrirani kroz najlonski membranski filter poroznosti 0,22 μm u kromatografske vialice.

Za određivanje ukupnog masenog udjela toksina OA/DTX skupine dio osnovnog metanolskog ekstrakta podvrgnut je alkalnoj hidrolizi. U tu svrhu 2,50 mL ekstrakta preneseno je u epruvete volumena 15 mL te je dodano 313 μL otopine NaOH koncentracije 2,50 mol/L. Nakon kratkog vrtložnog miješanja uzorci su inkubirani u vodenoj kupelji pri 76 °C tijekom 40 min. Nakon hlađenja na sobnu temperaturu uzorci su neutralizirani dodatkom 313 μL otopine HCl koncentracije 2,50 mol/L, ponovno homogenizirani te filtrirani kroz najlonski membranski filter veličine pora 0,22 μm . Alkalnom hidrolizom acilirani esteri OA, DTX1 i DTX2 prevode se u slobodne oblike, čime se omogućuje određivanje ukupnog sadržaja toksina OA/DTX skupine u uzorku.

3.5.3.3. *Materijali i kemikalije*

Za analizu lipofilnih biotoksina korištene su isključivo kemikalije visoke čistoće. Upotrijebljene kemikalije su:

- deionizirana voda (Evoqua Water Technologies, SAD);
- ACN, LC-MS stupanj čistoće (J.T. Baker, SAD);
- MeOH, LC-MS stupanj čistoće (J.T. Baker, SAD);
- HCl (37 % – 38 %) (J.T. Baker, SAD);
- NaOH (Merck Milipore, Njemačka);
- otopina amonijaka, LC-MS stupanj čistoće (Honeywell, Njemačka);
- pojedinačne certificirane referentne standarde (NRC, Institute for Marine Biosciences, Halifax, Nova Scotia, Kanada);
- certificirani referentni materijal CRM-FDMT1 (NRC, Institute for Marine Biosciences, Halifax, Nova Scotia, Kanada).

Instrumentalna i laboratorijska oprema:

- analitička vaga (PM 480; Mettler Toledo, Švicarska);
- homogenizator (Waring, SAD);
- centrifuga (Rotina 420R; Andreas Hettich GmbH & Co. KG, Njemačka);

- vodena kupelj (Mettler, Njemačka);
- vrtložna miješalica (SA8; Stuart, Ujedinjeno Kraljevstvo);
- pipete volumena 100 μ L – 1 mL, 0,50 – 5 mL, 1 – 10 mL (Eppendorf, Njemačka);
- volumetrijske tikvice i odmjerne posude;
- epruvete volumena 50 mL te jednokratne rukavice;
- UHPLC sustav (ACQUITY UPLC H-Class; Waters, SAD) spregnut s trostrukim kvadrupolom (Xevo TQ-XS; Waters, SAD), opremljenim ESI izvorom;
- UHPLC sustav (ExionLC AD; SCIEX, SAD) spregnut s masenim spektrometrom visoke rezolucije (TripleTOF 6600+; SCIEX, SAD).

3.5.3.4. *Uvjeti rada LC-MS/MS metode*

Odvajanje lipofilnih biotoksina i DK provedeno je na instrumentu Xevo TQ-XS (Waters, SAD) spregnutom s UHPLC sustavom ACQUITY UPLC I-Class (Waters, SAD). Kromatografsko odvajanje izvedeno je na koloni ACQUITY UPLC BEH C18 (50 mm \times 2,1 mm; 1,7 μ m). Za odvajanje lipofilnih biotoksina mobilna faza A sadržavala je vodu s dodatkom 17,65 mM amonij hidroksida, dok je mobilna faza B sadržavala 90 % ACN i 10 % vode, uz isti dodatak amonij hidroksida. Primijenjen je linearni gradijent eluiranja: 0 min 99 % A – 1 % B; 1,50 min 99 % A – 1 % B; 4,50 min 5 % A – 95 % B; 6 min 5 % A – 95 % B; 6,50 min 99 % A – 1 % B; 8 min 99 % A – 1 % B. Protok mobilne faze je 0,60 mL/min, volumen injektiranja 1 μ L, a temperatura kolone održavana je na 40 °C.

Za odvajanje DK mobilna faza A sadržavala je vodu s dodatkom 0,10 % mravlje kiseline, dok je mobilna faza B sadržavala ACN s dodatkom 0,10 % mravlje kiseline. Primijenjen je linearni gradijent eluiranja: 0 min, 99 % A – 1 % B; 0,50 min, 99 % A – 1 % B; 7 min, 5 % A – 95 % B; 7,50 min, 5 % A – 95 % B; 8 min, 99 % A – 1 % B; 8,50 min, 99 % A – 1 % B. Protok mobilne faze iznosio je 0,60 mL/min.

MS/MS uvjeti

Prije analize uzoraka optimizirani su parametri masene spektrometrije primjenom pojedinačnih certificiranih referentnih standarda biotoksina, radi postizanja optimalne osjetljivosti i selektivnosti. Za svaki analit odabrani su prekursor ion, pripadajući produkt ioni, energija kolizije

te kromatografsko vrijeme zadržavanja analita. Za analite za koje pojedinačni referentni standardi nisu bili raspoloživi (PTX1 i 45-OH-homo-YTX) identifikacija je provedena na temelju očekivanoga relativnog vremena zadržavanja (RRT) u odnosu na referentni standard odgovarajuće skupine toksina. Prihvatljivo odstupanje RRT-a iznosilo je $\pm 2,5$ %. Koncentracije navedenih analita određene su primjenom kalibracijskih krivulja strukturno srodnih toksina. Toksin PTX1 kvantificiran je prema kalibracijskoj krivulji za PTX2, dok je 45-OH-homo-YTX kvantificirani prema kalibracijskoj krivulji za YTX, uz pretpostavku jednakoga molarnog odziva.

Ionizacija toksina OA i YTX skupine provedena je u negativnom načinu rada, ESI-, dok je za toksine SPX, GYM, PTX i AZA skupine te za DK primijenjen pozitivan način rada, ESI+. Prekursor ioni te produkt ioni praćeni su u MRM načinu snimanja. Za svaki analit praćena su tri prijelaza: najintenzivniji prijelaz korišten je za kvantifikaciju, dok su preostala dva prijelaza korištena za potvrdu identiteta analita. Omjer signal-šum za kvantifikacijski prijelaz iznosio je najmanje 10 : 1, a za kvalifikacijske prijelaze najmanje 3 : 1. Uvjeti masene spektrometrije prikazani su u tablici 5, dok su MRM prijelazi i pripadajuće energije kolizije za analizirane biotoksine prikazani u tablici 6.

Tablica 5. Parametri masenog spektrometra za određivanje lipofilnih toksina i DK.

Napon kapilare, kV (<i>eng. capillary voltage</i>)	Temperatura otparavanja, °C (<i>engl. desolvation temperature</i>)	Temperatura izvora, °C (<i>eng. cone gas</i>)	Protok plina za otparavanje, L/hour (<i>eng. desolvation gas</i>)	Protok plina, L/hour (<i>eng. cone gas</i>)	Tlak plina nosača, bar (<i>eng. nebulizer gas pressure</i>)
1,5 za ESI+	600	150	1000	150	6,50
2,0 za ESI-					

Tablica 6. Parametri fragmentacije u MRM načinu rada.

Spoj	ESI	Prekursor ion	Fragmenti	Napon konusa (V)	Energija kolizije (V)
OA/DTX2	–	803,50	255,20 (kvantifikacija)	80	45
	–	803,50	113,10	80	60
DTX1	–	817,50	255,20 (kvantifikacija)	70	45
	–	817,50	113,10	70	60
YTX	–	570,40	467,40 (kvantifikacija)	75	30
	–	570,40	396,40	75	30
Homo-YTX	–	577,40	403,40 (kvantifikacija)	75	30
	–	577,40	474,40	75	30
45-OH-YTX	–	578,40	467,40 (kvantifikacija)	75	30
	–	578,40	396,40	75	30
PTX2	+	876,36	823,44 (kvantifikacija)	31	24
	+	876,36	805,45	31	26
AZA1	+	842,50	824,50 (kvantifikacija)	35	35
	+	842,50	362,30	35	35
AZA2	+	856,50	838,50 (kvantifikacija)	35	35
	+	856,50	362,30	35	35
AZA3	+	828,50	658,40 (kvantifikacija)	35	35
	+	828,50	362,30	35	35
SPX 1	+	692,50	164,20 (kvantifikacija)	60	45
	+	692,50	444,30	60	45
GYMA	+	508,20	490,20 (kvantifikacija)	60	35
	+	508,20	162,20	60	45
DK	+	312,10	266,05 (kvantifikacija)	10	15
	+	312,10	133,10	10	30

Za 45-OH-homo-YTX primijenjeni su MS/MS parametri fragmentacije preuzeti iz validirane metode *UPLC/MS/MS Method for the Routine Quantification of Regulated and Non-Regulated Lipophilic Marine Biotoxins in Shellfish* (Gerssen i sur., 2013). Primijenjeni parametri prikazani su u tablici 7.

Tablica 7. Parametri fragmentacije za toksin 45-OH-Homo-YTX.

Spoj	ESI	Prekursor ion	Fragmenti	Napon konusa (V)	Energija kolizije (V)
45-OH-Homo-YTX	–	585,40	474,40 (kvantifikacija)	75	30
45-OH-Homo-YTX	–	585,40	403,40	75	30

3.5.3.5. Uvjeti rada UHPLC-QTOF metode

Detekcija i karakterizacija cikličkih imina provedena je UHPLC-HRMS metodom na sustavu ExionLC AD (SCIEX, Framingham, MA, SAD) spregnutom sa spektrometrom masa TripleTOF 6600+ (SCIEX, SAD) s ESI izvorom. Kromatografsko odvajanje provedeno je na koloni Kinetex C18 (100 × 2,1 mm; 2,6 μm; Phenomenex). Prije analize uzoraka provedena je optimizacija MS i MS/MS parametara primjenom pojedinačnih certificiranih referentnih standarda. Za svaki spoj definirani su prekursor i produkt ioni, optimalne energije kolizije i vremena zadržavanja. Odabrani parametri prikazani su u tablici 8.

Mobilna faza A sastojala se od vode, dok je mobilna faza B sadržavala ACN i vodu u volumnom omjeru 95 : 5. Obje mobilne faze sadržavale su 50 mM mravlje kiseline i 2 mM amonijeva formijata. Primijenjen je gradijent eluiranja: 0 min, 90 % A – 10 % B; 6 min, 20 % A – 80 % B; 11 min, 20 % A – 80 % B; 12 min, 90 % A – 10 % B; 15 min 90 % A – 10 % B. Protok mobilne faze iznosio je 0,30 mL/min, volumen injektiranja 5 μL, a temperatura kolone održavana je na 30 °C. Analiza cikličkih imina provedena je u pozitivnom načinu rada, ESI+ uz primjenu MRM^{HR} načina snimanja (engl. *high-resolution multiple reaction monitoring*). Temperatura izvora iznosila je 400 °C, protok plina za raspršivanje 35, a protok plina za desolvaciju 25 arbitrarnih jedinica.

Tablica 8. Prekursor i produkt ioni (m/z) za analizirane cikličke imine.

Spoj	Prekursor ion (m/z)	Produkt ioni (m/z)
GYM A; GYM B	508,30	162,10; 136,10
12-metil GYM A	522,40	162,10; 136,10
12- metil GYM B	538,40	162,10; 136,10
16-desmetil GYM D	510,30	162,10; 136,10
GYM C	524,30	162,10; 136,10
GYM E	526,30	162,10; 136,10
SPX H	650,50	384,30; 164,10
SPX I	652,50	384,30; 164,10
13,19-didesmetil SPX C	678,50	430,30; 164,10
SPX A	692,50	444,30; 150,10
SPX 1; iso-SPX 1	692,50	444,30; 164,10
SPX G	692,50	378,30; 164,10
SPX B	694,50	444,30; 150,10
13-desmetil SPX D	694,50	444,30; 164,10
27-hidroksi-13,19-didesmetil SPX C	694,50	446,30; 164,10
PnTX G	694,50	440,30; 164,10
SPX C	706,50	440,30; 164,10
20-metil SPX G	706,50	392,30; 164,10
SPX D	708,50	440,30; 164,10
27-hidroksi-13-desmetil SPX C	708,50	442,30; 180,10
PnTX H	708,50	690,40; 164,20
PnTX A	712,50	440,30; 164,10
PnTX B, C	741,50	458,30; 164,10
PnTX F	766,50	446,30; 164,10
PnTX D	782,50	446,30; 164,10
PnTX E	784,50	446,30; 164,10

3.5.3.6. *Validacija analitičkog postupka*

Preciznost metode procijenjena je ispitivanjem ponovljivosti i obnovljivosti primjenom CRM-a i PT uzoraka Europskog referentnog laboratorija za morske biotoksine. Dobivene RSD vrijednosti nisu prelazile 15 % (AOAC International, 2016). Istitost metode procijenjena je usporedbom izmjerenih koncentracija s certificiranim vrijednostima CRM-FDMT1, dodijeljenim vrijednostima PT uzoraka te rezultatima analize obogaćenih uzoraka. Iskorištenja u rasponu od 90 % do 110 % potvrdila su zadovoljavajuću istinitost metode. Granice detekcije i GK procijenjene su na temelju omjera signala i šuma. Omjer signala i šuma bio je veći od 3 : 1 za GD te veći od 10 : 1 za GK. Linearnost kalibracijskih pravaca potvrđena je za sve analite vrijednostima koeficijenta determinacije $R^2 > 0,99$.

Za analizirane lipofilne toksine GD bile su niže od 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, dok su vrijednosti GK uglavnom bile niže od 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Za AZA1 GD i GK iznosile su 0,55 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i 1,68 $\mu\text{g}/\text{kg}$, za AZA 2 0,45 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i 1,37 $\mu\text{g}/\text{kg}$, za AZA3 2,63 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i 7,97 $\mu\text{g}/\text{kg}$, za OA 2,51 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i 7,60 $\mu\text{g}/\text{kg}$, za PTX2 0,43 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i 1,32 $\mu\text{g}/\text{kg}$, za DTX1 0,98 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i 2,98 $\mu\text{g}/\text{kg}$, za DTX2 2,31 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i 7,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$, za SPX 1 0,11 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i 0,33 $\mu\text{g}/\text{kg}$, za GYMA 0,09 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i 0,29 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Vrijednosti GD i GK za YTX i njegove analoge kretale su se u rasponu od 2,90 $\mu\text{g}/\text{kg}$ do 3,30 $\mu\text{g}/\text{kg}$, odnosno od 8,80 $\mu\text{g}/\text{kg}$ do 10,10 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Za DA vrijednosti GD i GK iznosile su 0,25 mg/kg i 0,75 mg/kg.

3.5.3.7. *Kalibracija i kvantifikacija*

Kvantifikacija pojedinih biotoksina provedena je metodom eksterne kalibracije. Koncentracije analita izračunate su iz linearnih regresijskih jednadžbi pripadajućih kalibracijskih pravaca. Kako bi se umanjio utjecaj matrice, kalibracijske otopine pripravljene su razrjeđivanjem CRM-FDMT1 MeOH-om. Budući da CRM-FDMT1 nije sadržavao odgovarajuće koncentracije svih ciljanih analita, kalibracijske otopine dodatno su obogaćene standardnim otopinama GYM A i homo-YTX-a. Konačni volumen svake kalibracijske otopine iznosio je 0,80 mL. Za svaki je toksin izrađen kalibracijski pravac sa šest koncentracijskih razina (tablica 9).

Tablica 9. Masene koncentracije standardnih otopina.

Analit	Koncentracije (ng/mL)					
OA	1,00	2,00	4,00	6,00	12,00	24,00
AZA1	2,50	5,00	10,00	20,00	30,00	60,00
AZA2	0,70	1,40	2,80	5,60	8,30	16,60
AZA3	1,20	1,80	2,40	4,80	7,10	14,20
PTX2	0,40	0,80	1,60	3,20	5,00	10,00
SPX 1	1,70	3,40	6,80	13,60	20,00	40,00
DTX1	0,40	0,80	1,60	3,20	5,00	10,00
DTX2	2,20	4,40	8,80	17,60	26,30	52,60
YTX	1,53	3,10	6,20	12,40	18,30	36,60
Homo-YTX	2,00	4,00	6,00	12,00	20,00	40,00
45-OH-YTX	0,28	0,57	1,13	2,26	4,52	9,05
GYMA	2,00	4,00	6,00	12,00	20,00	40,00
DK	77,20	154,40	308,80	617,60	926,80	1853,60

Ukoliko je intenzitet signala analita u uzorku bio viši od intenziteta signala najviše kalibracijske razine, ekstrakt je razrijeđen MeOH-om. Pri izračunu masenog udjela u obzir je uzet odgovarajući faktor razrjeđenja (D). Za biotoksine određene izravno iz osnovnoga metanolskog ekstrakta maseni udio pojedinačnog analita u uzorku izračunat je prema jednadžbi:

$$w \text{ (toksina)} = \frac{(y-b)}{a} * \frac{V_F(\text{mL})}{V_H(\text{mL})} * \frac{V_r(\text{mL})}{m \text{ (g)}} * D \quad (9)$$

gdje y – površina kromatografskog pika; b – odsječak na y osi; a – nagib kalibracijskog pravca, V_r – ukupni volumen metanolskog ekstrakta (20 mL), V_H – volumen metanolskog ekstrakta koji se koristi za hidrolizu (15 mL), V_F – konačni volumen metanolskog ekstrakta nakon hidrolize, m – masa uzorka i D – faktor razrjeđenja (ukoliko je ekstrakt bio razrijeđen).

Za biotoksine za koje na tržištu nisu dostupne certificirane standardne otopine, jednadžba (9) korigira se množenjem s omjerom relativnih molekulskih masa (M_r) ispitivanog biotoksina i odgovarajućeg biotoksina za koji postoji certificirana standardna otopina. Pri izračunu je pretpostavljen jednak molarni odziv analita i odgovarajućega referentnog toksina. Dobivena koncentracija korigirana je množenjem s omjerom njihovih relativnih molekulskih masa:

$$w(\text{analita})=w(\text{referentnog toksina})*\frac{M_r(\text{analita})}{M_r(\text{referentnog toksina})} \quad (10)$$

3.5.3.8. *Iskazivanje rezultata*

Rezultati kvantifikacije lipofilnih morskih biotoksina izraženi su kao µg ili mg ekvivalenata odgovarajuće skupine toksina po kilogramu mokre mase školjkaša. Za skupine koje uključuju više analoga ukupni maseni udio izračunat je kao zbroj masenih udjela pojedinačnih analoga ponderiranih pripadajućim TEF faktorima. Rezultati kvantifikacije DK izraženi su kao mg DA/kg mokre mase. Primijenjene vrijednosti TEF-a za lipofilne morske biotoksine prikazane su u tablici 10. (EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain, 2009).

Tablica 10. Vrijednosti TEF za lipofilne morske biotoksine i DK.

Skupina biotoksina	Toksin	TEF
OA	OA	1,0
	DTX1	1,0
	DTX2	0,6
PTX	PTX1	1,0
	PTX2	1,0
AZA	AZA1	1,0
	AZA2	1,8
	AZA3	1,4
YTX	YTX	1,0
	Homo-YTX	1,0
	45-OH-YTX	1,0
	45-OH-Homo-YTX	0,5
ASP	DK	–

3.6. *Određivanje masenih udjela PAH-ova u školjkašima i sedimentu*

Određivanje PAH-ova provedeno je UHPLC metodom. Osnovni princip rada UHPLC sustava opisan je u Poglavlju 3.5.1.

3.6.1. Priprema uzoraka

Za ekstrakciju 16 prioritetnih PAH-ova iz mekog tkiva dagnji, odvagano je približno 5 g homogeniziranog uzorka. Uzorku je dodano 15 mL ACN i 5 mL deionizirane vode, nakon čega je uzorak homogeniziran 2 min pomoću uređaja Geno Grinder. Ekstrakcija je provedena primjenom QuEChERS metode (engl. *quick, easy, cheap, effective, rugged and safe*) korištenjem paketa ekstrakcijskih soli koji sadrži 6 g magnezijeva sulfata (MgSO_4) i 1,5 g natrijeva acetata (CH_3COONa). Uzorku je dodan paket ekstrakcijskih soli koji je sadržavao 6 g magnezijeva sulfata (MgSO_4) i 1,5 g natrijeva acetata (CH_3COONa), kao i keramičke kuglice radi učinkovitijeg miješanja i ekstrakcije analita. Nakon dodatka soli uzorak je miješan tijekom 10 min, a zatim centrifugiran 15 min. Alikvot gornjega organskog sloja ekstrakta u volumenu od 8 mL prenesen je u čistu epruvetu. Ekstrakt je zatim pročišćen dodatkom adsorbensa PSA (engl. *Primary Secondary Amine*) radi uklanjanja interferirajućih sastojaka matriksa. Nakon ponovnoga miješanja uzorak je centrifugiran 5 min.

Ekstrakcija PAH-ova iz morskog sedimenta provedena je nakon što je liofilizirani sediment prosijan kroz sito s otvorima promjera 2 mm radi uklanjanja krupnijih čestica, poput šljunka i fragmenata školjki. Prosijani uzorak dodatno je homogeniziran primjenom uređaja Geno/Grinder uz dodatak keramičkih kuglica. Za ekstrakciju je odvagano 5 g homogeniziranog sedimenta te je dodano 25 mL ACN-a i 7 mL deionizirane vode. Ekstrakcija primjenom QuEChERS soli i naknadno pročišćavanje ekstrakta adsorbensom PSA provedeni su prema postupku opisanom za uzorke mekog tkiva dagnji. Pročišćeni ekstrakti mekog tkiva dagnji i morskog sedimenta filtrirani su kroz PTFE membranske filtre veličine pora 0,22 μm te analizirani UHPLC metodom.

3.6.2. Materijali i kemikalije

Za analizu PAH-ova korištene su isključivo kemikalije visoke čistoće:

- deionizirana voda (Evoqua Water Technologies, SAD);
- ACN, HPLC stupanj čistoće (J.T. Baker, SAD);
- QuEChERS ekstrakcijske soli (Agilent Technologies, SAD);
- PSA adsorbens (Agilent Technologies, SAD);
- certificirane standardne otopine s 16 deuteriranih PAH-ova (CPAchem Ltd., Stara Zagora, Bugarska), otopljenih u cikloheksanu;

- certificirane standardne smjese PM-610-1 PAH (Agilent Technologies, Santa Clara, Kalifornija, SAD);
- SRM 1941b (National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, Maryland, SAD);
- certificirani referentni materijal SRM 2974a (National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, Maryland, SAD).

Instrumentalna i laboratorijska oprema:

- analitička vaga (PM 480; Mettler Toledo, Švicarska);
- homogenizator (Waring, SAD);
- centrifuga (Rotina 420R; Andreas Hettich GmbH & Co. KG, Njemačka);
- vodena kupelj (Mettler, Njemačka);
- vrtložna miješalica (SA8; Stuart, Ujedinjeno Kraljevstvo);
- pipete volumena 100 μ L – 1mL, 0,5 – 5mL, 1 – 10mL (Eppendorf, Njemačka);
- volumetrijske tikvice i odmjerne posude;
- epruvete volumena 50 mL i 15 mL te jednokratne rukavice;
- 1290 Infinity II UHPLC sustav s FLD-om (Agilent Technologies, SAD);
- GenoGrinder (SPEX SamplePrep LLC, Metuchen, New Jersey, SAD).

3.6.3. Kalibracija i kvantifikacija

Kvantifikacija pojedinačnih PAH-ova provedena je primjenom kalibracijskih pravaca uz uporabu deuteriranih surogat standarda. Kalibracijske otopine pripravljene su iz odgovarajućih standardnih otopina PAH-ova, pri čemu je u svaku kalibracijsku otopinu dodana jednak volumen odgovarajućeg surogat standarda poznate koncentracije. Linearnost kalibracijskih pravaca potvrđena je unutar definiranoga koncentracijskog raspona ($R^2 > 0,99$). Jednaki volumeni standardne otopine deuteriranih PAH-ova dodani su i svim uzorcima prije ekstrakcije. Njihovom primjenom omogućena je korekcija varijabilnosti koja može nastati tijekom pripreme uzorka, ekstrakcije, injektiranja i instrumentalne detekcije. Ako je signal pojedinog PAH-a u uzorku premašivao signal najviše kalibracijske razine, ekstrakt je razrijeđen tako da se izmjereni signal nalazio unutar linearnoga raspona kalibracije. Maseni udio pojedinačnog PAH-a u analiziranom uzorku izračunat je prema jednadžbi:

$$w (PAH) = \frac{A_{PAH}}{A_S} * c_S * \frac{V}{m} * D \quad (11)$$

gdje je A_{PAH} – površina kromatografskog pika analiziranog PAH-a; A_S – površina kromatografskog pika surogat standarda; C_S – koncentracija surogat standarda u uzorku ($\mu\text{g/mL}$); m – masa analiziranog uzorka (g); V – konačni volumen ekstrakta te D – faktor razrjeđenja ekstrakta, ako je razrjeđivanje provedeno.

3.6.4. Određivanje vlage u tkivu dagnji

Udio vlage određen je u uzorcima mekog tkiva dagnji gravimetrijskom metodom. Približno 1 g homogeniziranog uzorka odvajnut je na prethodno izvaganom satnom staklu te sušen u sušioniku pri $105\text{ }^\circ\text{C}$ tijekom 12 sati. Nakon hlađenja satno staklo s osušenim uzorkom ponovno je izvavano. Udio vlage izračunat je prema jednadžbi:

$$\text{udio vlage (\%)} = \frac{(m_1 - m_2) \times 100}{m_1 - T} \quad (12)$$

gdje je: m_1 – masa satnog stakla s uzorkom prije sušenja (g); m_2 – masa satnog stakla s uzorkom nakon sušenja (g) te T – masa praznog satnog stakla (g).

3.6.5. Validacija analitičkog postupka

Za kvantifikaciju PAH-ova korišteni su certificirani referentni materijali (CRM-ovi), certificirane standardne otopine i deuterirani standardi. Za pripremu kalibracijskih otopina korištena je certificirana standardna smjesa PM-610-1 PAH Mix proizvođača Agilent Technologies (Santa Clara, Kalifornija, SAD). Smjesa je sadržavala 16 prioriternih PAH-ova prema metodi EPA 610, svaki u koncentraciji od $20\text{ }\mu\text{g/mL}$, otopljenih u diklormetanu. Kao surogat standardi korišteni su deuterirani PAH-ovi iz certificirane standardne otopine proizvođača CP Achem Ltd (Stara Zagora, Bugarska). Otopina je sadržavala 16 deuteriranih PAH-ova otopljenih u cikloheksanu, svaki u koncentraciji od 100 mg/L .

Točnost metode i učinkovitost ekstrakcije PAH-ova iz morskog sedimenta provjerene su analizom certificiranoga referentnog materijala SRM 1941b *Organics in Marine Sediment*, proizvođača National Institute of Standards and Technology (NIST, Gaithersburg, Maryland, SAD). Provjera točnosti metode i učinkovitost ekstrakcije PAH-ova u tkivu dagnji provedena je analizom

certificiranoga referentnog materijala SRM 2974a *Organics in Freeze-Dried Mussel Tissue (Mytilus edulis)*, također proizvođača NIST-a. Certificirane i referentne vrijednosti PAH-ova u materijalima SRM 1941b i SRM 2974a izražene su kao maseni udjeli u $\mu\text{g/kg}$ suhe mase.

Za analizirane PAH-ove u dagnjama vrijednosti GD i GK iznosile su: Naph 0,20 $\mu\text{g/kg}$ i 0,62 $\mu\text{g/kg}$, Acy 0,59 $\mu\text{g/kg}$ i 1,77 $\mu\text{g/kg}$, Ace 0,33 $\mu\text{g/kg}$ i 0,99 $\mu\text{g/kg}$, Flu 0,06 $\mu\text{g/kg}$ i 0,18 $\mu\text{g/kg}$, Phe 0,03 $\mu\text{g/kg}$ i GK 0,09 $\mu\text{g/kg}$, Ant 0,05 $\mu\text{g/kg}$ i 0,14 $\mu\text{g/kg}$, Pyr 0,06 $\mu\text{g/kg}$ i 0,18 $\mu\text{g/kg}$, BaA 0,08 $\mu\text{g/kg}$ i 0,25 $\mu\text{g/kg}$, Chr 0,05 $\mu\text{g/kg}$ i 0,16 $\mu\text{g/kg}$, BkF 0,04 $\mu\text{g/kg}$ i 0,13 $\mu\text{g/kg}$, BaP 0,06 $\mu\text{g/kg}$ i 0,18 $\mu\text{g/kg}$, DahA 0,35 $\mu\text{g/kg}$ i 1,06 $\mu\text{g/kg}$, BghiP 0,25 $\mu\text{g/kg}$ i 0,76 $\mu\text{g/kg}$, Flt 0,16 $\mu\text{g/kg}$ i 0,47 $\mu\text{g/kg}$, BbF 0,05 $\mu\text{g/kg}$ i 0,15 $\mu\text{g/kg}$ te IcdP 0,07 $\mu\text{g/kg}$ i 0,23 $\mu\text{g/kg}$.

Za analizirane PAH-ove u sedimentu vrijednosti GD i GK iznosile su: Naph 0,52 $\mu\text{g/kg}$ i 1,57 $\mu\text{g/kg}$, Acy 1,02 $\mu\text{g/kg}$ i 3,10 $\mu\text{g/kg}$, Ace 0,42 $\mu\text{g/kg}$ i 1,28 $\mu\text{g/kg}$, Flu 0,44 $\mu\text{g/kg}$ i 1,32 $\mu\text{g/kg}$, Phe 0,05 $\mu\text{g/kg}$ i 0,14 $\mu\text{g/kg}$, Ant 0,07 $\mu\text{g/kg}$ i 0,20 $\mu\text{g/kg}$, Pyr 0,06 $\mu\text{g/kg}$ i 0,19 $\mu\text{g/kg}$, BaA 0,11 $\mu\text{g/kg}$ i 0,32 $\mu\text{g/kg}$, Chr 0,08 $\mu\text{g/kg}$ i 0,23 $\mu\text{g/kg}$, BkF 0,12 $\mu\text{g/kg}$ i 0,38 $\mu\text{g/kg}$, BaP 0,17 $\mu\text{g/kg}$ i 0,52 $\mu\text{g/kg}$, DahA 0,68 $\mu\text{g/kg}$ i 2,07 $\mu\text{g/kg}$, BghiP 0,43 $\mu\text{g/kg}$ i 1,30 $\mu\text{g/kg}$, Flt 0,20 $\mu\text{g/kg}$ i 0,61 $\mu\text{g/kg}$, BbF 0,17 $\mu\text{g/kg}$ i 0,53 $\mu\text{g/kg}$ te IcdP 0,12 $\mu\text{g/kg}$ i 0,35 $\mu\text{g/kg}$.

3.6.6. UHPLC uvjeti za analizu PAH-ova

Policiklički aromatski ugljikovodici analizirani su UHPLC metodom uz detekciju diodnim (DAD) i FLD detektorom. Kromatografsko odvajanje provedeno je na koloni Zorbax Eclipse C18 (100 mm \times 4,6 mm; 3,5 μm). Mobilna faza A sastojala se od vode, a mobilna faza B od ACN-a. Analiza je provedena gradijentnim eluiranjem pri protoku mobilne faze od 1,00 mL/min. Početni sastav mobilne faze iznosio je 70 % A i 30 % B te je održavan tijekom prvih 4 min analize. Od 4. do 30. min udio mobilne faze B linearno je povećavan do 100 %. Takav je sastav održavan do 35. min, nakon čega su ponovno uspostavljeni početni uvjeti od 70 % A i 30 % B te održavani do završetka analize. Ukupno vrijeme analize iznosilo je 42 min. Temperatura kolone održavana je na 25 °C, a volumen injektiranja iznosio je 10 μL . Detekcija DAD-om provedena je istovremenim snimanjem signala pri unaprijed definiranim valnim duljinama. Za sve signale primijenjena je referentna valna duljina od 230,0 nm uz širinu referentnog pojasa od 2,0 nm.

Detekcija FLD-om provedena je uz početnu ekscitacijsku valnu duljinu od 220 nm i emisijsku valnu duljinu od 330 nm. Tijekom analize ekscitacijske i emisijske valne duljine mijenjane su u skladu s vremenima eluiranja pojedinačnih PAH-ova radi povećanja osjetljivosti i selektivnosti detekcije. Primijenjeni program valnih duljina prikazan je u tablici 11. Širina pika postavljena je na 0,025 min, što odgovara vremenu odziva od 0,5 s i frekvenciji prikupljanja podataka od 18,52 Hz. Dodatno su praćeni emisijski signali pri 420 nm, 440 nm i 500 nm radi istodobne detekcije spojeva različitih fluorescencijskih svojstava.

Tablica 11. Postavke valnih duljina FLD-a.

Vrijeme (min)	Ekscitacija (nm)	Emisija (nm)
16,22	260	310
16,90	250	360
17,80	250	400
19,00	280	460
19,80	240	390
21,20	260	385
24,30	260	450
25,75	280	410
29,63	250	485

3.6.7. Izražavanje rezultata

Rezultati kvantitativne analize PAH-ova u uzorcima morskog sedimenta i mekog tkiva dagnji prikazani su kao maseni udjeli. Za uzorke sedimenta rezultati su izraženi u mg/kg suhe mase, dok su za uzorke mekog tkiva dagnji izraženi u mg/kg mokre mase.

3.7. Procjena ekotoksikološkog rizika

3.7.1. Metala i PAH-ova u školjkašima

Procjena onečišćenja metalima i PAH-ovima u mekom tkivu dagnji provedena je usporedbom izmjerenih masenih udjela s kriterijima OSPAR/ICES za onečišćujuće tvari u bioti. Kriterij BAC (engl. *Background Assessment Concentration*) primijenjen je za procjenu odstupanja izmjerenih

masenih udjela od pozadinske razine, a kriterij EAC (engl. *Environmental Assessment Criteria*) za procjenu prekoračenja okolišnoga kriterija povezanog s kroničnim štetnim učincima PAH-ova na morske organizme (OSPAR Commission, 2009; ICES, 2024).

Maseni udio niži od kriterija BAC upućuje na razinu očekivanu u okolišu bez znatnoga antropogenog unosa analizirane tvari. Maseni udio jednak ili viši od kriterija BAC upućuje na opterećenje iznad pozadinske razine. Takvo opterećenje ne znači nužno pojavu štetnih učinaka, nego pokazuje da je analizirana tvar prisutna u masenom udjelu višem od razine očekivane bez znatnoga antropogenog unosa.

Za Hg, Cd i Pb procjena je provedena usporedbom izmjerenih masenih udjela s kriterijem BAC. Za PAH-ove je, osim kriterija BAC, primijenjen i kriterij EAC. Maseni udio PAH-a niži od kriterija EAC upućuje na razinu pri kojoj se ne očekuju kronični štetni učinci na morske organizme, dok maseni udio viši od kriterija EAC upućuje na prekoračenje okolišnoga kriterija povezanog s kroničnim štetnim učincima na morske organizme. Za PAH-ove za koje nije definiran kriterij BAC nije provedena procjena odstupanja od pozadinske razine. Za PAH-ove za koje nije definiran kriterij EAC nije provedena procjena prekoračenja okolišnoga kriterija povezanog s kroničnim štetnim učincima.

Za procjenu masenih udjela onečišćujućih tvari primijenjeni su kriteriji prikazani u tablicama 12 i 13.

Tablica 12. Kriterij BAC za procjenu odstupanja od pozadinskih razina Hg, Cd i Pb u mekom tkivu dagnji (mg/kg suhe mase).

Metal	BAC
Hg	0,09
Cd	0,96
Pb	1,30

Tablica 13. Kriteriji BAC i EAC za procjenu PAH-ova u školjkašima (µg/kg suhe mase).

PAH spoj	BAC	EAC
Naph	-	340,00
Phe	11,00	1700,00

Ant	-	290,00
Flt	12,20	110,00
Pyr	9,00	100,00
BaA	2,50	80,00
Chr	8,10	-
BaP	1,40	600,00
BghiP	2,50	110,00
IcdP	2,40	-

3.7.2. Metala i PAH-ova u sedimentu

Procjena potencijalnoga ekotoksikološkog rizika u površinskim sedimentima provedena je usporedbom izmjerenih masenih udjela metala i PAH-ova sa smjernicama za procjenu kvalitete sedimenta. Primijenjene su vrijednosti TEL (engl. *threshold effect level*) i PEL (engl. *probable effect level*) prema MacDonald i sur. (1996), vrijednosti ERL (engl. *effects range-low*) i ERM (engl. *effects range-median*) prema Long i sur. (1995) te kanadske smjernice za zaštitu vodenih organizama (CCME, 2002). Na temelju usporedbe izmjerenih masenih udjela s referentnim vrijednostima procjena ekotoksikološkog rizika provedena je zasebno prema dvama skupovima kriterija: TEL/PEL i ERL/ERM. Prema kriterijima TEL/PEL, maseni udjeli niži od vrijednosti TEL upućuju na nizak rizik, vrijednosti između TEL-a i PEL-a na umjeren rizik, a vrijednosti više od PEL-a na visok rizik od pojave štetnih bioloških učinaka. Prema kriterijima ERL/ERM, maseni udjeli niži od vrijednosti ERL upućuju na nizak rizik, vrijednosti između ERL-a i ERM-a na umjeren rizik, a vrijednosti više od ERM-a na visok rizik od pojave štetnih bioloških učinaka. Procjena je provedena za metale i PAH-ove za koje su definirane odgovarajuće vrijednosti TEL, PEL, ERL i ERM (tablice 14 i 15).

Tablica 14. Ekotoksikološki pragovi (TEL/PEL i ERL/ERM) za metale u morskim sedimentima (mg/kg suhe mase).

Metal	TEL	PEL	ERL	ERM
Cr	52,30	160,00	81,00	370,00
Ni	15,90	42,80	20,90	51,60
Cu	18,70	108,00	34,00	270,00

Zn	124,00	271,00	150,00	410,00
Pb	30,20	112,00	46,70	218,00
Cd	0,68	4,21	1,20	9,60
Hg	0,13	0,70	0,15	0,71

Tablica 15. Ekotoksikološki pragovi (TEL/PEL i ERL/ERM) za PAH-ove u morskim sedimentima ($\mu\text{g}/\text{kg}$ suhe mase).

Spoj	TEL	PEL	ERL	ERM
Naph	34,60	391,00	160,00	2100,00
Acy	5,87	128,00	44,00	640,00
Ace	6,71	88,90	16,00	500,00
Flu	21,20	144,00	19,00	540,00
Phe	86,70	544,00	240,00	1500,00
Ant	46,90	245,00	85,30	1100,00
Flt	113,00	1494,00	600,00	5100,00
Pyr	153,00	1398,00	665,00	2600,00
BaA	74,80	693,00	261,00	1600,00
Chr	108,00	846,00	384,00	2800,00
BaP	88,80	763,00	430,00	1600,00
DahA	6,22	135,00	63,40	260,00

Dodatna procjena koncentracija PAH-ova u sedimentu provedena je primjenom kriterija OSPAR/ICES. Za usporedbu s pozadinskim koncentracijama primijenjene su vrijednosti BAC (engl. *background assessment concentration*). Vrijednosti niže od BAC-a upućuju na masene udjele bliske pozadinskim razinama. Prekoračenje vrijednosti BAC upućuje na povećane masene udjele u odnosu na približno pozadinske razine, ali same po sebi ne dokazuje pojavu štetnih bioloških učinaka. Primijenjene BAC vrijednosti prikazane su u tablici 16.

Tablica 16. BAC pragovi prema smjernicama OSPAR Komisije (OSPAR Commission, 2023) izraženi u $\mu\text{g}/\text{kg}$ suhe mase.

Spoj	BAC
Naph	8,00
Phe	32,00

Ant	5,00
Flt	39,00
Pyr	24,00
BaA	16,00
Chr	20,00
BaP	30,00
IcdP	103,00
BghiP	80,00

3.8. Omjeri metala normalizirani na Fe kao pokazatelji raspodjele metala i geokemijskih procesa u sedimentima

Za procjenu povezanosti metala s litogenom sastavnicom sedimenta te za usporedbu njihove prostorne i sezonske raspodjele primijenjeni su omjeri metala normalizirani na Fe. Omjer Fe/Mn korišten je kao pomoćni pokazatelj oksidacijsko-redukcijskih procesa u sedimentu. Normalizacija masenih udjela metala na Fe primijenjena je jer je Fe u sedimentu pretežno povezan s mineralnom matricom. Takav pristup umanjuje utjecaj razlika u sastavu sedimenta prema veličini zrna i mineralnom sastavu uzoraka, ali ih ne uklanja u potpunosti. Pri tumačenju rezultata uzeto je u obzir da Fe-oksidi i Fe-hidroksidi mogu sudjelovati u vezivanju metala u tragovima te u oksidacijsko-redukcijskim procesima u sedimentu (Förstner i Wittmann, 1981; Sutherland, 2000). Omjeri metala i Fe izračunati su prema izrazu:

$$\frac{X}{Fe} = \frac{w(X)_{uzorak}}{w(Fe)_{uzorak}} \quad (13)$$

gdje su $w(X)_{uzorak}$ i $w(Fe)_{uzorak}$ maseni udjeli pojedinog metala i Fe u sedimentu, izraženi u mg/kg suhe mase. Izračunati omjeri Cr/Fe, Ni/Fe, Zn/Fe, Cu/Fe, Pb/Fe, Cd/Fe i Hg/Fe korišteni su za usporedbu relativnih promjena u raspodjeli metala među postajama i sezonama. Za procjenu oksidacijsko-redukcijskih uvjeta u sedimentu korišten je omjer Fe/Mn, izračunat prema izrazu:

$$\frac{Fe}{Mn} = \frac{w(Fe)_{uzorak}}{w(Mn)_{uzorak}} \quad (14)$$

Niži omjeri Fe/Mn mogu upućivati na oksidiranije uvjete i izraženije zadržavanje Mn-oksida i Mn-hidroksida u sedimentu. Viši omjeri Fe/Mn mogu se povezati s reduciranijim uvjetima, u kojima

se Mn reducira prije Fe te se lakše otpušta iz čvrste faze sedimenta. Time se mijenja relativni odnos Fe i Mn u sedimentu. Budući da na omjer Fe/Mn utječu litološka obilježja, sastav sedimenta prema veličini zrna, uvjeti taloženja i dijagenetski procesi, u ovom je radu korišten kao pomoćni pokazatelj geokemijskih procesa koji mogu utjecati na vezanje, pokretljivost i preraspodjelu metala u sedimentu (Calmano i sur., 1993; Förstner i Wittmann, 1981; Naeher i sur., 2013).

3.9. *Određivanje porijekla PAH-ova u sedimentu primjenom dijagnostičkih omjera*

Potencijalno podrijetlo PAH-ova u sedimentu procijenjeno je primjenom dijagnostičkih omjera (Budzinski i sur., 1997; Soclo i sur., 2000; Yunker i sur., 2002). U analizi su korišteni dijagnostički omjeri koji se uobičajeno primjenjuju za razlikovanje petrogenih izvora, povezanih s naftom i naftnim derivatima, od pirogenih izvora, povezanih s procesima izgaranja fosilnih goriva i biomase. Korišteni su sljedeći omjeri: Ant/(Ant + Phe), Flt/(Flt + Pyr), BaA/(BaA + Chr), IcdP/(IcdP + BghiP), Phe/Ant te Σ LMW/ Σ HMW. Kombinirana interpretacija više dijagnostičkih omjera omogućuje pouzdaniju procjenu vjerojatnog dominantnog izvora PAH-ova, osobito u uvjetima mješovitih izvora ili djelomične razgradnje spojeva u okolišu. Time se smanjuje mogućnost pogrešne interpretacije na temelju pojedinačnog pokazatelja (Yunker i sur., 2002). Budući da na vrijednosti dijagnostičkih omjera mogu utjecati procesi transporta i transformacije PAH-ova u okolišu, dobiveni rezultati interpretirani su kao indikativni pokazatelji, a ne kao jednoznačna potvrda njihova podrijetla. Pragovi korišteni za tumačenje potencijalnog podrijetla PAH-ova prikazani su u tablici 17.

Tablica 17. Dijagnostički omjeri PAH-ova, pragovi i interpretacija potencijalnih izvora.

Omjer	Pragovi	Tumačenje izvora	Referenca
Ant/(Ant + Phe)	< 0,10 petrogeni izvor; > 0,10 pirogeni izvor	Niske vrijednosti karakteristične su za naftne izvore, dok više vrijednosti ukazuju na PAH-ove nastale procesima izgaranja.	Yunker i sur. (2002)
Flt/(Flt + Pyr)	< 0,40 petrogeni izvor; 0,40 – 0,50 izgaranje	Omjer omogućuje razlikovanje naftnih izvora	Yunker i sur. (2002)

	tekućih fosilnih goriva; > 0,50 izgaranje biomase i ugljena	od produkata izgaranja tekućih fosilnih goriva, biomase i ugljena.	
BaA/(BaA + Chr)	< 0,20 petrogeni izvor; 0,20 – 0,35 mješoviti izvori; > 0,35 pirogeni izvor	Vrijednosti manje od 0,20 karakteristične su za naftne izvore, vrijednosti od 0,20 do 0,35 ukazuju na moguće mješovite izvore, dok vrijednosti veće od 0,35 upućuju na prevladavajući doprinos procesa izgaranja.	Yunker i sur. (2002)
IcdP/(IcdP + BghiP)	< 0,20 petrogeni izvor; 0,20 – 0,50 izgaranje tekućih fosilnih goriva; > 0,50 izgaranje biomase i ugljena	Omjer omogućuje razlikovanje naftnih izvora od izvora povezanih s izgaranjem tekućih fosilnih goriva, biomase i ugljena.	Yunker i sur. (2002)
Phe/Ant	> 10 petrogeni izvor; < 10 pirogeni izvor	Viši udio termodinamički stabilnijeg Phe karakterističan je za naftne izvore, dok niže vrijednosti upućuju na pirogene procese.	Budzinski i sur. (1997)
ΣLMW/ΣHMW	> 1 petrogeni; < 1 pirogeni	Viši relativni udio PAH-ova manje molekulske mase karakterističan je za petrogene izvore, dok prevladavanje PAH-ova veće molekulske mase upućuje na procese izgaranja.	Soclo i sur. (2000)

3.10. *Određivanje porijekla PAH-ova primjenom PCA analize*

Za analizu varijabilnosti masenih udjela PAH-ova u površinskim sedimentima primijenjena je analiza glavnih komponenti (engl. *principal component analysis*, PCA). Metoda je korištena za identifikaciju obrazaca povezanosti među spojevima te za izdvajanje glavnih komponenti koje u najvećoj mjeri objašnjavaju ukupnu varijabilnost podataka. Analiza glavnih komponenti provedena je na logaritmiranim i standardiziranim masenim udjelima PAH-ova, čime je smanjen utjecaj razlika u rasponima njihovih apsolutnih vrijednosti te je svakom spoju pridana jednaka težina u analizi. Za odabir komponenti zadržanih za daljnju interpretaciju primijenjen je model slomljene palice (engl. *broken-stick model*). Zadržane su samo one komponente koje objašnjavaju veći udio varijance od onoga koji bi se očekivao pri slučajnoj raspodjeli ukupne varijance među komponentama (Jackson, 1993). Komponente koje nisu zadovoljile navedeni kriterij nisu uključene u daljnju interpretaciju.

Interpretacija PCA temeljila se na vrijednostima i obrascima opterećenja pojedinačnih PAH-ova unutar zadržanih komponenti. Visoka apsolutna opterećenja ukazuju na spojeve koji najviše doprinose pojedinoj komponenti, dok niska apsolutna opterećenja upućuju na njihov slabiji doprinos. Komponente s izraženim opterećenjima HMW PAH-ova razmatrane su kao mogući pokazatelji doprinosa pirogenih procesa, dok su komponente s izraženim opterećenjima LMW PAH-ova razmatrane kao mogući pokazatelji petrogenog doprinosa. Budući da pojedini spojevi mogu potjecati iz više izvora, konačna procjena podrijetla PAH-ova nije se temeljila isključivo na PCA-i, nego na zajedničkoj interpretaciji obrazaca opterećenja, dijagnostičkih omjera i raspodjele pojedinačnih spojeva.

3.11. *Određivanje stupnja onečišćenja PAH-ovima*

Stupanj onečišćenja sedimenta PAH-ovima procijenjen je na temelju ukupnog masenog udjela $\Sigma 16\text{PAH}$, izraženog u $\mu\text{g/kg}$ suhe mase. Klasifikacija stupnja onečišćenja provedena je prema kriterijima Baumard i sur. (1998), kojima su definirane četiri razine onečišćenja sedimenta (tablica 18). Navedena klasifikacija primijenjena je za usporedbu razina onečišćenja među postajama, a ne za izravnu procjenu ekotoksikološkog rizika.

Tablica 18. Klasifikacija stupnja onečišćenja sedimenta prema ukupnom masenom udjelu $\Sigma 16\text{PAH}$ ($\mu\text{g}/\text{kg}$ suhe mase), prema Baumard i sur. (1998).

Klasa	Stupanj onečišćenja	$\Sigma 16\text{PAH}$	Opis
I	Niski	< 100	Niska razina onečišćenja sedimenta PAH-ovima.
II	Umjereni	100 – 1000	Umjerena razina onečišćenja sedimenta PAH-ovima.
III	Visoki	1000 – 5000	Visoka razina onečišćenja sedimenta PAH-ovima.
IV	Vrlo visoki	> 5000	Vrlo visoka razina onečišćenja sedimenta PAH-ovima.

3.12. Statističke metode obrade podataka

Statističke analize provedene su radi procjene prostorne i sezonske varijabilnosti sastava veličine zrna sedimenta te raspodjele metala, PAH-ova i biotoksina u analiziranim uzorcima. Obrada podataka obuhvatila je korelacijske i multivarijatne analize, uz primjenu razine značajnosti od 5 % ($\alpha = 0,05$). Raspodjela podataka prikazana je grafički pomoću kutijastih dijagrama (engl. *box plots*), koji prikazuju medijan, donji i gornji kvartil raspon vrijednosti te prosječne vrijednosti. Normalnost distribucije varijabli ispitana je Shapiro-Wilkovim testom (Shapiro i Wilk, 1965).

Povezanost između analiziranih varijabli ispitana je Spearmanovom korelacijskom analizom. Jačina povezanosti određena je Spearmanovim koeficijentom korelacije ranga (ρ) (Spearman, 1904). Pri višestrukim parnim korelacijama primijenjena je Bonferronijeva korekcija p-vrijednosti. Vrijednosti $|\rho| < 0,30$ interpretirane su kao zanemarive ili slabe, vrijednosti od 0,30 do 0,50 kao niske, od 0,50 do 0,70 kao umjerene, od 0,70 do 0,90 kao snažne, a vrijednosti $> 0,90$ kao vrlo snažne korelacije (Mukaka, 2012). U interpretaciju su uključene isključivo statistički značajne korelacije ($p < 0,05$). Razlike u masenim udjelima metala, PAH-ova i biotoksina među skupinama ispitane su neparametrijskim Kruskal-Wallis testom.

Međusobna povezanost i raspodjela masenih udjela analiziranih tvari ispitane su primjenom PCA, kako je detaljno opisano u poglavlju 3.10. Određivanje porijekla PAH-ova primjenom PCA

analize. Prostorne i sezonske razlike u sedimentu i dagnjama procijenjene su primjenom permutacijske multivarijatne analize varijance (PERMANOVA; Anderson, 2001), na matrici euklidskih udaljenosti uz 9999 permutacija. Rezultati su interpretirani na temelju pseudo-F statistike, koeficijenta objašnjene varijance (R^2) i pripadajućih p-vrijednosti. U slučaju statistički značajnih rezultata provedene su dodatne parne usporedbe, uz Bonferronijevu korekciju p-vrijednosti. Za utvrđivanje spojeva koji najviše doprinose sličnosti unutar skupina i razlikama među skupinama provedena je SIMPER analiza (engl. *similarity percentage analysis*). Rezultati SIMPER analize korišteni su kao opisni pokazatelji doprinosa pojedinih spojeva razlikama među skupinama.

Dodatno su primijenjene redundancijska analiza (engl. *redundancy analysis*, RDA) i regresija parcijalnih najmanjih kvadrata (engl. *partial least squares regression*, PLS). Metoda RDA primijenjena je kako bi se utvrdilo u kojoj mjeri okolišne varijable objašnjavaju promjene u masenim udjelima analiziranih tvari. Metoda PLS korištena je za procjenu povezanosti između okolišnih varijabli i masenih udjela analiziranih tvari te za izdvajanje varijabli koje najviše doprinose objašnjenju uočenih promjena.

4. REZULTATI

4.1. Fizikalno-kemijske značajke sedimenta

4.1.1. Raspodjela veličine zrna sedimenta

Rezultati analize veličine zrna površinskih sedimenata ukazuju na razlike između područja ušća rijeke Neretve i Malostonskog zaljeva, uz sezonsku varijabilnost sastava sedimenta (tablica 19 i tablica 20). U većini uzoraka u Malostonskom zaljevu dominantna frakcija bio je prah, dok je pijesak češće prevladavao na postajama u području ušća rijeke Neretve. Frakcije šljunka i gline bile su dominantne samo u pojedinačnim uzorcima (Banja u travnju 2023. i Mali Ston u veljači 2023.).

Postaje u području ušća rijeke Neretve karakterizirane su višim prosječnim udjelom pijeska (55,49 %) i nižim prosječnim udjelom praha (37,15 %), uz prosječni Mz od 135,42 μm , prosječni Md od 179,17 μm i prosječni So od 2,16, što u odnosu na Malostonski zaljev upućuje na krupnozrnatiji i bolje sortirani sediment. Najviši udio pijeska zabilježen je na postaji Ploče (93,23 %), a najviši udio praha na postaji Škoj (99,01 %), što je u skladu s većim Mz i Md na postaji Ploče u odnosu na postaju Škoj. Unutar područja ušća rijeke Neretve najviši So također je zabilježen na postaji Ploče (4,17). Na postaji Ploče u svim sezonama, osim u proljeće, dominira pješčana frakcija, s udjelima do 93,23 %, dok se u proljeće bilježi porast udjela praha na prosječno 41,56 %. Na postaji Blace utvrđene su sezonske promjene u udjelima pojedinih veličinskih frakcija sedimenta. Zimi prevladava pijesak s prosječnim udjelom od 67,66 %, u proljeće prah s prosječnim udjelom od 60,01 %, dok ljeti prosječni udjeli pijeska i praha iznose 43,84 % i 47,54 %, a u jesen 54,78 % i 39,96 %. Takva raspodjela upućuje na izmjenu pješčanih i muljevitih tipova sedimenta. Unutar ovog područja izdvaja se postaja Škoj, na kojoj je utvrđena veća raznolikost veličine zrna sedimenta te izražena sezonska i međugodišnja promjenjivost u udjelima pojedinih veličinskih frakcija. U proljeće na postaji Škoj prevladava prah, s udjelima od 43,48 do 99,01 %, kao i tijekom ljeta, kada udio praha iznosi od 47,68 do 62,94 %. Iznimka je kolovoz 2023., kada prevladava pijesak s udjelom od 54,36 %, uz 32,66 % praha. Zimi je na navedenoj postaji utvrđen približno podjednak udio pijeska i praha, pri čemu udio pijeska iznosi od 34,96 do 58,00 %, a udio praha od 31,19 do 60,53 %. Jesenski uzorci pokazuju najveću promjenjivost, od dominantno pjeskovitog sedimenta u listopadu 2022. godine, s 68,67 % pijeska, do sedimenta s dominantnim udjelom praha

u listopadu 2023. godine, s 55,14 % praha. Raspon So od 0,58 do 3,55 dodatno upućuje na promjene u sortiranosti sedimenta, odnosno na prijelaz između bolje i slabije sortiranih uzoraka.

Postaje Malostonskog zaljeva karakterizirane su nižim prosječnim udjelom pijeska (28,86 %) te višim prosječnim udjelima praha (48,30 %) i gline (12,00 %), uz prosječne Mz i Md od 97,75 μm i 104,78 μm te prosječni So od 3,06. U odnosu na područje ušća rijeke Neretve, takva raspodjela upućuje na sitnozrnatiji i slabije sortirani sediment. Najviši udio praha zabilježen je na postaji Bistrina (72,37 %), a najviši udio gline na postaji Mali Ston (64,24 %). Viši udjeli sitnozrnatih frakcija povezani su s manjim Mz i Md, dok je najviši So utvrđen na postaji Mali Ston (5,74). Na postaji Kanal Usko u svim sezonama dominira prah, s udjelima od 39,07 do 67,75 %, uz povećan udio gline u zimskom razdoblju, do 29,49 %. Postaja Bistrina također je obilježena prevladavanjem praha tijekom cijele godine, s udjelima od 32,00 do 72,37 %, pri čemu su najviši udjeli zabilježeni ljeti. Udio pijeska na toj postaji iznosio je od 11,60 do 35,27 %. Prosječni udjeli praha iznosili su 46,16 % zimi, 52,95 % u proljeće, 58,50 % ljeti i 60,28 % u jesen, što upućuje na prevlast sitnozrnatih frakcija. Na postaji Banja tijekom većine sezona prevladavao je prah, s udjelima od 32,77 do 65,99 %. U proljeće je zabilježena izraženija promjenjivost sastava sedimenta prema veličini zrna, a u uzorku iz travnja 2023. udio šljunka dosegao je 34,63 %, što upućuje na povremenu pojavu krupnozrnatijeg sedimenta na ovoj postaji. Postaja Mali Ston ističe se najvećom sezonskom i međugodišnjom promjenjivošću sastava sedimenta prema veličini zrna. Udio pijeska iznosio je od 14,18 do 76,86 %, praha od 0,00 do 65,89 %, a gline od 1,00 do 64,24 %. U lipnju i prosincu 2022. zabilježeni su udjeli pijeska viši od 50 %, dok je u veljači 2023. dominirao sitnozrnati sediment s visokim udjelom gline (64,24 %) i povišenim So (5,74). Takva raspodjela potvrđuje izraženu raznolikost veličine zrna i slabiju sortiranost sedimenta na ovoj postaji.

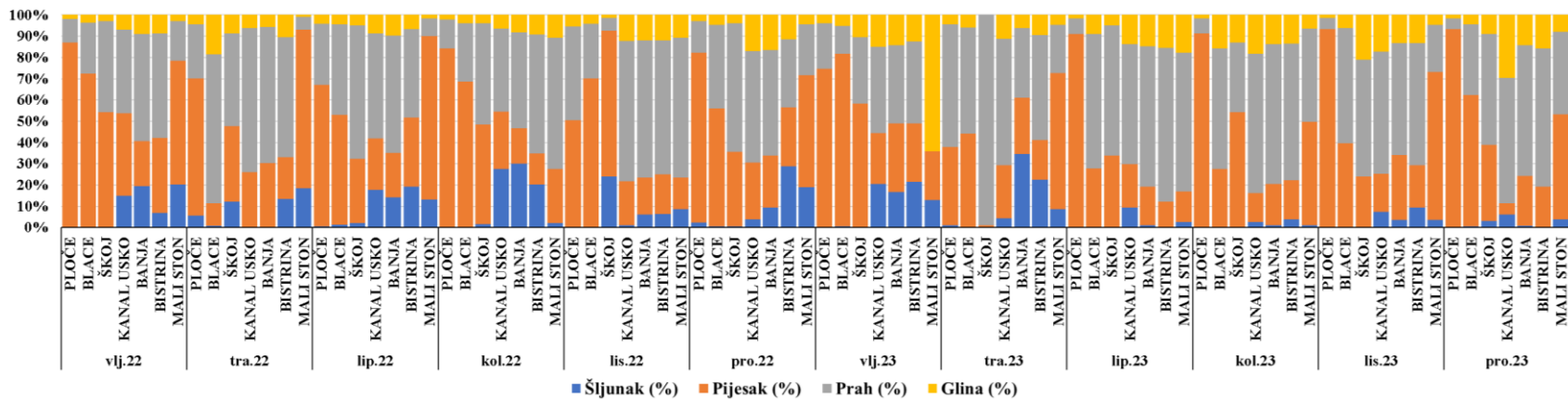
Sezonski rasponi i prosječni sezonski udjeli veličinskih frakcija te rasponi i prosjeci parametara Mz, Md i So prikazani su u tablicama 19 i 20, dok slike 44 – 48 prikazuju njihovu prostornu i sezonsku raspodjelu te prosječni sastav sedimenta prema veličini zrna.

Tablica 19. Rasponi i prosječni udjeli veličinskih frakcija te rasponi i prosjeci parametara Mz, Md i So po postajama, uz prikaz dominantne frakcije i klasifikacije prema Folk (1954).

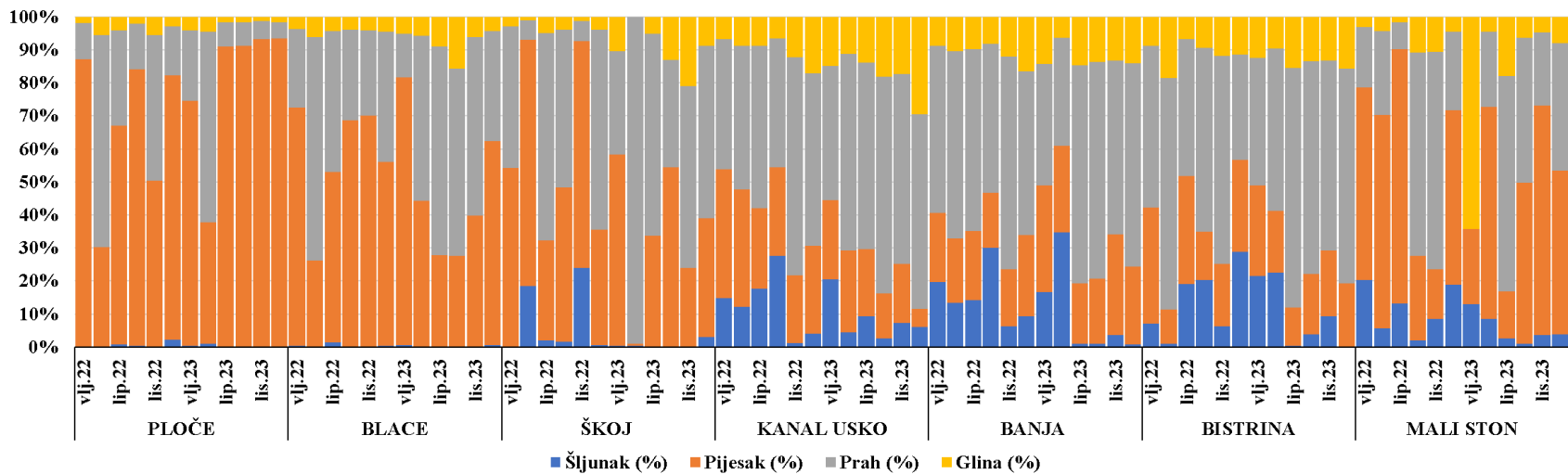
Postaja	Šljunak (%)	Pijesak (%)	Prah (%)	Glina (%)	Mz (µm)	Md (µm)	So	Frakcija	Klasifikacija
Ploče	0,02 – 5,70 (0,93)	36,87 – 93,23 (75,93)	4,95 – 57,70 (20,19)	1,32 – 5,46 (2,95)	60,37 – 333,45 (210,11)	64,09 – 507,45 (270,40)	1,04 – 4,17 (1,97)	pijesak	muljeviti pijesak
Blace	0,00 – 1,41 (0,40)	10,37 – 81,01 (50,83)	13,30 – 70,10 (41,66)	3,62 – 18,58 (7,10)	11,31 –160,70 (78,48)	9,89 – 476,51 (145,74)	1,79 – 2,68 (2,31)	pijesak	muljeviti pijesak
Škoj	0,00 – 23,92 (3,69)	0,67 – 68,67 (39,72)	6,12 – 99,01 (49,59)	0,00 – 20,97 (7,00)	12,64 – 857,18 (117,67)	9,05 – 512,81 (121,39)	0,58 – 3,55 (2,19)	prah	muljeviti pijesak i pješkoviti mulj
Kanal	0,19 – 27,64 (9,65)	5,45 – 38,83 (22,42)	39,07 – 67,75 (54,37)	6,11 – 29,49 (13,56)	6,92 –152,33 (45,68)	6,38 – 107,66 (31,95)	1,95 – 4,23 (2,95)	prah	šljunkoviti mulj
Banja	0,03 – 34,63 (11,43)	16,60 – 32,25 (23,43)	32,77 – 65,99 (53,69)	5,60 – 16,55 (11,45)	17,22 –207,87 (57,55)	14,78 – 150,86 (34,98)	1,96 – 4,17 (3,05)	prah	šljunkoviti mulj
Bistrina	0,14 – 28,89 (12,74)	11,60 – 35,27 (21,96)	32,00 – 72,37 (53,75)	6,66 – 15,74 (11,55)	13,10 –201,30 (63,04)	12,89 – 268,32 (48,22)	1,75 – 4,76 (3,25)	prah	šljunkoviti mulj
Mali	1,02 – 20,31 (9,52)	14,18 – 76,86 (47,64)	0,00 – 65,89 (31,40)	1,00 – 64,24 (11,44)	3,51 – 818,50 (224,72)	0,19 – 1192,73 (303,98)	1,64 – 5,74 (3,00)	pijesak	šljunkovito-muljeviti pijesak

Tablica 20. Prosječni sezonski udjeli veličinskih frakcija i prosjeci parametara Mz, Md i So po područjima.

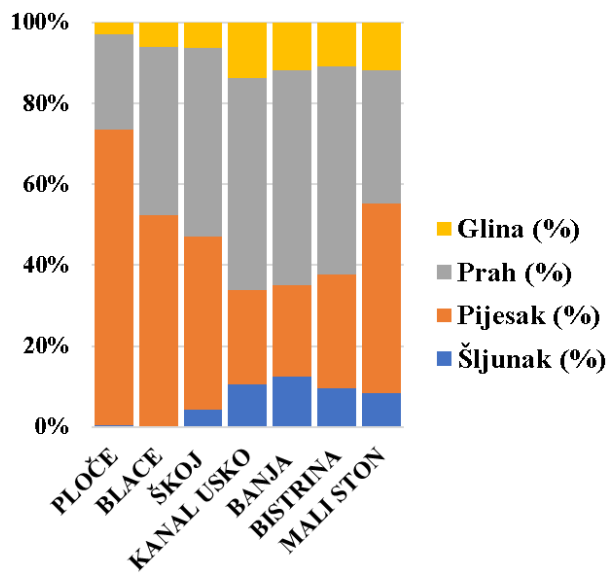
Područje	Sezona	Pijesak (%)	Prah (%)	Glina (%)	Šljunak (%)	Mz (µm)	Md (µm)	So
Ušće Neretve	Zima	34,96 – 93,23 (65,65)	4,95 – 60,53 (29,09)	1,62 – 10,45 (4,50)	0,04 – 3,10 (0,76)	33,20 – 272,53 (133,68)	25,69 – 476,51 (219,78)	1,18 – 3,04 (2,12)
	Proljeće	0,67 – 64,48 (32,01)	25,43 – 99,01 (57,61)	0,00 – 18,58 (7,01)	0,21 – 12,07 (3,37)	11,31 – 218,23 (95,60)	9,89 – 507,45 (130,36)	0,58 – 4,17 (2,56)
	Ljeto	27,57 – 91,04 (56,03)	7,06 – 63,22 (37,66)	1,61 – 15,77 (5,76)	0,00 – 2,06 (0,55)	22,44 – 254,54 (105,53)	12,12 – 422,47 (149,63)	1,14 – 2,77 (2,01)
	Jesen	23,87 – 93,19 (57,60)	5,35 – 55,14 (31,77)	1,29 – 20,97 (6,56)	0,00 – 23,92 (4,06)	14,39 – 857,18 (238,51)	9,05 – 512,81 (205,87)	1,04 – 2,44 (2,13)
Malostonski zaljev	Zima	5,45 – 58,23 (30,55)	0,00 – 65,02 (40,96)	3,00 – 64,24 (15,65)	0,14 – 28,89 (12,83)	3,51 – 355,76 (93,98)	0,19 – 1192,73 (147,80)	2,01 – 5,74 (3,49)
	Proljeće	18,68 – 74,51 (35,53)	6,05 – 67,75 (44,84)	1,00 – 11,30 (6,86)	0,03 – 34,63 (12,78)	23,02 – 818,50 (183,51)	22,47 – 515,41 (163,71)	1,64 – 4,26 (2,90)
	Ljeto	11,60 – 76,86 (25,19)	8,24 – 72,37 (53,45)	1,63 – 18,16 (10,96)	0,45 – 30,13 (10,40)	13,10 – 585,28 (89,17)	11,63 – 542,10 (65,86)	1,64 – 4,04 (2,92)
	Jesen	14,92 – 69,52 (26,16)	22,15 – 66,16 (56,16)	4,78 – 17,39 (11,92)	1,15 – 9,29 (5,76)	19,18 – 139,23 (36,68)	13,04 – 168,26 (37,66)	1,99 – 2,93 (2,67)



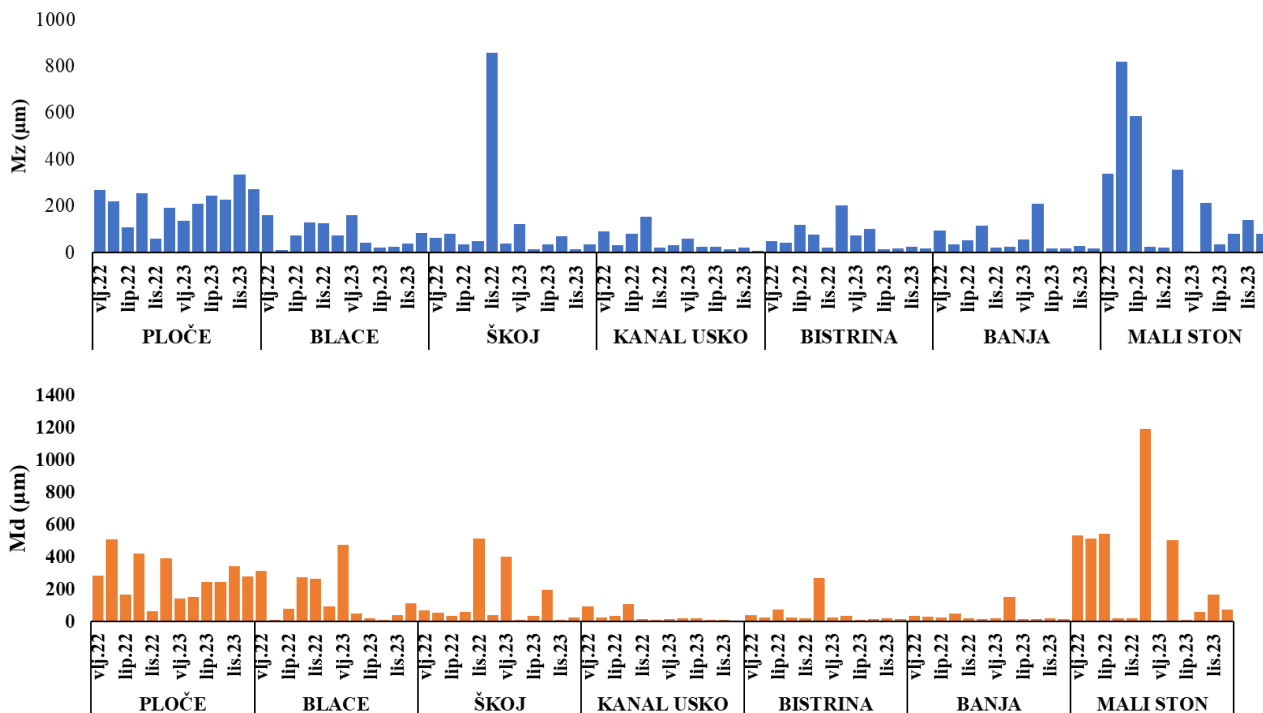
Slika 44. Sezonska varijabilnost sastava veličine zrna sedimenta (udio šljunka, pijeska, praha i gline) po postajama tijekom istraživnog razdoblja.



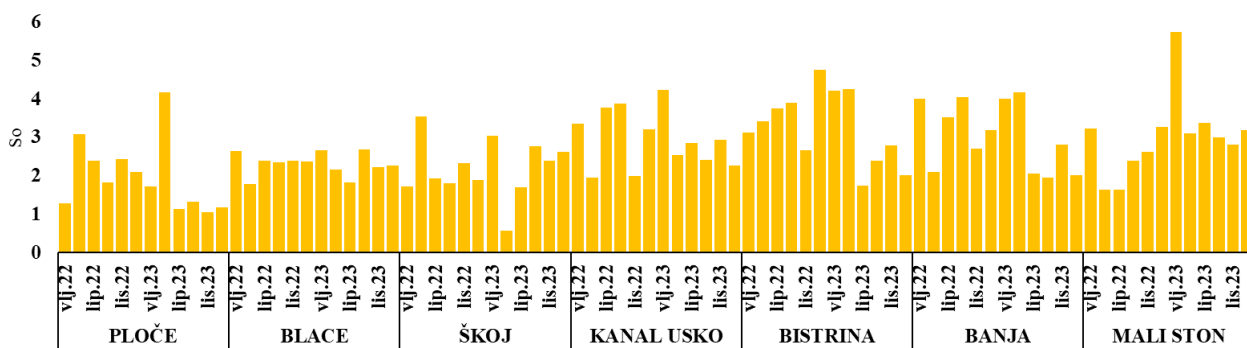
Slika 45. Prostorno-vremenska raspodjela veličinskih frakcija sedimenta (šljunak, pijesak, prah i glina) po postajama tijekom istraživnog razdoblja.



Slika 46. Prosječni udjeli šljunka, pijeska, praha i gline u površinskim sedimentima na istraživanim postajama i sezonama.

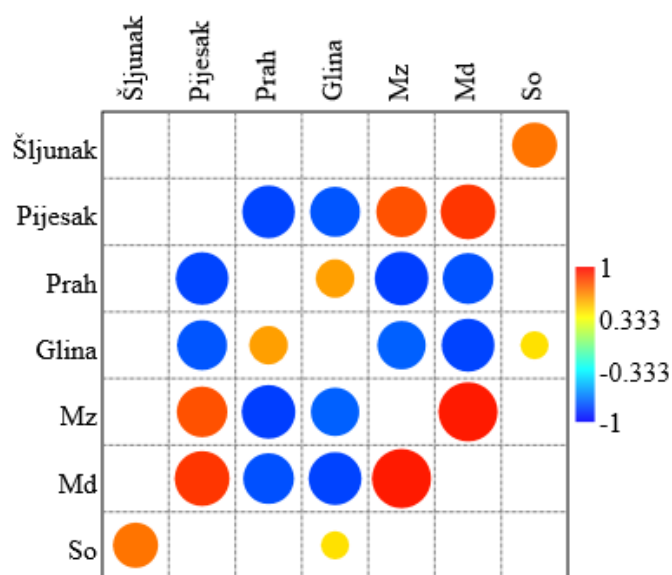


Slika 47. Prostorne i sezonske promjene parametara Mz i Md u površinskim sedimentima.



Slika 48. Prostorna i sezonska raspodjela parametra So u površinskim sedimentima.

Spearmanova korelacijska analiza (slika 49) pokazala je značajne povezanosti između veličinskih frakcija i granulometrijskih parametara. Pijesak je bio snažno negativno povezan sa prahom ($\rho = -0,82$; $p = 2,53 \times 10^{-20}$) i glinom ($\rho = -0,78$; $p = 9,00 \times 10^{-17}$), dok su prah i glina bili pozitivno povezani ($\rho = 0,58$; $p = 1,08 \times 10^{-7}$). Obje sitnozrnate frakcije bile su negativno povezane s parametrima Mz (prah $\rho = -0,84$; $p = 5,99 \times 10^{-22}$; glina $\rho = -0,75$; $p = 5,01 \times 10^{-15}$) i Md (prah $\rho = -0,79$; $p = 9,63 \times 10^{-18}$; glina $\rho = -0,82$; $p = 1,33 \times 10^{-20}$). Suprotno tome, pijesak je bio pozitivno povezan s Mz ($\rho = 0,79$; $p = 1,33 \times 10^{-17}$) i Md ($\rho = 0,86$; $p = 3,61 \times 10^{-24}$). Parametri Mz i Md bili su međusobno snažno povezani ($\rho = 0,93$; $p = 4,34 \times 10^{-36}$). Parametar So bio je pozitivno povezan sa šljunkom ($\rho = 0,70$; $p = 4,23 \times 10^{-12}$) i glinom ($\rho = 0,41$; $p = 2,00 \times 10^{-3}$), dok korelacije parametra So s pijeskom, prahom, Mz i Md nisu bile statistički značajne.



Slika 49. Spearmanova korelacijska matrica granulometrijskih parametara (Mz, Md, So) i veličinskih frakcija (šljunak, pijesak, prah i glina) u površinskim sedimentima.

Shapiro-Wilkov test normalnosti ukazao je na odstupanje od normalne raspodjele za većinu analiziranih varijabli, dok za varijable So, Mz i glinu nije utvrđeno statistički značajno odstupanje od normalne raspodjele (tablica 21).

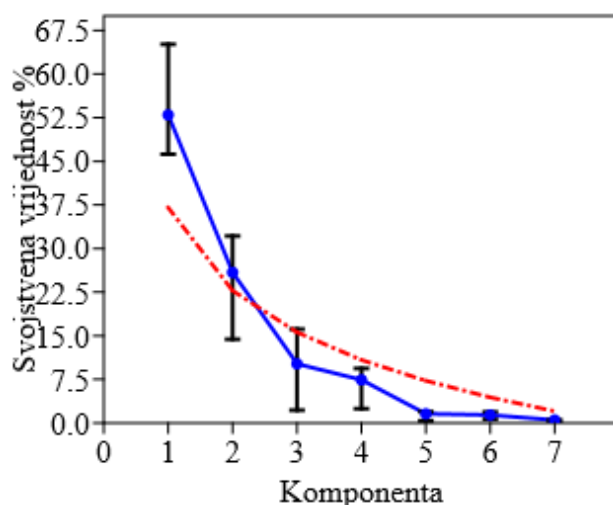
Tablica 21. Rezultati Shapiro-Wilk testa normalnosti.

Varijabla	W	p
Pijesak	0,92	$5,70 \times 10^{-5}$
Prah	0,78	$7,56 \times 10^{-10}$
Glina	0,98	0,14
Šljunak	0,89	$3,65 \times 10^{-6}$
Mz	0,98	0,36
Md	0,95	$1,60 \times 10^{-3}$
So	0,99	0,62

Prostorne razlike u sastavu sedimenta procijenjene su testom PERMANOVA, koji je potvrdio statistički značajne razlike u raspodjeli veličine zrna između područja Malostonskog

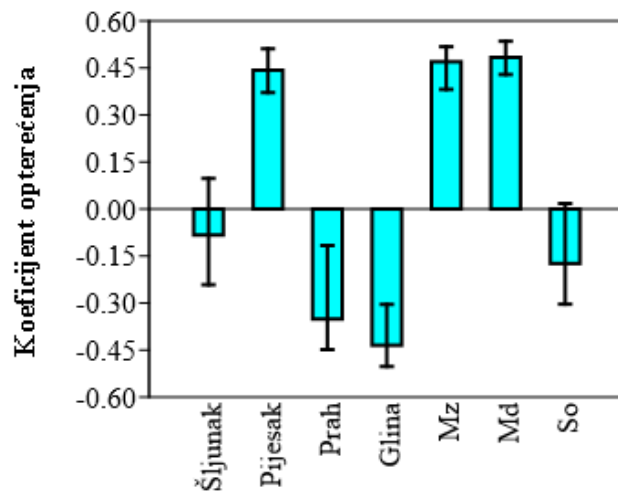
zaljeva i ušća rijeke Neretve ($F = 19,80$; $p = 1,00 \times 10^{-4}$), dok sezonske razlike nisu bile statistički značajne.

Analiza glavnih komponenti pokazala je da prve dvije glavne komponente objašnjavaju 78,89 % ukupne varijabilnosti podataka koji opisuju sastav sedimenta prema veličini zrna, uključujući udjele pojedinih veličinskih frakcija te parametre Mz, Md i So. Pritom PC1 objašnjava 52,99 %, a PC2 25,90 % varijabilnosti. Prema modelu slomljene palice, samo PC1 i PC2 imaju svojstvene vrijednosti veće od očekivanih te se smatraju statistički značajnima (slika 50).

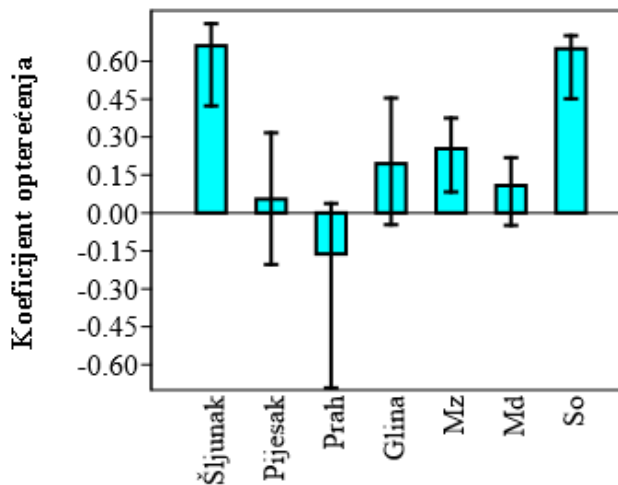


Slika 50. Dijagram glavnih komponenti veličinskih frakcija uz usporedbu s modelom slomljene palice.

Komponenta PC1 pozitivno je povezana s pijesakom (0,44), Mz (0,47) i Md (0,48), dok je negativno povezana sa prahom (-0,35) i glinom (-0,44) (slika 51). Komponenta PC2 pozitivno je povezana sa šljunakom (0,66) i parametrom So (0,65) (slika 52).



Slika 51. Opterećenja veličinskih frakcija sedimenta na komponenti PC1.



Slika 52. Opterećenja veličinskih frakcija sedimenta na komponenti PC2.

4.1.2. Udio organske tvari i karbonata u odnosu na karakteristike veličine zrna sedimenta

Analiza udjela organske tvari i karbonata u površinskim sedimentima pokazuje razlike između područja ušća rijeke Neretve i Malostonskog zaljeva te prostornu i sezonsku promjenjivost sastava sedimenta. Prosječni udio organske tvari niži je u području ušća rijeke Neretve (3,54 %) nego u Malostonskom zaljevu (6,88 %), dok su prosječni udjeli karbonata usporedivi između područja, s 49,46 % u području ušća rijeke Neretve i 51,65 % u Malostonskom zaljevu.

U području ušća rijeke Neretve udio organske tvari iznosi od 0,37 do 10,78 %, a udio karbonata od 34,07 do 92,38 %. Zima i ljeto izdvajaju se nižim udjelima organske tvari, od 0,37 do 5,00 % zimi te od 0,64 do 6,89 % ljeti, dok su proljeće i jesen obilježeni višim udjelima, od 2,52 do 9,19 % u proljeće te od 0,53 do 10,78 % u jesen. Najviši udio organske tvari zabilježen je na postaji Škoj, u jesen 2023. godine (10,78 %), a najniži na postaji Ploče, u zimu 2023. godine (0,37 %). Udjeli karbonata ne pokazuju dosljedan sezonski obrazac te iznose od 42,71 do 63,58 % zimi, od 34,07 do 83,71 % u proljeće, od 39,32 do 53,29 % ljeti i od 38,95 do 92,38 % u jesen. Najviši udio karbonata zabilježen je na postaji Ploče, u jesen 2022. godine (92,38 %), a najniži na postaji Škoj, u proljeće 2023. godine (34,07 %).

U Malostonskom zaljevu udio organske tvari iznosi od 1,90 do 10,00 %, a udio karbonata od 36,24 do 95,51 %. Udjeli organske tvari tijekom svih sezona ostaju u sličnim rasponima: od 2,54 do 9,18 % zimi, od 3,06 do 9,69 % u proljeće, od 3,31 do 9,58 % ljeti i od 1,90 do 10,00 % u jesen, bez jasnog izdvajanja pojedine sezone. Najviši udio organske tvari zabilježen je na postaji Kanal Usko, u jesen 2022. godine (10,00 %), a najniži na postaji Bistrina, također u jesen 2022. godine (1,90 %). Udjeli karbonata pokazuju širi raspon u proljeće, od 36,24 do 95,24 %, i jesen, od 37,42 do 95,51 %, nego zimi, od 37,59 do 91,02 %, i ljeti, od 37,40 do 84,48 %. Najviši udio karbonata zabilježen je na postaji Mali Ston, u jesen 2023. godine (95,51 %), a najniži na postaji Bistrina, u proljeće 2022. godine (36,24 %).

Prosječni udjeli i rasponi udjela organske tvari i karbonata u površinskom sedimentu po postajama i sezonama prikazani su u tablicama 22 i 23.

Tablica 22. Rasponi i prosječni udjeli organske tvari i karbonata u površinskom sedimentu po postajama.

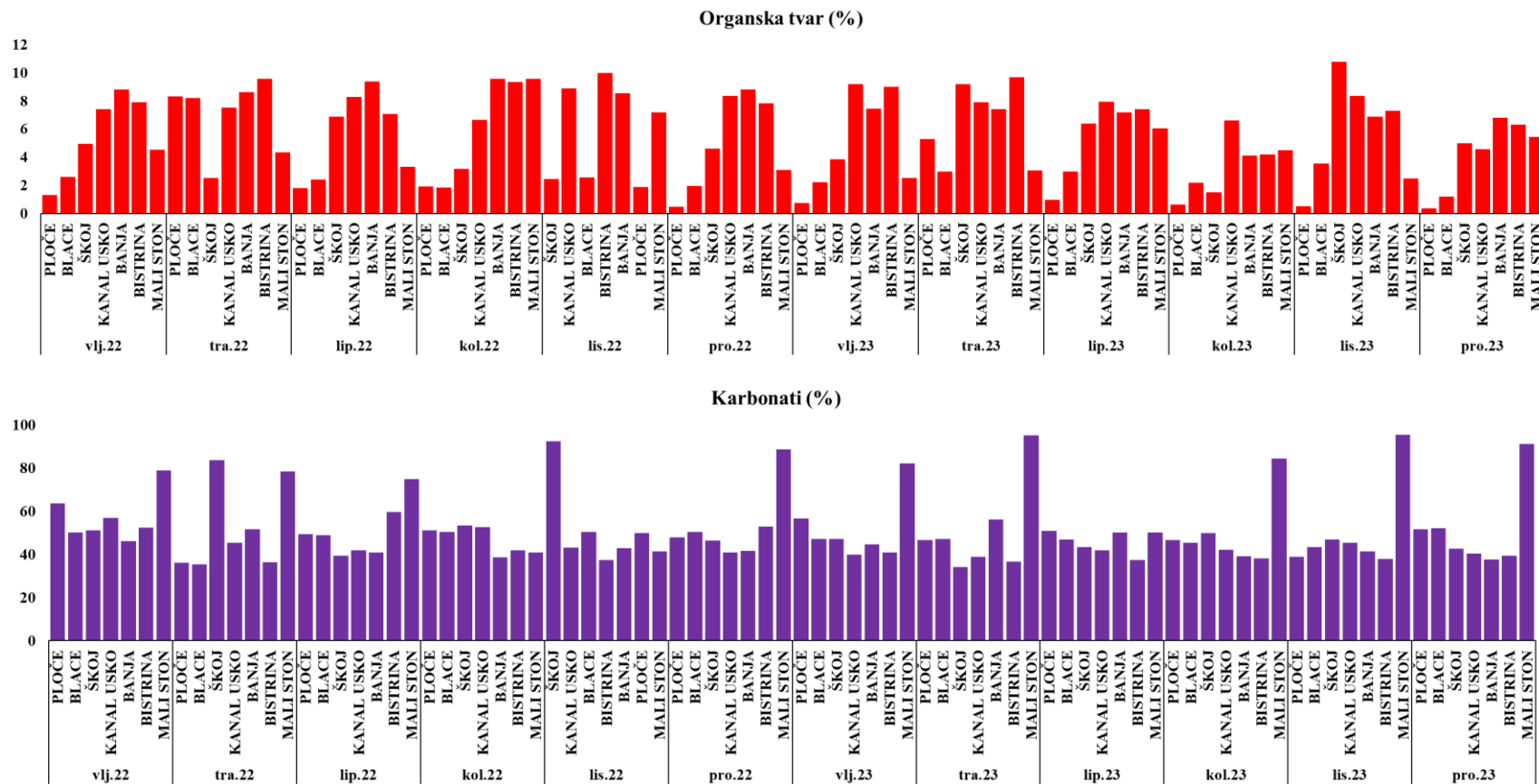
Postaja	Organska tvar (%)	Karbonati (%)
Ploče	0,37 – 8,34 (2,08)	36,24 – 92,38 (52,66)
Blace	1,19 – 8,89 (3,42)	35,39 – 52,18 (46,69)
Škoj	1,51 – 10,78 (5,13)	34,07 – 83,71 (49,02)
Kanal Usko	4,57 – 10,00 (7,74)	37,42 – 56,85 (43,62)
Banja	4,12 – 9,56 (7,80)	37,59 – 56,22 (44,25)

Bistrina	1,90 – 9,69 (7,30)	36,24 – 59,56 (43,59)
Mali Ston	2,49 – 9,58 (4,68)	40,76 – 95,51 (75,13)

Tablica 23. Rasponi i prosječni sezonski udjeli organske tvari i karbonata u površinskom sedimentu po područjima.

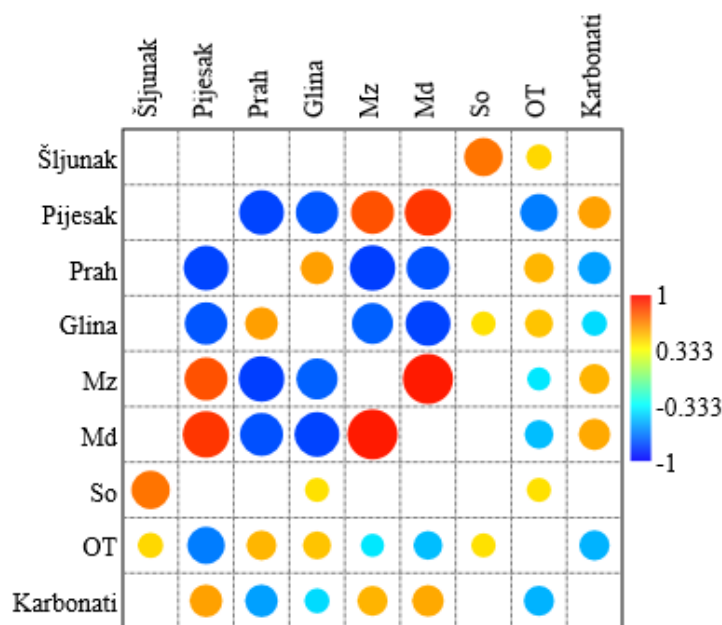
Područje	Sezona	Organska tvar (%)	Karbonati (%)
Ušće	Zima	0,37 – 5,00 (2,45)	42,71 – 63,58 (50,57)
Neretve	Proljeće	2,52 – 9,19 (6,09)	34,07 – 83,71 (47,17)
	Ljeto	0,64 – 6,89 (2,73)	39,32 – 53,29 (47,95)
	Jesen	0,53 – 10,78 (4,80)	38,95 – 92,38 (52,52)
Malostonski zaljev	Zima	2,54 – 9,18 (6,76)	37,59 – 91,02 (54,62)
	Proljeće	3,06 – 9,69 (7,27)	36,24 – 95,24 (54,87)
	Ljeto	3,31 – 9,58 (6,95)	37,40 – 84,48 (48,39)
	Jesen	1,90 – 10,00 (6,58)	37,42 – 95,51 (49,00)

Prostorna i sezonska raspodjela udjela organske tvari i karbonata prikazane su na Slici 53.



Slika 53. Prostorna i sezonska raspodjela udjela organske tvari i karbonata (%) u površinskim sedimentima.

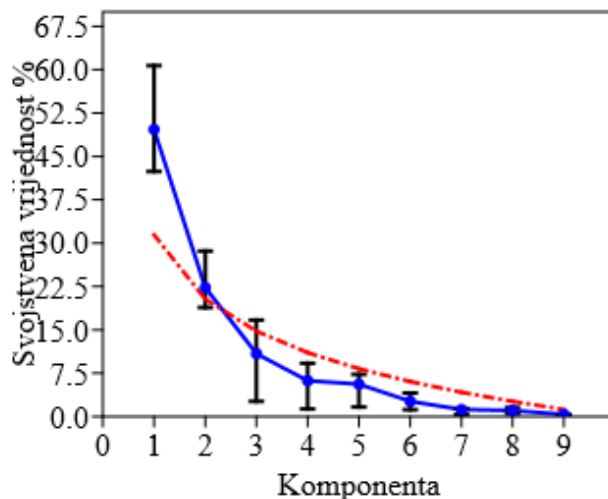
Spearmanova korelacijska analiza pokazala je statistički značajne povezanosti organske tvari i karbonata s pojedinim veličinskim frakcijama i granulometrijskim parametrima (slika 54). Organska tvar pokazala je pozitivnu korelaciju sa sitnozrnatim frakcijama, prahom ($\rho = 0,52$; $p = 1,16 \times 10^{-5}$) i glinom ($\rho = 0,49$; $p = 8,52 \times 10^{-5}$), kao i s parametrom So ($\rho = 0,41$; $p = 3,35 \times 10^{-3}$) i udjelom šljunka ($\rho = 0,44$; $p = 1,25 \times 10^{-3}$). Istodobno, organska tvar bila je negativno povezana s udjelom pijeska ($\rho = -0,67$; $p = 7,94 \times 10^{-11}$) te parametrima Mz ($\rho = -0,39$; $p = 7,53 \times 10^{-3}$) i Md ($\rho = -0,50$; $p = 3,66 \times 10^{-5}$). Udjeli karbonata pokazali su suprotan obrazac, pozitivnu korelaciju s udjelom pijeska ($\rho = 0,58$; $p = 2,64 \times 10^{-7}$), Mz ($\rho = 0,53$; $p = 8,52 \times 10^{-6}$) i Md ($\rho = 0,56$; $p = 1,15 \times 10^{-6}$), te negativnu korelaciju sa prahom ($\rho = -0,58$; $p = 2,49 \times 10^{-7}$), glinom ($\rho = -0,42$; $p = 1,75 \times 10^{-3}$) i organskom tvari ($\rho = -0,54$; $p = 6,78 \times 10^{-6}$).



Slika 54. Spearmanova korelacijska matrica između granulometrijskih parametara (Mz, Md, So), veličinskih frakcija (šljunak, pijesak, prah i glina), organske tvari (OT) i karbonata u površinskom sedimentu.

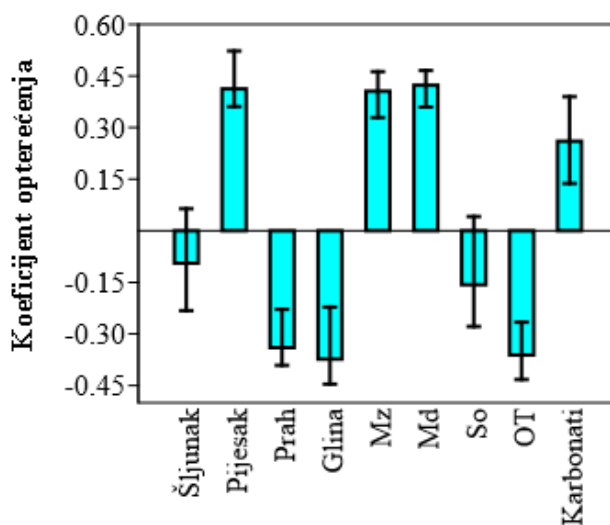
Test normalnosti (Shapiro-Wilk) potvrdio je statistički značajna odstupanja od normalne raspodjele za obje analizirane varijable, organsku tvar ($W = 0,90$; $p = 1,11 \times 10^{-5}$) i karbonate ($W = 0,86$; $p = 2,78 \times 10^{-7}$). Stoga su u daljnjoj analizi primijenjene neparametrijske statističke metode. Analiza PERMANOVA pokazala je statistički značajne razlike u sastavu površinskog sedimenta između Malostonskog zaljeva i područja ušća rijeke Neretve ($F = 17,14$; $p = 1,00 \times 10^{-4}$), dok sezonske

razlike nisu bile statistički značajne. Dobiveni rezultati potvrđeni su PCA analizom. Prema kriteriju modela slomljene palice (slika 55), zadržane su prve dvije komponente, koje zajedno objašnjavaju 71,95 % ukupne varijance (PC1 = 49,67 %; PC2 = 22,28 %).

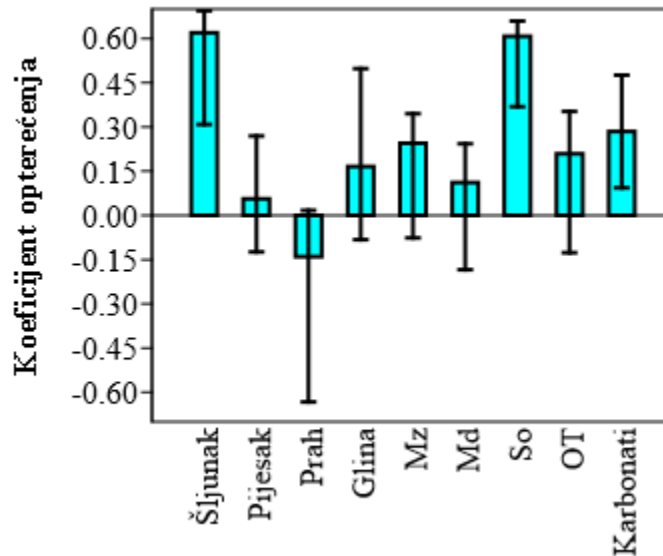


Slika 55. Dijagram glavnih komponenti (veličinske frakcije, organska tvar i karbonati) uz usporedbu s modelom slomljene palice.

Komponentu PC1 karakteriziraju pozitivna opterećenja pijeska, parametara Mz i Md te karbonata, dok su prah, glina i organska tvar negativno povezani s tom komponentom (slika 56). Komponentu PC2 ponajprije određuju pozitivna opterećenja šljunka i parametra So (slika 57).



Slika 56. Opterećenja veličinskih frakcija sedimenta, organske tvar i karbonata na komponenti PC1.

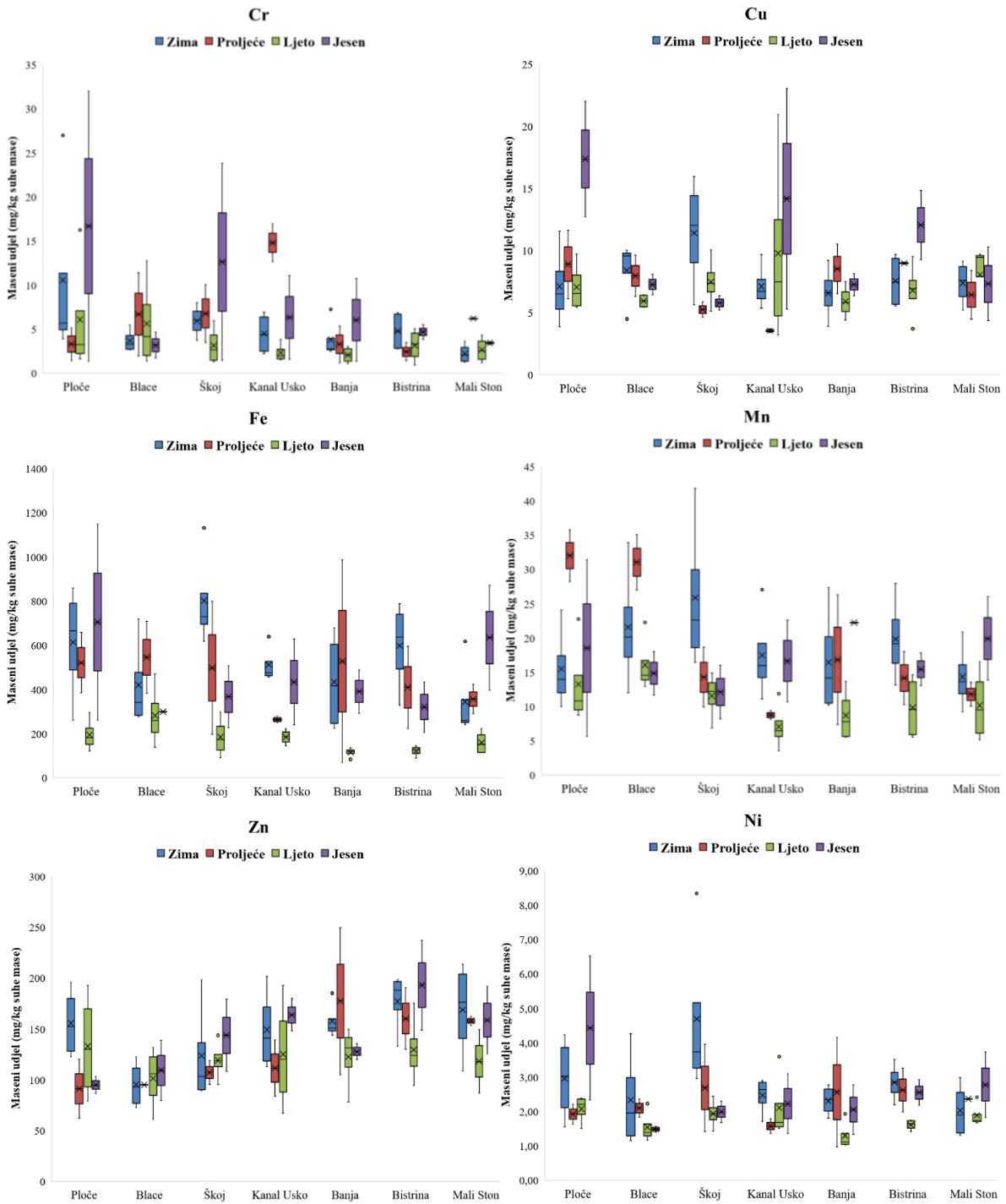


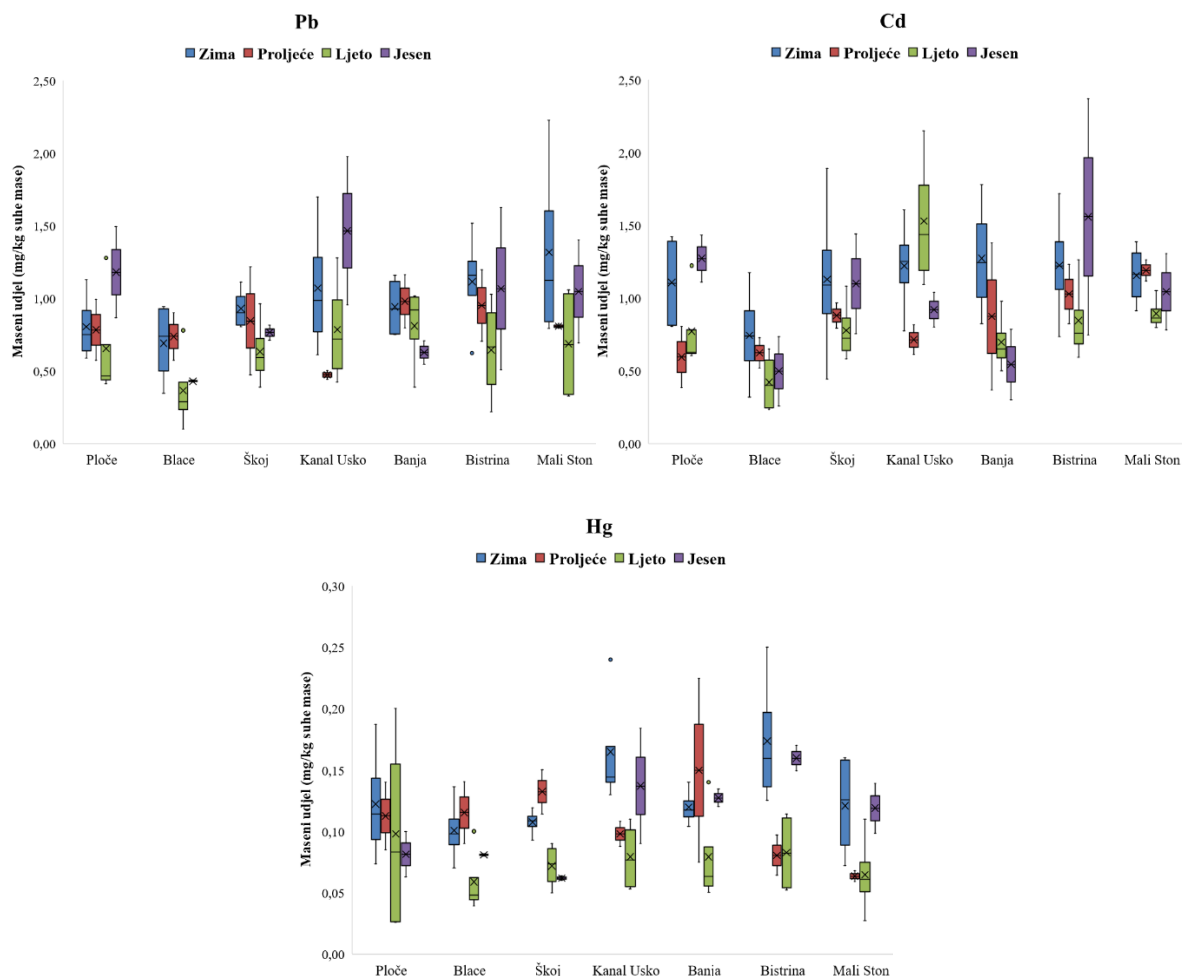
Slika 57. Opterećenja veličinskih frakcija sedimenta, organske tvar i karbonata na komponenti PC2.

4.2. Prostorno-sezonska raspodjela metala

4.2.1. Školjkaši

Maseni udjeli analiziranih metala određeni su u uzorcima mekog tkiva dagnji iz prirodnih populacija s područja ušća rijeke Neretve te u uzorcima uzgojnih populacija iz Malostonskog zaljeva. U području ušća rijeke Neretve utvrđeni su viši maseni udjeli Cr, Cu, Fe, Mn i Ni, dok su u Malostonskom zaljevu viši maseni udjeli Zn, Pb, Cd i Hg (slika 58). Najizraženija razlika između istraživanih područja utvrđena je za Cr, čiji je maseni udio u uzorcima s područja ušća rijeke Neretve bio za 47,40 % viši nego u uzorcima iz Malostonskog zaljeva. U Malostonskom zaljevu najviši maseni udio Cr utvrđen je na postaji Kanal Usko, a u području ušća rijeke Neretve na postaji Ploče.





Slika 58. Prikaz raspodjele masenih udjela metala u mekom tkivu dagnji po postajama i sezonama.

Sezonska raspodjela pokazala je da su najviši srednji maseni udjeli većine metala utvrđeni u zimskom razdoblju. To se odnosi na Fe (531,25 mg/kg), Mn (18,71 mg/kg), Zn (146,57 mg/kg), Ni (2,80 mg/kg), Pb (0,98 mg/kg), Cd (1,12 mg/kg) i Hg (0,13 mg/kg), dok su najviši srednji maseni udjeli Cr (7,55 mg/kg) i Cu (10,16 mg/kg) utvrđeni u jesenskom razdoblju. Najniži srednji maseni udjeli Cr, Fe, Mn, Zn, Ni, Pb i Hg utvrđeni su ljeti, dok su najniži srednji maseni udjeli Cu i Cd utvrđeni u proljeće.

Razlike između istraživanih područja mijenjale su se ovisno o sezoni, ali je opći prostorni obrazac uglavnom ostao sličan. U zimskom razdoblju u području ušća rijeke Neretve bili su viši maseni udjeli Cr, Cu, Fe, Mn i Ni, dok su u Malostonskom zaljevu bili viši maseni udjeli Zn, Pb, Cd i Hg, pri čemu je najizraženija razlika utvrđena za Cr (55,00 %). U proljeće su najveće razlike između istraživanih područja utvrđene za Mn (66,80 %) i Zn (43,30 %), dok su ljeti najizraženije razlike

utvrđene za Cr (64,30 %), Mn (41,50 %), Fe (41,40 %) i Cd (40,50 %). U jesenskom razdoblju najizraženije razlike zabilježene su za Cr (71,80 %) i Hg (58,00 %).

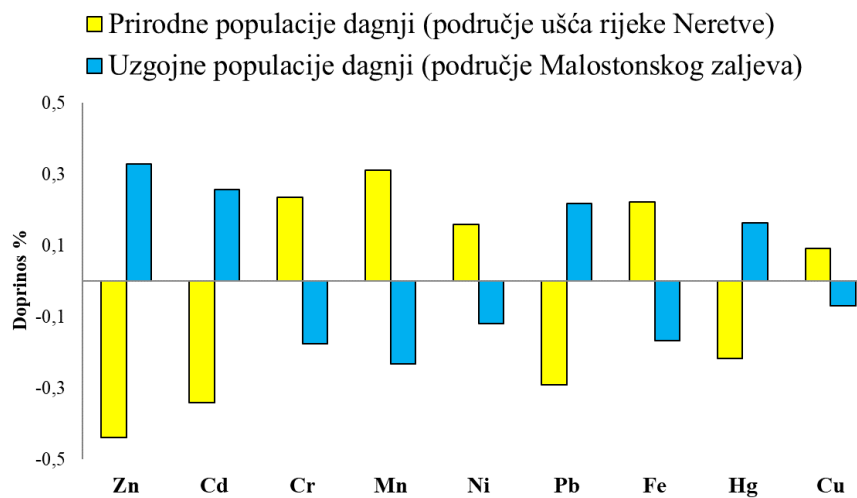
Maseni udjeli analiziranih metala razlikovali su se među postajama ovisno o sezoni, bez dosljednog izdvajanja iste postaje tijekom cijele godine. U Malostonskom zaljevu tijekom zime na postajama Kanal Usko, Banja i Bistrina utvrđeni su viši maseni udjeli Cr nego na postaji Mali Ston, dok je na postaji Bistrina utvrđen i viši maseni udio Fe. U proljeće je postaja Kanal Usko imala viši maseni udio Cr nego postaje Banja, Bistrina i Mali Ston, dok su na postajama Banja i Bistrina u odnosu na Kanal Usko utvrđeni viši maseni udjeli Cu, Fe, Mn, Ni i Pb. Na postaji Banja dodatno su utvrđeni viši maseni udjeli Zn i Hg, a na postaji Mali Ston viši maseni udjeli Ni, Pb, Cd i Hg. Ljeti su na postaji Kanal Usko utvrđeni viši maseni udjeli Cu, Fe, Ni i Cd nego na postaji Banja, viši maseni udjeli Fe i Cd nego na postaji Bistrina te viši maseni udio Cd nego na postaji Mali Ston. U jesen su na postajama Kanal Usko i Bistrina utvrđeni viši maseni udjeli Cu, Pb i Cd nego na postaji Banja, dok je na postaji Bistrina utvrđen i viši maseni udio Zn. U istom razdoblju postaja Mali Ston imala je više masene udjele Cr, Fe, Pb i Cd nego postaja Banja, dok su maseni udjeli Cr i Cu na postaji Kanal Usko bili viši nego na postaji Mali Ston.

U području ušća rijeke Neretve tijekom zime na postaji Ploče utvrđeni su viši maseni udjeli Cr i Zn nego na postaji Blace. Na postaji Škoj utvrđeni su viši maseni udjeli Fe, Ni i Cd nego na postaji Blace te viši maseni udjeli Mn i Ni nego na postaji Ploče. U proljeće su na postaji Ploče utvrđeni viši maseni udjeli Mn i Cu nego na postaji Škoj, dok je na postaji Blace utvrđen viši maseni udio Cr nego na postaji Ploče te viši maseni udjeli Mn i Cu nego na postaji Škoj. Ljeti su na postaji Ploče utvrđeni viši maseni udjeli Pb i Cd nego na postaji Blace te viši maseni udjeli Cr i Hg nego na postaji Škoj. Na postaji Blace u istom su razdoblju utvrđeni viši maseni udjeli Cr i Fe nego na postaji Škoj. U jesen su na postaji Ploče utvrđeni viši maseni udjeli Cr, Cu, Fe, Ni, Pb i Cd nego na postaji Blace te viši maseni udjeli Cu, Fe, Ni i Mn nego na postaji Škoj. Na postaji Škoj utvrđeni su viši maseni udjeli Cr i Cd nego na postaji Blace.

Utvrđene razlike u raspodjeli masenih udjela metala između istraživanih područja i sezona ispitane su multivarijantnim analizama. Shapiro-Wilk test pokazao je značajna odstupanja od normalne raspodjele za Cr, Cu, Ni i Hg. Primjenom PERMANOVA analize utvrđene su statistički značajne razlike između uzoraka prirodnih populacija dagnji s područja ušća rijeke Neretve i uzoraka uzgojnih populacija iz Malostonskog zaljeva (pseudo-F = 4,94; $p = 9,00 \times 10^{-4}$), kao i između

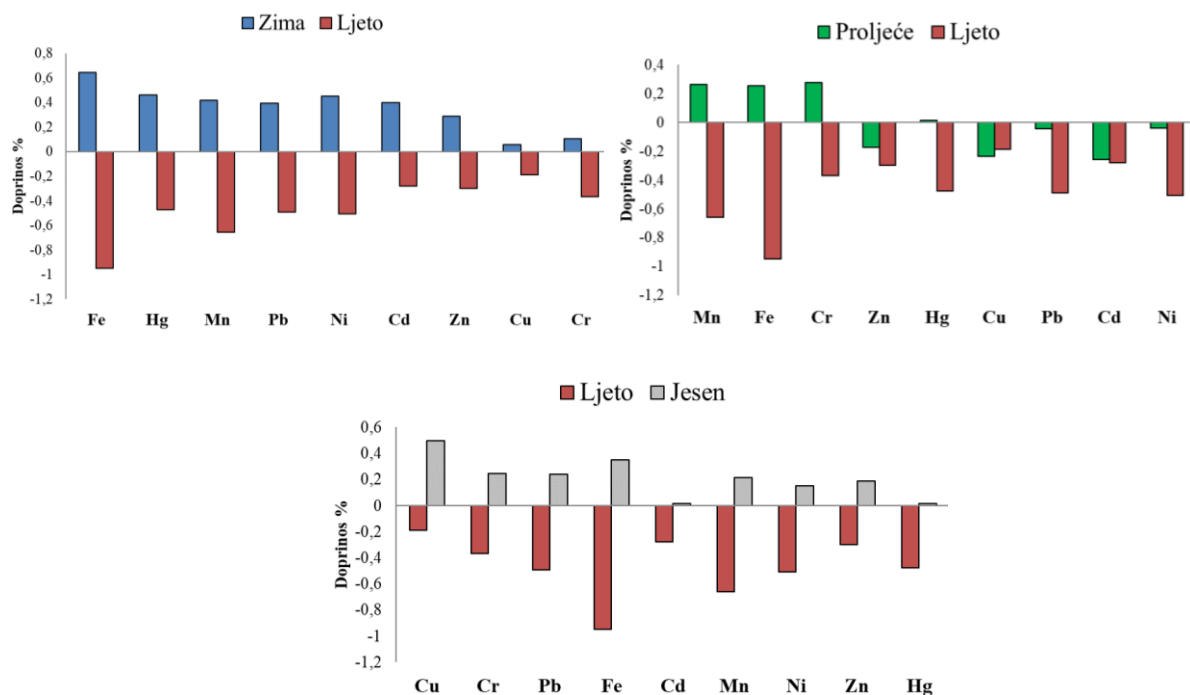
sezona (pseudo-F = 5,10; $p = 1,00 \times 10^{-3}$). Parne usporedbe pokazale su statistički značajne razlike između zime i ljeta ($p = 6,00 \times 10^{-3}$), proljeća i ljeta ($p = 7,80 \times 10^{-3}$) te ljeta i jeseni ($p = 3,00 \times 10^{-2}$).

Primjenom SIMPER analize utvrđeno je da razlikama između istraživanih područja najviše doprinose Zn, Cd, Cr, Mn i Ni. Uzorke prirodnih populacija dagnji s područja ušća rijeke Neretve karakterizirali su viši prosječni maseni udjeli Cr, Mn, Ni, Fe i Cu, dok su u uzorcima uzgojnih populacija iz Malostonskog zaljeva utvrđeni viši prosječni maseni udjeli Zn, Cd, Pb i Hg (slika 59).



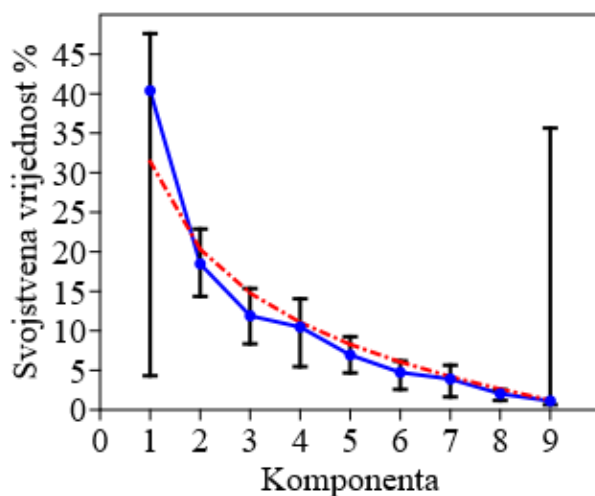
Slika 59. Relativni doprinosi pojedinih metala razlikama između uzoraka prirodnih populacija dagnji s područja ušća rijeke Neretve i uzoraka uzgojnih populacija iz Malostonskog zaljeva.

Primjenom SIMPER analize utvrđeni su metali koji najviše doprinose razlikama među sezonama (slika 60). Razlikama između zime i ljeta najviše su doprinosili Fe, Hg, Mn, Pb i Ni, čiji su maseni udjeli bili viši u zimskom razdoblju. Razlikama između proljeća i ljeta najviše su doprinosili Mn, Fe, Cr, Zn i Hg, čiji su maseni udjeli bili viši u proljetnom razdoblju. Razlikama između ljeta i jeseni najviše su doprinosili Cu, Cr, Pb, Fe i Cd, čiji su maseni udjeli bili viši u jesenskom razdoblju.



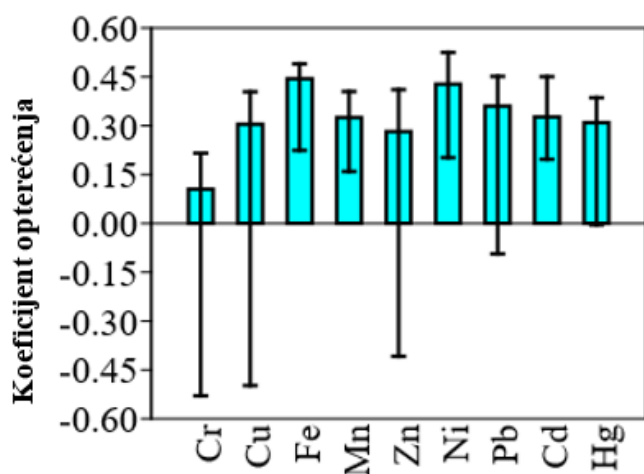
Slika 60. Relativni doprinosi pojedinih metala razlikama između sezona: zima – ljeto, proljeće – ljeto te ljeto – jesen.

Analiza glavnih komponenti provedena je radi dodatnog ispitivanja zajedničke varijabilnosti masenih udjela metala te usporedbe dobivenih rezultata s rezultatima korelacijske i multivarijantnih analiza. Prema modelu slomljene palice, samo je PC1 zadovoljila kriterij za uključivanje u interpretaciju, dok ostale komponente nisu zadovoljile taj kriterij (slika 61).

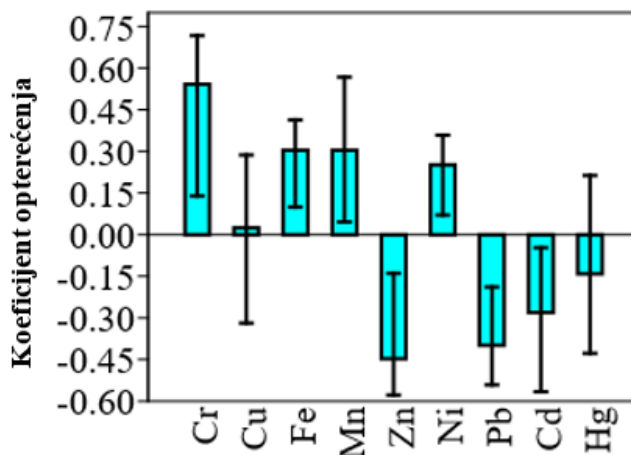


Slika 61. Dijagram glavnih komponenti za masene udjele metala u dagnjama s prikazom modela slomljene palice.

Komponenta PC1 pokazala je najviša pozitivna opterećenja za Fe, Ni, Pb, Mn i Cd (slika 62), što upućuje na njihovu zajedničku varijabilnost u analiziranim uzorcima dagnji. Komponenta PC2 pokazala je najviše pozitivno opterećenje za Cr te negativna opterećenja za Zn, Pb, Cd i Hg (slika 63). Budući da PC2 nije zadovoljila kriterij modela slomljene palice, njezine rezultate treba razmatrati samo kao dodatnu informaciju. Unatoč tome, suprotan raspored Cr u odnosu na Zn, Pb, Cd i Hg na PC2 podudara se sa smjerom razlika utvrđenih SIMPER analizom, prema kojoj su Zn, Cd, Pb i Hg bili viši u uzorcima iz Malostonskog zaljeva, dok je Cr bio viši u uzorcima s područja ušća rijeke Neretve.



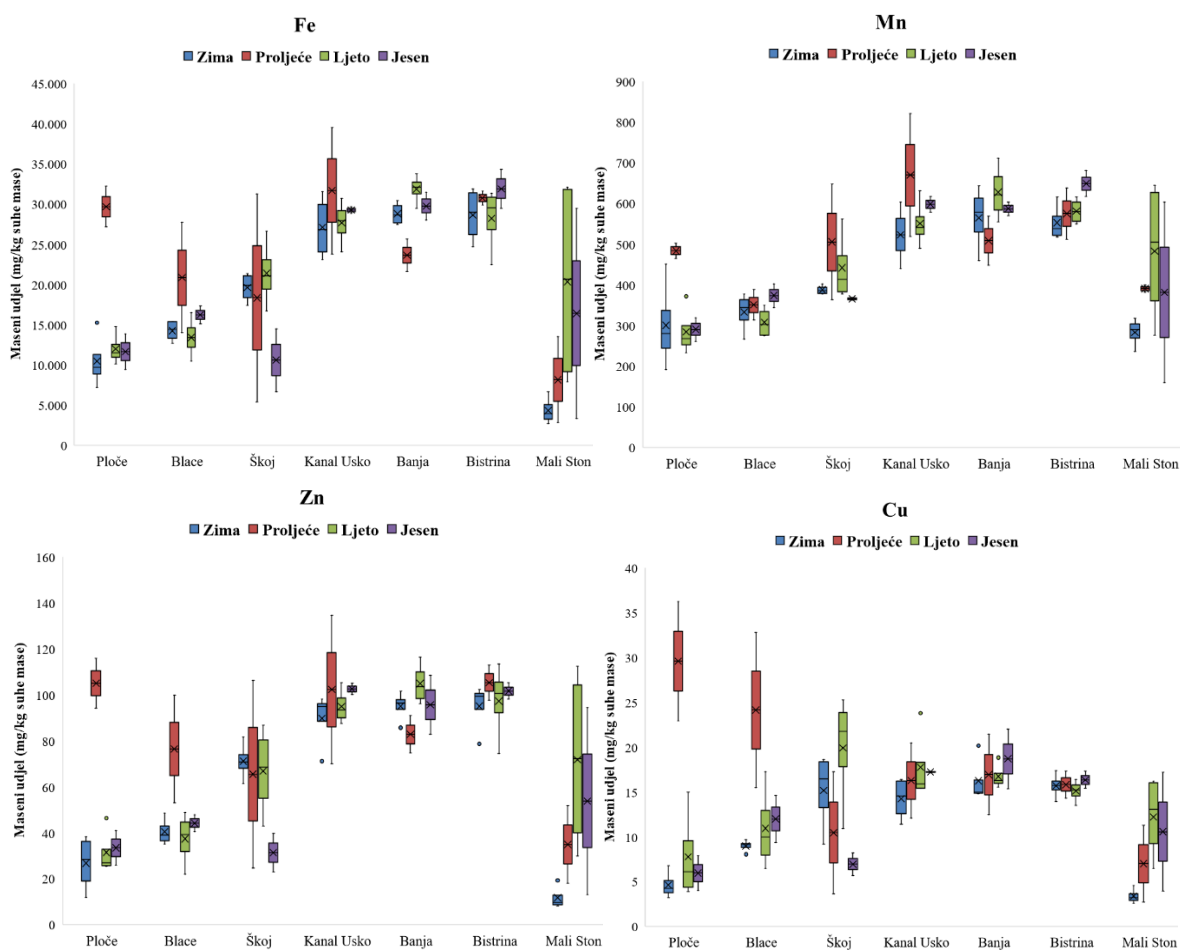
Slika 62. Opterećenja metala na komponenti PC1.

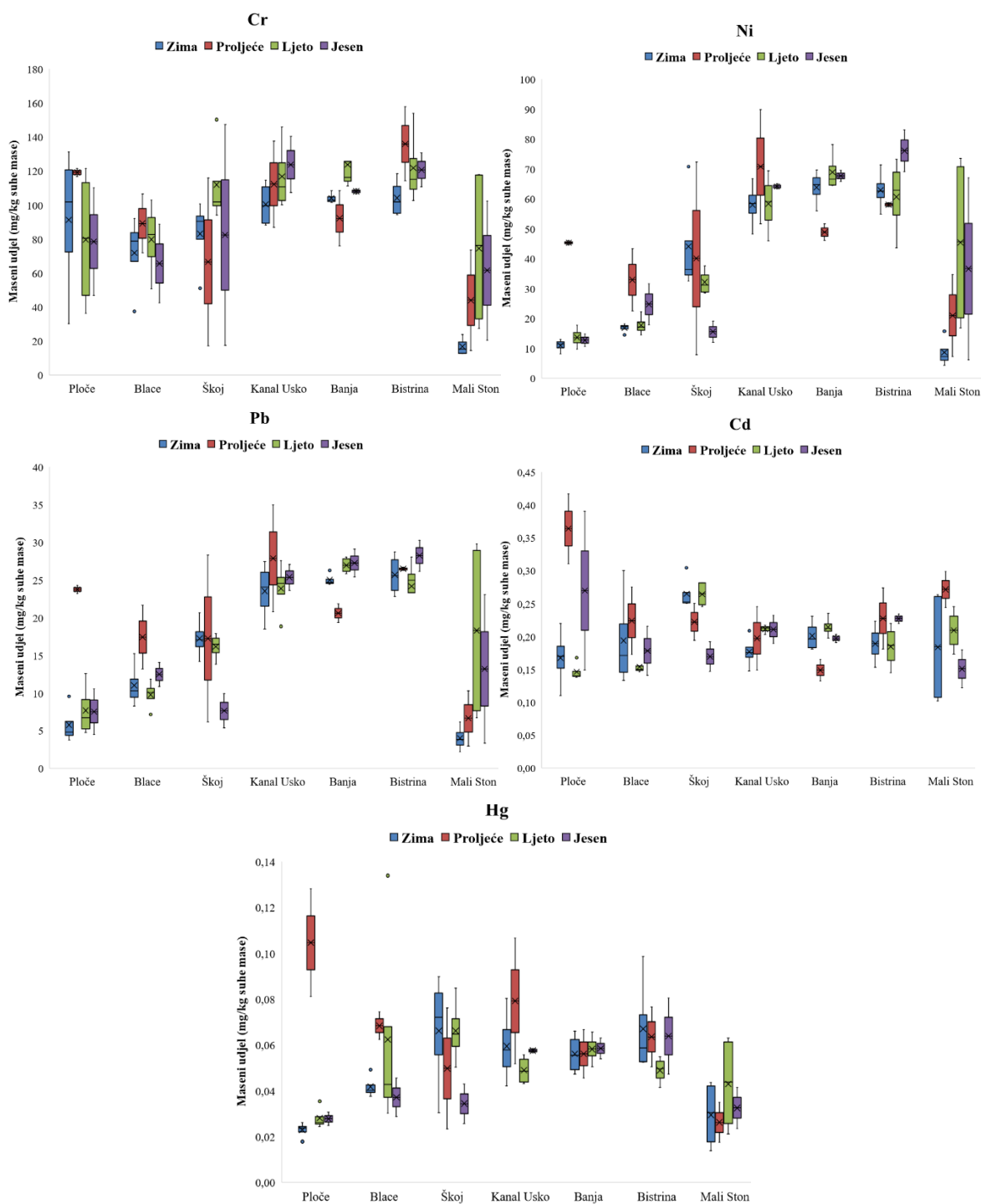


Slika 63. Opterećenja metala na komponenti PC2.

4.2.2. Sediment

Maseni udjeli analiziranih metala određeni su u uzorcima površinskog sedimenta s područja ušća rijeke Neretve i Malostonskog zaljeva. U Malostonskom zaljevu utvrđeni su viši maseni udjeli Cr, Cu, Fe, Mn, Zn, Ni, Pb i Hg, dok je u području ušća rijeke Neretve utvrđen neznatno viši maseni udio Cd (slika 64). Najizraženije razlike između istraživanih područja utvrđene su za Ni (75,00 %), Pb (55,00 %), Zn (49,70 %) i Fe (42,70 %). Unutar Malostonskog zaljeva postaje Kanal Usko, Banja i Bistrina imale su slične srednje masene udjele analiziranih metala, pri čemu razlike nisu prelazile 8,00 %. Postaja Mali Ston izdvojila se nižim masenim udjelima Cr, Cu, Fe, Mn, Zn, Ni, Pb i Hg u odnosu na ostale postaje zaljeva. Maseni udjeli Cd među postajama Malostonskog zaljeva bili su ujednačeni, s razlikama do 2,60 %. U području ušća rijeke Neretve postaja Škoj izdvojila se višim masenim udjelima Ni i Pb.





Slika 64. Prikaz raspodjele masenih udjela metala u površinskom sedimentu po postajama i sezonama.

Sezonska raspodjela masenih udjela metala pokazala je da su najviši srednji maseni udjeli Fe, Mn, Zn, Cu, Pb, Cd, Ni i Hg utvrđeni u proljetnom razdoblju, dok je najviši srednji maseni udio Cr

utvrđen ljeti. U proljeće su srednji maseni udjeli iznosili 23 300,93 mg/kg za Fe, 497,48 mg/kg za Mn, 81,71 mg/kg za Zn, 17,17 mg/kg za Cu, 19,98 mg/kg za Pb, 0,24 mg/kg za Cd, 45,26 mg/kg za Ni i 0,06 mg/kg za Hg. Ljeti je srednji maseni udio Cr iznosio 101,12 mg/kg. Najniži srednji maseni udjeli Fe, Mn, Zn, Cu, Pb, Cd, Cr i Ni utvrđeni su zimi, dok je najniži srednji maseni udio Hg utvrđen u jesen.

Razlike između istraživanih područja mijenjale su se ovisno o sezoni i metalu. Zimi su u području ušća rijeke Neretve bili viši maseni udjeli Cr i Cd, dok su u Malostonskom zaljevu bili viši maseni udjeli Cu, Fe, Mn, Zn, Ni, Pb i Hg. Najizraženije razlike utvrđene su za Ni (67,50 %), Pb (53,20 %), Zn (45,10 %) i Fe (40,20 %). U proljeće su u području ušća Neretve bili viši maseni udjeli Cu, Zn, Cd i Hg, dok su u Malostonskom zaljevu bili viši maseni udjeli Cr, Fe, Mn, Ni i Pb, uz najveću razliku za Cu (41,80 %). Ljeti je u području ušća Neretve bio viši samo maseni udio Hg, dok su ostali analizirani metali bili viši u Malostonskom zaljevu. Najveće razlike ljeti utvrđene su za Ni (93,50 %), Pb (70,20 %), Zn (68,50 %), Fe (53,60 %) i Mn (47,70 %). U jesen je u području ušća Neretve bio viši maseni udio Cd, dok su Cr, Cu, Fe, Mn, Zn, Ni, Pb i Hg bili viši u Malostonskom zaljevu, s najizraženijim razlikama za Ni (110,30 %), Pb (87,40 %), Zn (83,60 %), Fe (70,60 %) i Cu (61,80 %).

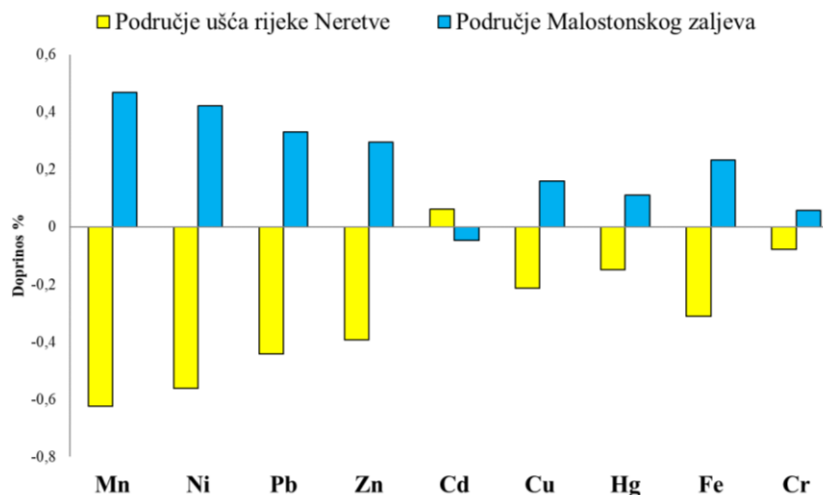
Razlike među postajama također su se razlikovale prema sezoni. U Malostonskom zaljevu zimi su na postajama Kanal Usko, Banja i Bistrina utvrđeni viši maseni udjeli Cu, Fe, Mn, Zn, Ni, Pb i Hg nego na postaji Mali Ston. U proljeće su na istim postajama utvrđeni viši maseni udjeli Cu, Fe, Zn, Ni, Pb i Hg nego na postaji Mali Ston, a na postaji Kanal Usko i viši maseni udio Mn. Maseni udjeli Cr i Cd u proljeće su bili viši na postajama Mali Ston i Bistrina nego na postaji Banja. Ljeti su na postaji Banja utvrđeni viši maseni udjeli Fe i Ni nego na postaji Mali Ston. U jesen su na postajama Kanal Usko, Banja i Bistrina utvrđeni viši maseni udjeli Cu, Fe, Mn, Zn, Ni, Pb i Hg nego na postaji Mali Ston, dok su Cr i Cd bili viši na postaji Bistrina nego na postaji Mali Ston.

U području ušća rijeke Neretve zimi su na postaji Škoj utvrđeni viši maseni udjeli Cu, Zn, Ni, Pb i Hg nego na postajama Ploče i Blace te viši maseni udjeli Cr, Fe i Cd nego na postaji Ploče. Na postaji Blace zimi su utvrđeni viši maseni udjeli Cu, Zn, Ni, Pb i Hg nego na postaji Ploče. U proljeće su na postaji Ploče utvrđeni viši maseni udjeli Cr, Cd i Hg nego na postajama Blace i Škoj te viši maseni udjeli Cu, Fe i Zn nego na postaji Škoj. Maseni udio Cu u proljeće je bio viši na postaji Blace nego na postaji Škoj. Ljeti su na postaji Škoj utvrđeni viši maseni udjeli svih

analiziranih metala nego na postaji Ploče te viši maseni udjeli Cr, Cu, Fe, Zn, Ni, Pb i Cd nego na postaji Blace. Maseni udio Hg ljeti je bio viši na postaji Blace nego na postaji Ploče. U jesen su na postaji Blace utvrđeni viši maseni udjeli Cu, Ni i Pb nego na postaji Ploče te viši maseni udjeli Cu, Fe, Ni i Pb nego na postaji Škoj. Maseni udjeli Cr i Cd u jesen su bili viši na postaji Ploče nego na postajama Blace i Škoj.

Razlike u raspodjeli masenih udjela metala između istraživanih područja ispitane su multivarijantnim analizama. Shapiro-Wilk test pokazao je odstupanja od normalne raspodjele za sve analizirane metale, čime je opravdana primjena neparametrijskih testova. PERMANOVA analiza potvrdila je statistički značajne razlike između uzoraka površinskog sedimenta iz Malostonskog zaljeva i uzoraka iz područja ušća rijeke Neretve (pseudo-F = 9,50; $p = 6,0 \times 10^{-4}$). Sezonske razlike nisu bile statistički značajne.

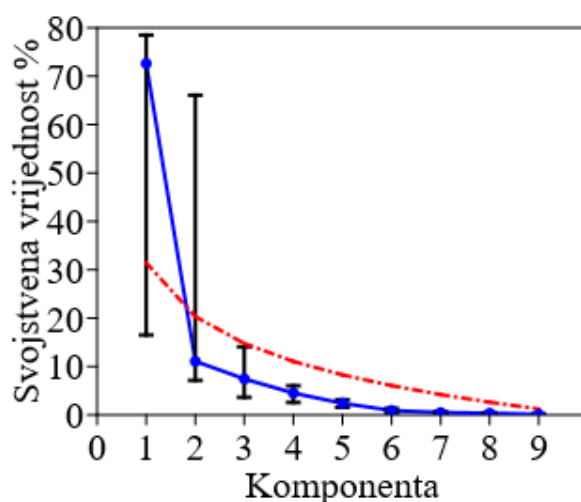
Analiza SIMPER pokazala je da razlikama između istraživanih područja najviše doprinose Mn, Ni, Pb, Zn, Cd i Cu, koji zajedno čine približno 69 % ukupnih razlika između skupina. Takav rezultat u skladu je s prostornom raspodjelom metala prikazanom na slici 64, prema kojoj su u uzorcima površinskog sedimenta iz Malostonskog zaljeva utvrđeni viši maseni udjeli Cr, Cu, Fe, Mn, Zn, Ni, Pb i Hg, dok je u području ušća rijeke Neretve utvrđen neznatno viši maseni udio Cd (slika 65).



Slika 65. Relativne razlike u masenim udjelima metala između područja Malostonskog zaljeva i ušća rijeke Neretve.

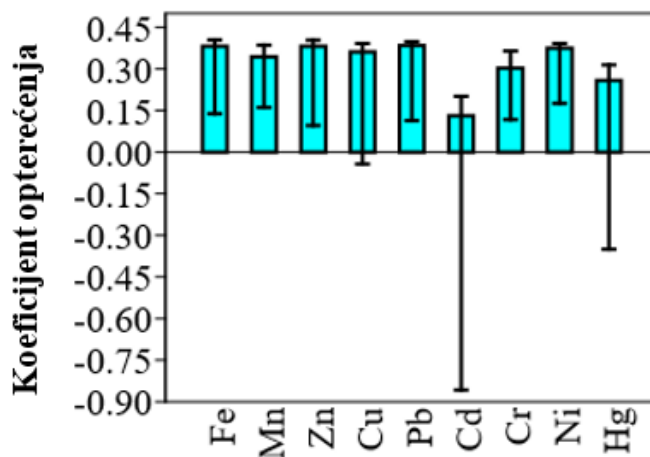
Analiza glavnih komponenti provedena je radi dodatnog ispitivanja zajedničke varijabilnosti masenih udjela metala i usporedbe dobivenih rezultata sa SIMPER analizom. Prema modelu

slomljene palice, samo je komponenta PC1 zadovoljila kriterij za uključivanje u interpretaciju, dok ostale komponente nisu zadovoljile navedeni kriterij (slika 66).

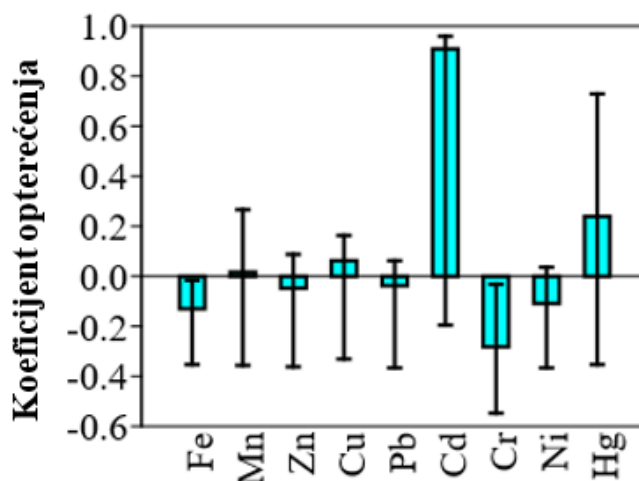


Slika 66. Dijagram glavnih komponenti za masene udjele metala u sedimentu s prikazom modela slomljene palice.

Komponenta PC1 objašnjava 75,13 % ukupne varijabilnosti i obilježena je pozitivnim opterećenjima svih analiziranih metala. Najviša pozitivna opterećenja na PC1 utvrđena su za Fe, Zn, Pb, Ni, Cu i Mn, dok je najniže opterećenje utvrđeno za Cd (slika 67). Komponenta PC2 objašnjava 10,43 % ukupne varijabilnosti i pokazuje visoko pozitivno opterećenje za Cd (slika 68). Budući da PC2 nije zadovoljila kriterij modela slomljene palice, njezine rezultate treba razmatrati samo kao dodatnu informaciju. Takav raspored opterećenja odgovara glavnoj razlici između istraživanih područja, budući da su u uzorcima površinskog sedimenta iz Malostonskog zaljeva utvrđeni viši maseni udjeli Cr, Cu, Fe, Mn, Zn, Ni, Pb i Hg. Kadmij se razlikuje od ostalih metala jer je njegov maseni udio bio neznatno viši u području ušća rijeke Neretve, ali zbog niskog opterećenja na PC1 ne određuje glavni smjer zajedničke varijabilnosti metala u sedimentu.



Slika 67. Opterećenja metala na komponenti PC1.



Slika 68. Opterećenja metala na komponenti PC2.

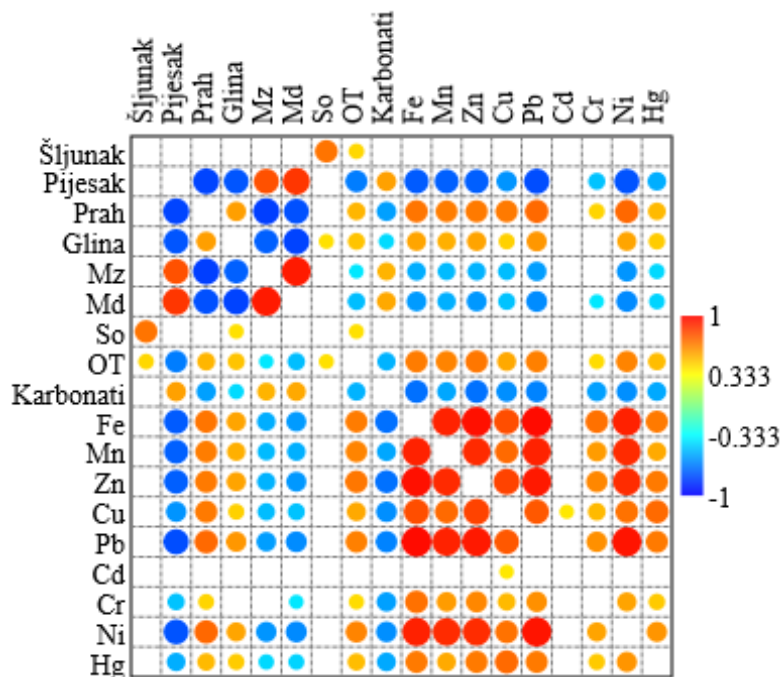
4.3. Utjecaj fizikalno-kemijskih značajki sedimenta na ukupni sadržaj metala u školjkašima i sedimentu

Spearmanova korelacijska analiza pokazala je statistički značajne povezanosti između masenih udjela metala i udjela pojedinih veličinskih frakcija sedimenta (slika 69). Svi analizirani metali, osim Cd-a, bili su značajno pozitivno korelirani s udjelom praha i organske tvari, a negativno s udjelima pijeska i karbonata. Kadmij nije pokazao statistički značajne korelacije ni s jednom analiziranom fizikalno-kemijskom značajkom sedimenta.

Statistički značajne pozitivne korelacije s udjelom gline utvrđene su za Fe, Mn, Zn, Ni, Pb, Cu i Hg. Isti su metali pokazali statistički značajne negativne korelacije s parametrima Mz i Md.

Dodatno je za Cr utvrđena statistički značajna negativna korelacija s parametrom Md. Parametar So i frakcija šljunka nisu bili statistički značajno povezani ni s jednim analiziranim metalom.

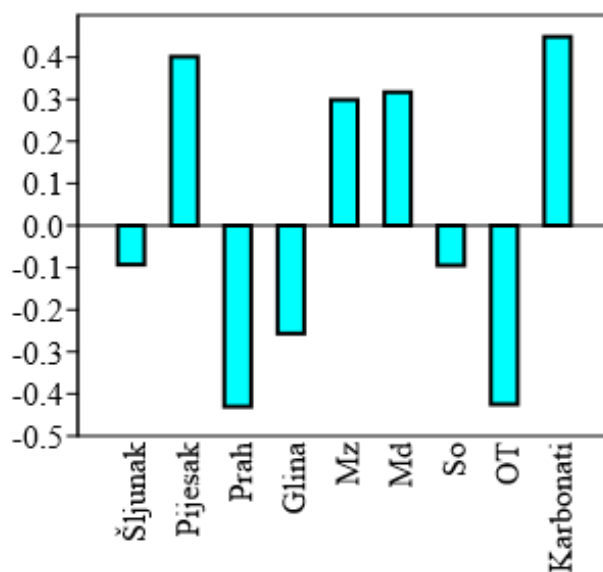
Unutar skupine metala u površinskom sedimentu utvrđene su vrlo snažne međusobne korelacije između Fe, Mn, Zn, Ni i Pb, pri čemu su Spearmanovi koeficijenti korelacije bili veći od 0,88 ($\rho > 0,88$). Krom i Cu pokazali su statistički značajne pozitivne korelacije s Fe, Mn, Zn, Pb, Ni i Hg, kao i međusobno. Živa je bila najsnažnije povezana s Cu, Pb, Zn i Fe, dok je Cd pokazao statistički značajnu korelaciju samo s Cu.



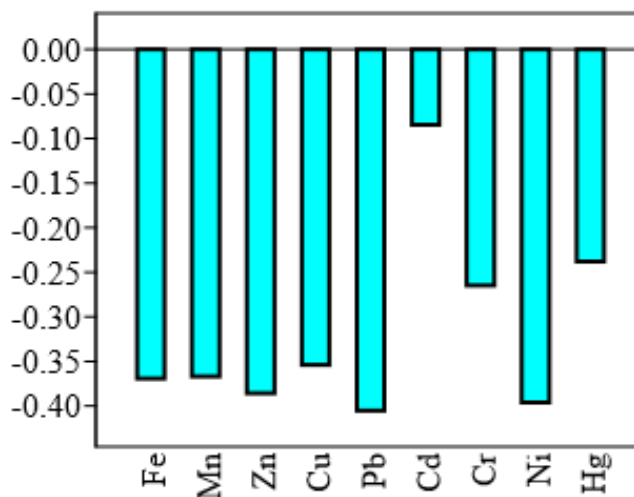
Slika 69. Spearmanova korelacijska matrica između granulometrijskih parametara (Mz, Md, So), veličinskih frakcija sedimenta (šljunak, pijesak, prah i glina), organske tvari (OT), karbonata i metala u površinskom sedimentu..

Analiza PLS provedena između fizikalno-kemijskih značajki sedimenta i masenih udjela metala (slike 70 i 71), pokazala je da su prah, glina i organska tvar povezani s višim masenim udjelima metala. Nasuprot tomu, pijesak, karbonati te parametri Mz i Md povezani su s nižim masenim udjelima metala. Takav je odnos vidljiv i iz smjera opterećenja na prvoj komponenti, koja je bila jedina statistički značajna komponenta ($p = 1,20 \times 10^{-3}$) te je objašnjavala 97,56 % ukupne kovarijance. Sitnozrnate frakcije, organska tvar i svi analizirani metali imali su negativna opterećenja, dok su pijesak, karbonati, Mz i Md imali pozitivna opterećenja, što je u skladu s

rezultatima Spearmanove korelacijske analize. Frakcija šljunka i parametar So imali su vrlo mala opterećenja, što upućuje na njihov manji doprinos ukupnoj varijabilnosti.



Slika 70. Opterećenja fizikalno-kemijskih značajki sedimenta na prvoj PLS komponenti.

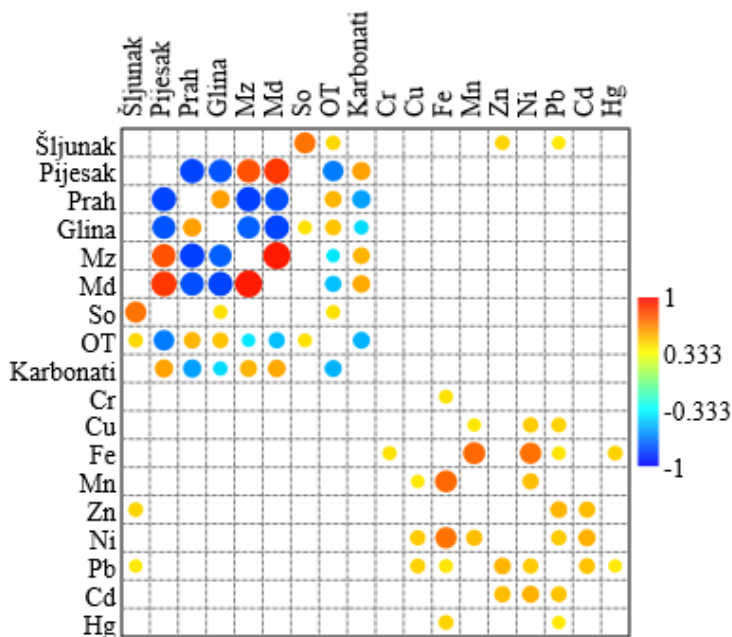


Slika 71. Opterećenja analiziranih metala u sedimentu na prvoj PLS komponenti.

Kako bi se procijenila povezanost veličinskih frakcija sedimenta, parametara raspodjele veličine zrna, organske tvari i karbonata s raspodjelom metala u sedimentu, provedena je RDA analiza. Ukupni model bio je statistički značajan ($R^2 = 0,64$; $p = 1,00 \times 10^{-3}$). Kanonička os RDA1 objasnila je najveći dio varijabilnosti (58,10 %), dok je doprinos svake od preostalih osi bio manji od 4 %. Navedeni rezultati upućuju na dominantnu interpretacijsku vrijednost osi RDA1. Na osi RDA1 svi analizirani metali, frakcije praha i gline, organska tvar te parametar So imali su pozitivne

projekcije. Među metalima su najizraženije pozitivne projekcije zabilježene za Pb, Fe, Zn, Ni, Cu i Mn. Kadmij je imao najkraću pozitivnu projekciju, što upućuje na njegovu slabiju povezanost s prahom, glinom i organskom tvari u odnosu na ostale analizirane metale. Nasuprot tomu, pijesak, karbonati te parametri Mz i Md imali su negativne projekcije na osi RDA1 i bili su povezani s nižim masenim udjelima metala u sedimentu.

Budući da su dagnje i sediment uzorkovani istodobno, na istim postajama i tijekom istih sezona, provedena je dodatna analiza kako bi se procijenila povezanost masenih udjela metala u dagnjama s fizikalno-kemijskim značajkama sedimenta. Spearmanova korelacijska analiza pokazala je da između masenih udjela metala u dagnjama i veličinskih frakcija sedimenta nisu utvrđene statistički značajne korelacije za većinu metala (slika 72). Iznimke su bili Zn i Pb, čiji su maseni udjeli u dagnjama bili pozitivno povezani s udjelom šljunka u sedimentu. Nijedan metal nije pokazao statistički značajnu korelaciju s udjelima organske tvari ili karbonata u sedimentu. Unutar skupine metala u dagnjama izdvojila se skupina koju su činili Fe, Mn i Ni, čiji su maseni udjeli bili međusobno pozitivno povezani. Maseni udjeli Ni bili su pozitivno povezani s masenim udjelima Fe, Mn, Cu, Pb i Cd. Pozitivne korelacije utvrđene su i između Pb i Cu, Fe, Zn, Ni, Cd i Hg te između Cd i Zn, Ni i Pb. Za Cu su utvrđene pozitivne korelacije s Mn, Ni i Pb, za Cr samo s Fe, a za Hg s Fe i Pb.



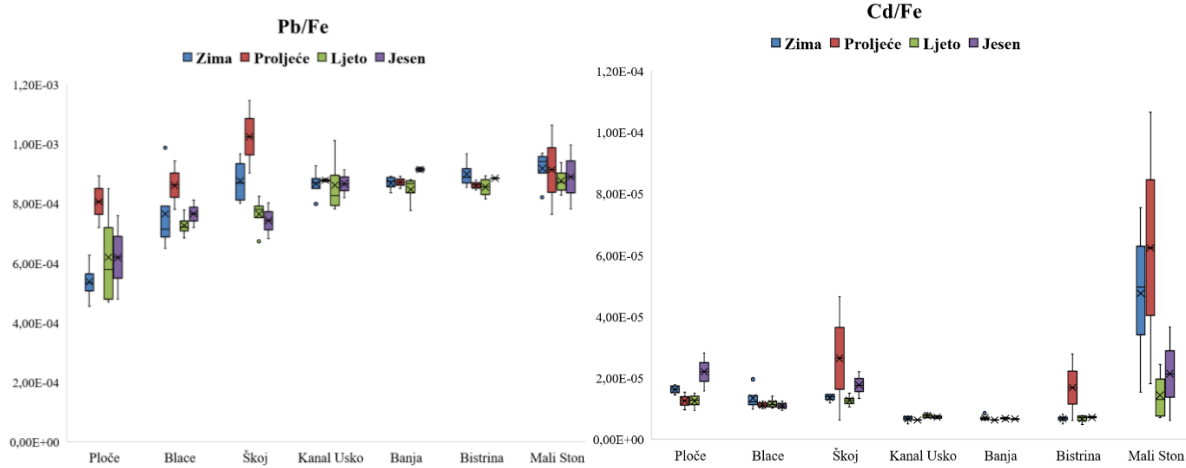
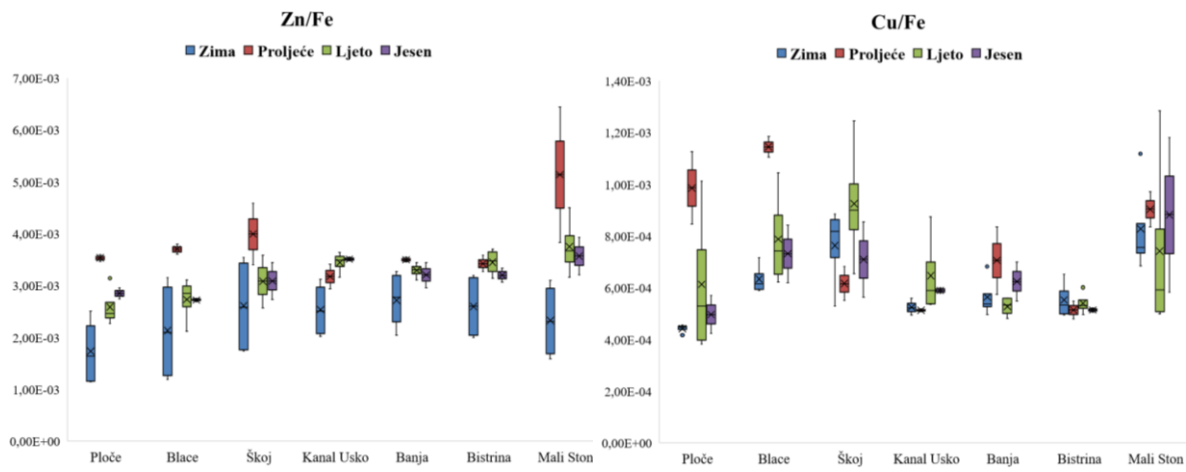
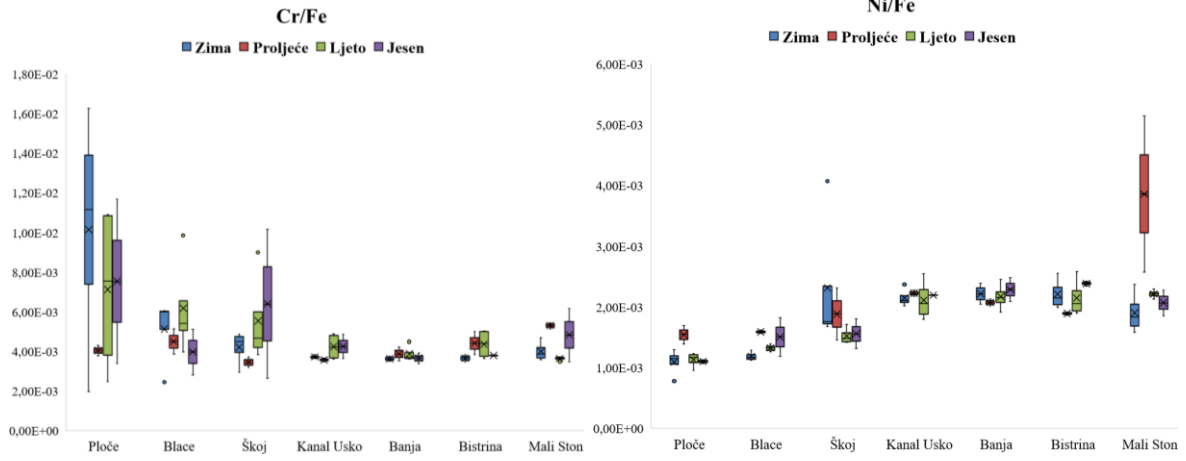
Slika 72. Spearmanova korelacijska matrica između metala u dagnjama i fizikalno-kemijskih značajki sedimenta.

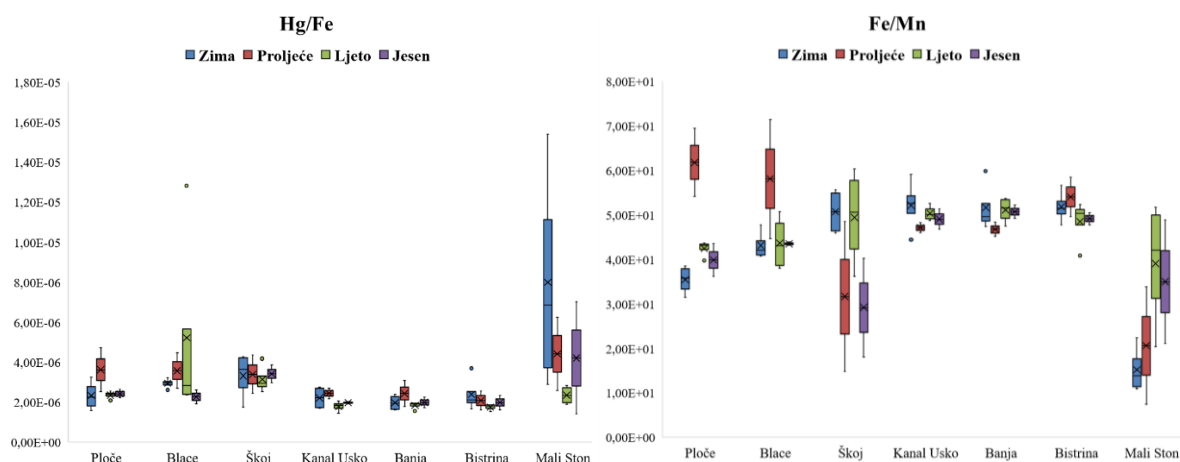
Kako bi se dodatno procijenila povezanost sastava sedimenta prema veličini zrna sa sastavom metala u dagnjama, provedene su RDA i PLS analize. Redundancijska analiza pokazala je da je ukupni model statistički značajan ($R^2 = 0,16$; $p = 3,00 \times 10^{-2}$), iako je RDA1 objasnila samo 8,13 % varijance. Takav rezultat upućuje na statistički značajnu, ali slabu povezanost fizikalno-kemijskih značajki sedimenta s masenim udjelima metala u dagnjama. Za razliku od RDA analize, PLS analiza nije pokazala ukupnu statističku značajnost.

4.4. Omjeri metala normalizirani na Fe kao pokazatelji raspodjele metala i geokemijskih procesa u sedimentima

Omjeri masenih udjela metala i Fe (Cr/Fe, Ni/Fe, Zn/Fe, Cu/Fe, Pb/Fe, Cd/Fe i Hg/Fe) te omjer Fe/Mn određeni su u uzorcima površinskog sedimenta s područja Malostonskog zaljeva i ušća rijeke Neretve (slika 73 i tablica 24). U Malostonskom zaljevu utvrđeni su viši omjeri Ni/Fe, Zn/Fe i Pb/Fe, dok su u području ušća rijeke Neretve zabilježeni viši omjeri Cr/Fe, Cu/Fe i Hg/Fe. Omjeri Cd/Fe i Fe/Mn bili su vrlo slični u oba istraživana područja, pri čemu su razlike iznosile 1,99 % za Cd/Fe i 1,28 % za Fe/Mn. Najizraženije razlike između istraživanih područja utvrđene su za omjere Cr/Fe i Ni/Fe te su iznosile 38,82 %.

U Malostonskom zaljevu postaje Kanal Usko, Banja i Bistrina pokazale su međusobno slične omjere svih analiziranih metala, a razlike između navedenih postaja nisu prelazile 22,45 %. Postaja Mali Ston izdvajala se u odnosu na ostale postaje Malostonskog zaljeva višim omjerima Cd/Fe, Cu/Fe i Hg/Fe te nižim omjerom Fe/Mn. Razlike su iznosile od 121,47 % do 134,74 % za Cd/Fe, od 81,13 % do 83,83 % za Hg/Fe, od 33,56 % do 42,05 % za Cu/Fe te od 58,95 % do 59,78 % za Fe/Mn. U području ušća rijeke Neretve postaja Škoj izdvajala se višim omjerom Ni/Fe u odnosu na postaju Ploče, dok je na postaji Ploče utvrđen viši omjer Cr/Fe. Razlike između navedenih postaja za Cr/Fe i Ni/Fe nisu prelazile 44,53 %.





Slika 73. Prostorna raspodjela omjera metala Cr, Ni, Zn, Cu, Pb, Cd i Hg normaliziranih na Fe te omjera Fe/Mn u površinskim sedimentima.

Tablica 24. Rasponi i srednji omjeri metala normaliziranih na Fe te omjera Fe/Mn po postajama.

Područje	Postaja	Cr/Fe ($\times 10^3$)	Ni/Fe ($\times 10^3$)	Zn/Fe ($\times 10^3$)	Cu/Fe ($\times 10^3$)	Pb/Fe ($\times 10^3$)	Cd/Fe ($\times 10^3$)	Hg/Fe ($\times 10^5$)	Fe/Mn
Ušće rijeke Neretve	Ploče	1,97 –	0,77 –	1,64 –	0,38 –	0,45 –	0,01 –	0,16 –	31,44
		16,26 (7,67)	1,69 (1,18)	3,78 (2,76)	1,13 (0,60)	0,89 (0,62)	0,03 (0,02)	0,47 (0,26)	– 69,36 (42,84)
Ušće rijeke Neretve	Blace	2,43 –	1,12 –	2,11 –	0,59 –	0,65 –	0,01 –	0,19 –	38,01
		9,85 (5,17)	1,82 (1,35)	3,80 (2,93)	1,18 (0,79)	0,99 (0,77)	0,02 (0,01)	1,28 (0,37)	– 71,43 (45,83)
Ušće rijeke Neretve	Škoj	2,63 –	1,31 –	2,57 –	0,53 –	0,67 –	0,01 –	0,17 –	14,81
		10,14 (4,88)	4,07 (1,85)	4,58 (3,41)	1,25 (0,78)	1,15 (0,84)	0,05 (0,02)	0,43 (0,33)	– 60,31 (43,47)
Malostonski zaljev	Kanal	3,48 –	1,79 –	2,92 –	0,49 –	0,78 –	0,01 –	0,14 –	44,34
	Usko	4,89 (3,95)	2,55 (2,15)	4,13 (3,37)	0,87 (0,57)	1,01 (0,87)	0,01 (0,01)	0,27 (0,21)	– 59,00 (50,13)

Malostonski zaljev	Banja	3,38 –	1,92 –	2,96 –	0,48 –	0,78 –	0,01 –	0,16 –	45,11
		4,48	2,48	3,66	0,84	0,92	0,01	0,31	–
		(3,75)	(2,19)	(3,31)	(0,58)	(0,87)	(0,01)	(0,20)	59,80 (50,42)
Malostonski zaljev	Bistrina	3,46 –	1,86 –	3,06 –	0,48 –	0,82 –	0,00 –	0,15 –	40,83
		5,01	2,58	3,84	0,65	0,97	0,03	0,37	–
		(4,03)	(2,16)	(3,36)	(0,54)	(0,88)	(0,01)	(0,20)	58,39 (50,58)
Malostonski zaljev	Mali Ston	3,48 –	1,58 –	1,82 –	0,50 –	0,76 –	0,01 –	0,14 –	7,37 –
		6,16	2,58	6,44	1,28	1,06	0,11	1,54	51,65
		(4,22)	(2,14)	(3,62)	(0,82)	(0,90)	(0,03)	(0,49)	(27,30)

Sezonska raspodjela omjera metala (slika 73 i tablica 25) razlikovala se ovisno o istraživanom području, sezoni i analiziranom omjeru. U Malostonskom zaljevu tijekom svih sezona utvrđeni su viši omjeri Ni/Fe i Zn/Fe. Omjer Pb/Fe bio je viši u Malostonskom zaljevu tijekom zime, ljeta i jeseni, dok je u proljeće viši omjer zabilježen u području ušća rijeke Neretve. Viši omjeri Cu/Fe u području ušća rijeke Neretve utvrđeni su u proljeće i ljeto; zimi je viši omjer utvrđen u Malostonskom zaljevu, dok su u jesen srednji omjeri Cu/Fe u oba područja bili jednaki. Za Cr/Fe su viši omjeri u području ušća rijeke Neretve utvrđeni tijekom zime, ljeta i jeseni, dok je u proljeće viši omjer utvrđen u Malostonskom zaljevu. Omjer Cd/Fe bio je viši u Malostonskom zaljevu zimi i u proljeće, a u području ušća rijeke Neretve ljeti i u jesen. Omjer Hg/Fe bio je viši u području ušća rijeke Neretve u proljeće, ljeto i jesen, a u Malostonskom zaljevu zimi. Omjer Fe/Mn bio je gotovo jednak između područja zimi, malo viši u Malostonskom zaljevu ljeti, viši u području ušća rijeke Neretve u proljeće te viši u Malostonskom zaljevu u jesen. Najizraženije sezonske razlike između istraživanih područja utvrđene su za Cr/Fe zimi, do 53,60 %, te za Hg/Fe i Ni/Fe ljeti, do 59,90 % odnosno 48,10 %.

U Malostonskom zaljevu najveće razlike među postajama utvrđene su između Malog Stona i ostalih postaja zaljeva, osobito tijekom zime i proljeća. Zimi su na postaji Mali Ston utvrđeni viši omjeri Cd/Fe, Hg/Fe i Cu/Fe te niži omjer Fe/Mn. Najveće razlike za Cd/Fe, Fe/Mn i Cu/Fe utvrđene su u odnosu na postaju Kanal Usko te su iznosile 151,10 %, 109,80 % odnosno 44,90 %, dok je za Hg/Fe najveća razlika utvrđena u odnosu na postaju Banja i iznosila je 121,10 %. U proljeće su na postaji Mali Ston utvrđeni viši omjeri Cd/Fe, Hg/Fe, Cu/Fe i Zn/Fe te niži omjer

Fe/Mn. Najveće razlike za Cd/Fe, Cu/Fe i Zn/Fe utvrđene su u odnosu na postaju Kanal Usko te su iznosile 163,60 %, 55,30 % odnosno 47,30 %. Za Hg/Fe i Fe/Mn najveće razlike utvrđene su u odnosu na postaju Bistrina te su iznosile 71,90 % odnosno 89,70 %. U jesen su na postaji Mali Ston zabilježeni viši omjeri Cd/Fe i Hg/Fe te niži omjer Fe/Mn u odnosu na ostale postaje zaljeva. Razlike su iznosile do 105,00 % za Cd/Fe, 72,60 % za Hg/Fe i 36,80 % za Fe/Mn. Tijekom ljeta najveća razlika utvrđena je za Cd/Fe i iznosila je do 73,30 %.

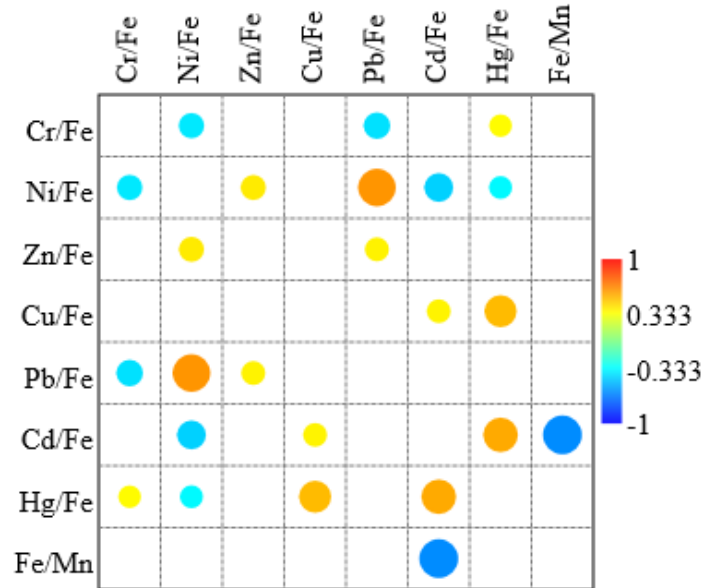
U području ušća rijeke Neretve tijekom zime najveće razlike između postaja Ploče i Škoj utvrđene su za Cr/Fe, Ni/Fe, Cu/Fe i Pb/Fe te su iznosile do 82,90 %, 71,80 %, 53,40 % odnosno 48,00 %. Na postaji Škoj utvrđeni su viši omjeri Ni/Fe, Cu/Fe i Pb/Fe, dok je na postaji Ploče zabilježen viši omjer Cr/Fe. Između postaja Blace i Škoj razlika za Ni/Fe iznosila je do 64,70 %, s višim omjerom na postaji Škoj. U proljeće su najveće razlike za Cd/Fe i Cu/Fe utvrđene između postaja Blace i Škoj te su iznosile do 81,10 % odnosno 60,10 %. Omjer Cd/Fe bio je viši na postaji Škoj, dok je omjer Cu/Fe bio viši na postaji Blace. Za Fe/Mn najveća razlika utvrđena je između postaja Ploče i Škoj i iznosila je do 64,60 %, s višim omjerom na postaji Ploče. Tijekom ljeta najveće razlike odnosile su se na Hg/Fe i Cu/Fe. Omjer Hg/Fe bio je viši na postaji Blace nego na postajama Ploče i Škoj, uz razlike do 75,90 % odnosno 49,60 %. Za Cu/Fe je između postaja Ploče i Škoj utvrđena razlika do 40,50 %, s višim omjerom na postaji Škoj. U jesen su između postaja Ploče i Blace najveće razlike utvrđene za Cd/Fe i Cr/Fe te su iznosile do 67,40 % odnosno 62,10 %, s višim omjerima na postaji Ploče. Između postaja Blace i Škoj najveće razlike utvrđene su za Cd/Fe i Hg/Fe, do 47,40 % odnosno 40,50 %, s višim omjerima na postaji Škoj.

Tablica 25. Rasponi i srednji omjeri metala normaliziranih na Fe te omjera Fe/Mn po sezonama.

Područje	Sezona	Cr/Fe	Ni/Fe	Zn/Fe	Cu/Fe	Pb/Fe	Cd/Fe	Hg/Fe	Fe/Mn
		($\times 10^3$)	($\times 10^3$)	($\times 10^3$)	($\times 10^3$)	($\times 10^3$)	($\times 10^5$)	($\times 10^5$)	
Ušće rijeke Neretve	Proljeće	3,44 –	1,54 –	3,53 –	0,62 –	0,81 –	1,11 –	0,34 –	31,59 –
		4,49 (3,99)	1,88 (1,67)	3,99 (3,74)	1,14 (0,91)	1,02 (0,90)	2,63 (1,67)	0,36 (0,35)	61,71 (50,45)
	Ljeto	5,53 –	1,12 –	2,58 –	0,61 –	0,62 –	1,17 –	0,23 –	42,40 –
		7,11 (6,27)	1,52 (1,32)	3,08 (2,80)	0,92 (0,77)	0,76 (0,70)	1,26 (1,23)	0,52 (0,36)	49,37 (45,14)

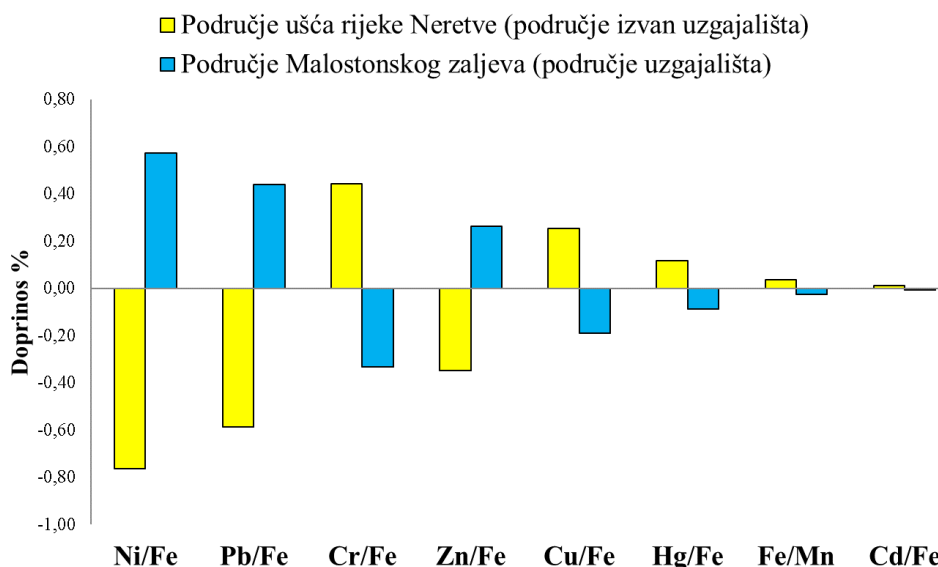
	Jesen	3,96 – 7,53 (5,96)	1,10 – 1,56 (1,39)	2,72 – 3,09 (2,88)	0,50 – 0,73 (0,65)	0,62 – 0,77 (0,71)	1,09 – 2,19 (1,68)	0,23 – 0,34 (0,27)	29,12 – 43,46 (37,47)
	Zima	4,19 – 10,13 (6,48)	1,09 – 2,31 (1,53)	2,51 – 3,62 (2,99)	0,44 – 0,76 (0,61)	0,54 – 0,88 (0,73)	1,34 – 1,62 (1,44)	0,23 – 0,33 (0,29)	35,35 – 50,68 (43,04)
Malostonski zaljev	Proljeće	3,56 – 5,29 (4,28)	1,89 – 2,57 (2,19)	3,17 – 5,13 (3,81)	0,51 – 0,90 (0,66)	0,86 – 0,91 (0,88)	0,62 – 6,23 (2,29)	0,21 – 0,44 (0,28)	20,55 – 53,98 (42,07)
	Ljeto	3,63 – 4,35 (4,02)	2,11 – 2,21 (2,16)	3,29 – 3,75 (3,48)	0,53 – 0,74 (0,61)	0,85 – 0,88 (0,86)	0,66 – 1,43 (0,88)	0,17 – 0,23 (0,19)	39,01 – 51,03 (47,20)
	Jesen	3,65 – 4,82 (4,12)	2,06 – 2,38 (2,23)	3,20 – 3,57 (3,37)	0,51 – 0,88 (0,65)	0,87 – 0,91 (0,89)	0,66 – 2,13 (1,06)	0,20 – 0,42 (0,25)	34,93 – 50,66 (45,92)
	Zima	3,61 – 3,99 (3,74)	1,90 – 2,21 (2,12)	2,75 – 3,34 (3,18)	0,52 – 0,83 (0,62)	0,87 – 0,92 (0,89)	0,66 – 4,75 (1,69)	0,20 – 0,80 (0,36)	15,16 – 52,06 (42,64)

Spearmanova korelacijska analiza provedena je radi procjene međusobnih odnosa dijagnostičkih omjera masenih udjela metala i Fe te omjera Fe/Mn (slika 74). Omjer Ni/Fe pokazuje statistički značajnu pozitivnu korelaciju s omjerima Zn/Fe ($\rho = 0,387$; $p = 7,70 \times 10^{-3}$) i Pb/Fe ($\rho = 0,61$; $p = 1,93 \times 10^{-8}$), dok je negativno povezan s Cr/Fe ($\rho = -0,39$; $p = 6,38 \times 10^{-3}$), Cd/Fe ($\rho = -0,45$; $p = 3,88 \times 10^{-4}$) i Hg/Fe ($\rho = -0,34$; $p = 3,34 \times 10^{-2}$). Omjer Zn/Fe je također pozitivno koreliran s Pb/Fe ($\rho = 0,37$; $p = 1,68 \times 10^{-2}$), dok je Pb/Fe negativno koreliran s Cr/Fe ($\rho = -0,41$; $p = 2,56 \times 10^{-3}$). Nadalje, omjer Cd/Fe je pozitivno koreliran s Cu/Fe ($\rho = 0,36$; $p = 2,01 \times 10^{-2}$) i Hg/Fe ($\rho = 0,55$; $p = 1,08 \times 10^{-6}$) te negativno s Fe/Mn ($\rho = -0,64$; $p = 2,71 \times 10^{-9}$). Pozitivne korelacije utvrđene su i između Cr/Fe i Hg/Fe ($\rho = 0,35$; $p = 4,14 \times 10^{-2}$) te između Cu/Fe i Hg/Fe ($\rho = 0,51$; $p = 1,98 \times 10^{-5}$).



Slika 74. Spearmanova korelacijska matrica omjera metala u sedimentu.

Multivarijantne analize potvrdile su prostorne razlike u omjerima masenih udjela metala i Fe. Analiza PERMANOVA pokazala je statistički značajne razlike između sedimenata iz Malostonskog zaljeva i ušća rijeke Neretve (pseudo-F = 14,64; $p = 1,00 \times 10^{-4}$), dok sezonske razlike nisu bile statistički značajne. Analiza SIMPER (slika 75) pokazala je da su razlikama između istraživanih područja najviše pridonijeli omjeri Ni/Fe, Pb/Fe, Cr/Fe, Zn/Fe, Cu/Fe i Hg/Fe. Njihov je zajednički doprinos iznosio 79,89 %. Najveći pojedinačni doprinos imao je omjer Ni/Fe (16,60 %), a najmanji omjer Cd/Fe (9,81 %). U SIMPER analizi viši srednji omjeri Ni/Fe, Pb/Fe i Zn/Fe bili su povezani s Malostonskim zaljevom, dok su viši srednji omjeri Cr/Fe, Cu/Fe, Hg/Fe, Fe/Mn i Cd/Fe bili povezani s područjem ušća rijeke Neretve. Pritom su srednji omjeri Cd/Fe i Fe/Mn između područja bili vrlo slični, što je u skladu s razlikama prikazanim u tablici 24.



Slika 75. Relativne razlike u omjerima metala između Malostonskog zaljeva i područja ušća rijeke Neretve.

4.5. Prostorno-sezonska raspodjela PAH-ova

4.5.1. Školjkaši

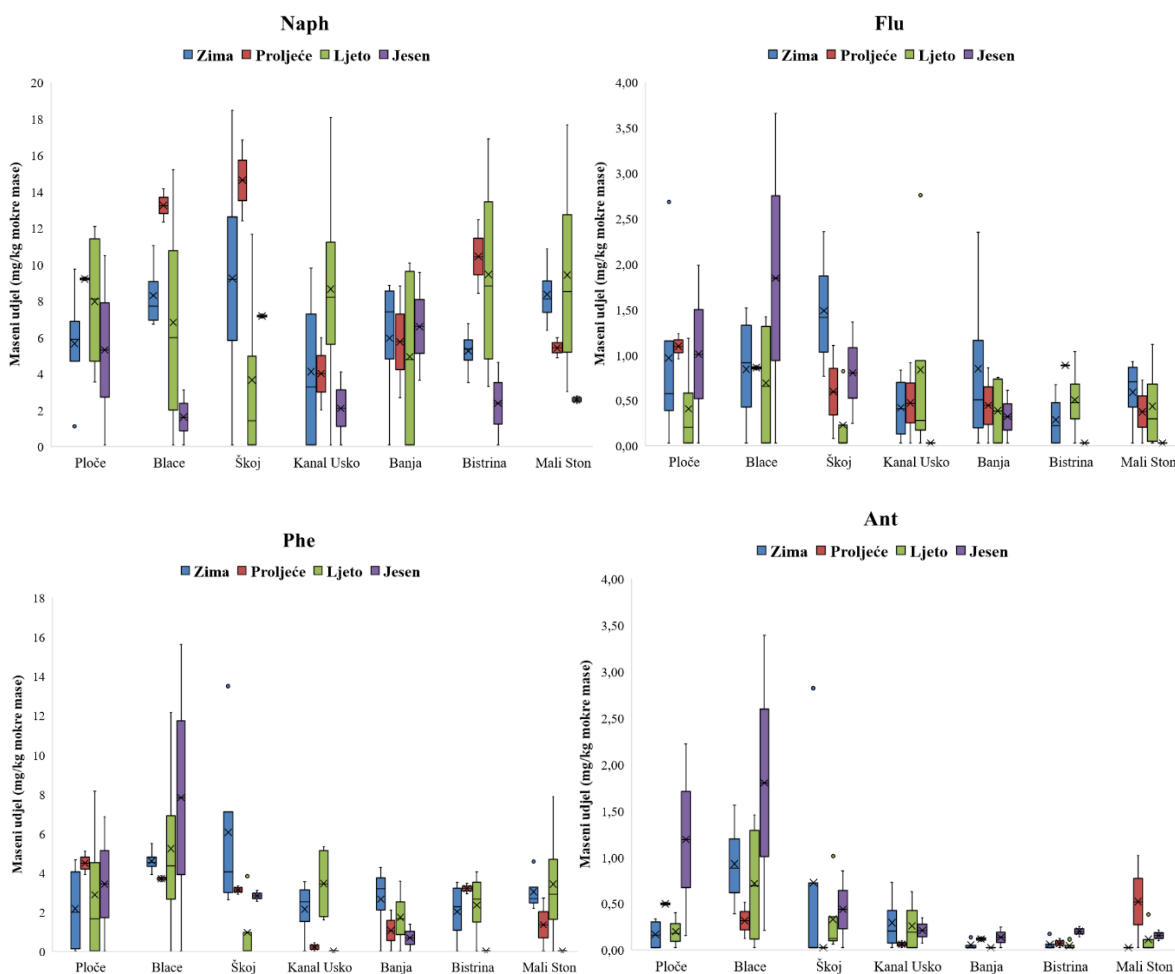
U uzorcima mekog tkiva dagnji iz prirodnih populacija s područja ušća rijeke Neretve te u uzgojnim populacijama s područja Malostonskog zaljeva analizirani su maseni udjeli 16 PAH-ova, od kojih je 14 određeno. Maseni udjeli Acy i Ace bili su ispod GD te ti spojevi nisu uključeni u statističku obradu. Svi rezultati izraženi su u $\mu\text{g/kg}$ mokre mase. U ukupnom profilu PAH-ova dominirali su Naph (32,47 %), Flt (10,67 %), Phe (10,06 %), DahA (6,90 %) i Pyr (6,35 %).

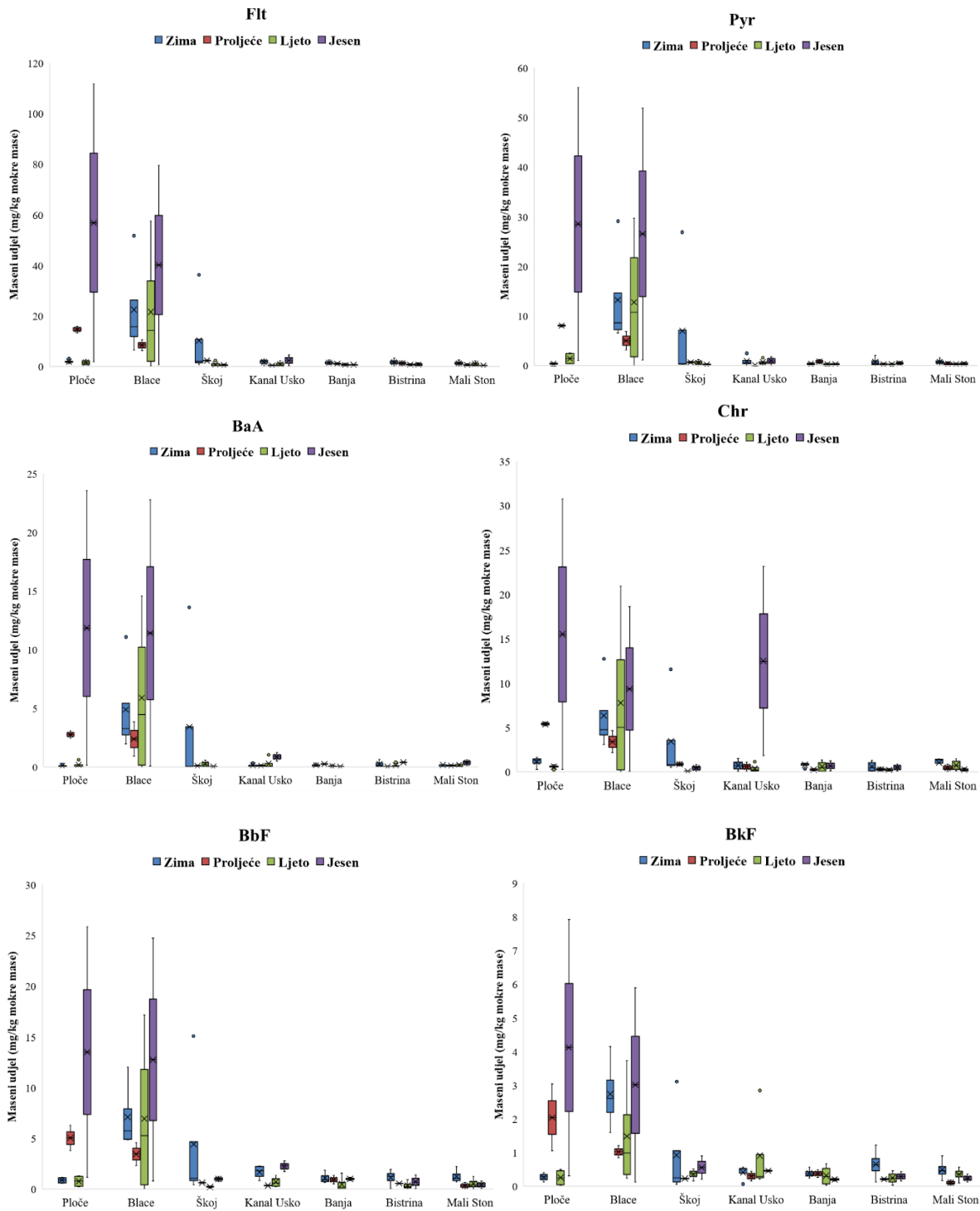
Raspodjela PAH-ova razlikovala se između istraživanih područja. U dagnjama s područja ušća rijeke Neretve utvrđeni su viši maseni udjeli Naph, Flu, Phe, Ant, Pyr, BaA, Chr, BkF, BaP, Flt i BbF, dok su u uzorcima iz Malostonskog zaljeva utvrđeni viši maseni udjeli DahA, BghiP i IcdP. Najizraženije relativne razlike između područja utvrđene su za Pyr (176,90 %), BaA (176,10 %), Flt (169,90 %), BbF (132,50 %), Ant (124,80 %), Chr (117,40 %), BaP (116,80 %) i BkF (104,80 %), dok su za ostale spojeve razlike bile manje izražene.

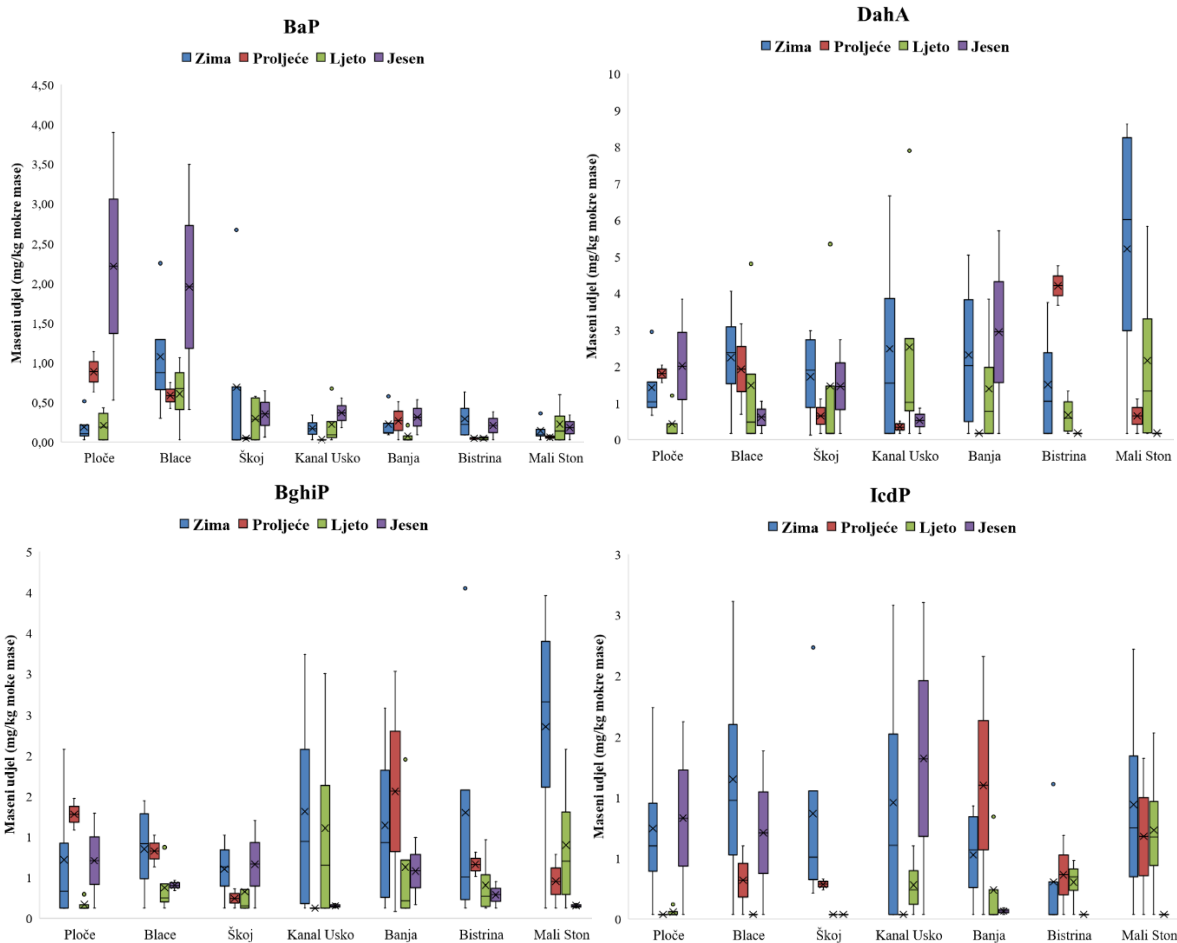
Razlike su utvrđene i između postaja unutar pojedinih područja. Na području ušća rijeke Neretve postaja Škoj izdvajala se višim masenim udjelima Pyr, BaA, Chr, BkF, BaP, Flt, BbF i IcdP. U

Malostonskom zaljevu postaja Kanal Usko izdvajala se višim masenim udjelima Ant, Pyr, BaA, Chr, BkF i BbF, dok su na postaji Mali Ston utvrđeni viši maseni udjeli DahA, BghiP i IcdP.

Maseni udjeli PAH-ova mijenjali su se i ovisno o sezoni. Najviši srednji maseni udjeli za Naph utvrđeni su u proljetnom razdoblju, dok su najviši maseni udjeli za Flu, Phe, DahA, BghiP i IcdP utvrđeni zimi. Za većinu ostalih analiziranih spojeva, odnosno Ant, Pyr, BaA, Chr, BkF, BaP, Flt i BbF, najviši srednji maseni udjeli utvrđeni su u jesenskom razdoblju. Najniži maseni udjeli većine spojeva zabilježeni su tijekom ljeta, dok su za Naph, Phe, DahA i BghiP najniži maseni udjeli utvrđeni u jesenskom razdoblju. Prikaz masenih udjela pojedinačnih PAH-ova po postajama i sezonama nalazi se na slici 76.







Slika 76. Prostorno-sezonska raspodjela masenih udjela Naph, Flu, Phe, Ant, Flt, Pyr, BaA, Chr, BbF, BkF, BaP, DahA, BghiP i IcdP u mekom tkivu dagnji.

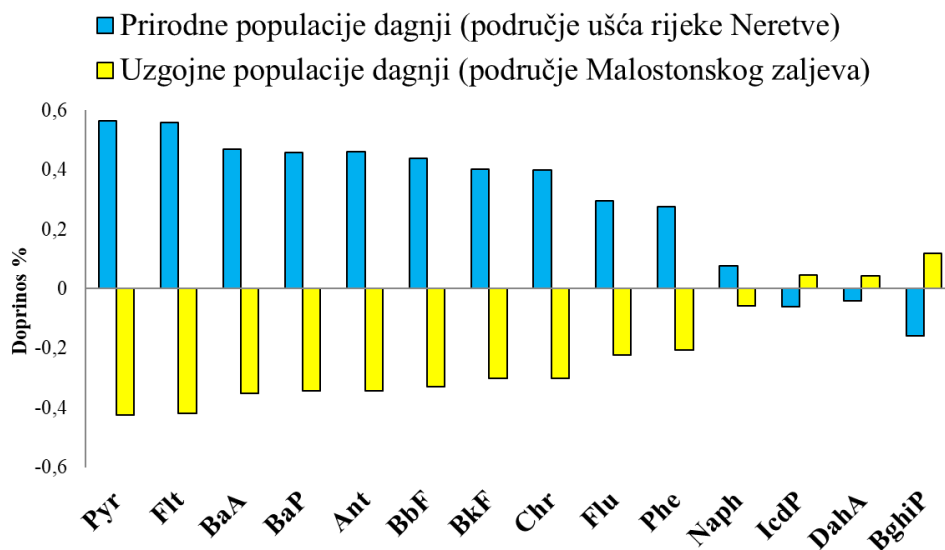
Sezonske razlike između istraživanih područja nisu bile jednake za sve analizirane PAH-ove. U zimskom razdoblju na području ušća rijeke Neretve utvrđeni su viši maseni udjeli Naph, Flu, Phe, Ant, Pyr, BaA, Chr, BkF, BaP, Flt, BbF i IcdP, dok su u Malostonskom zaljevu utvrđeni viši maseni udjeli DahA i BghiP. U proljetnom razdoblju na području ušća rijeke Neretve utvrđeni su viši maseni udjeli svih analiziranih spojeva osim IcdP, čiji je maseni udio bio viši u Malostonskom zaljevu. U ljetnom razdoblju na području ušća rijeke Neretve utvrđeni su viši maseni udjeli Phe, Ant, Pyr, BaA, Chr, BkF, BaP, Flt i BbF, dok su u Malostonskom zaljevu utvrđeni viši maseni udjeli Naph, Flu, DahA, BghiP i IcdP. U jesenskom razdoblju svi kvantificirani PAH-ovi bili su zastupljeniji u uzorcima s područja ušća rijeke Neretve. U svim sezonama među spojevima s najizraženijim razlikama između područja izdvajali su se Pyr, BaA, BbF i Flt. Njihove relativne

razlike iznosile su od 164,70 % do 189,65 % za Pyr, od 170,07 % do 179,59 % za BaA, od 105,16 % do 157,27 % za BbF te od 152,42 % do 187,77 % za Flt.

Razlike između postaja mijenjale su se ovisno o sezoni, pri čemu se unutar svakog istraživanog područja može izdvojiti nekoliko karakterističnih obrazaca. U Malostonskom zaljevu postaja Kanal Usko izdvajala se višim masenim udjelima Ant, Pyr, BaA, BkF, BaP, Flt i BbF u ljetnom razdoblju te Ant, Pyr, BaA, Chr, BkF, BaP, Flt, BbF i IcdP u jesenskom razdoblju. U zimskom razdoblju na postaji Mali Ston utvrđeni su viši maseni udjeli Naph, Phe, Chr, DahA, BghiP i Flt. U proljetnom razdoblju na postaji Bistrina utvrđeni su viši maseni udjeli Naph, Flu, Phe, DahA i Flt, na postaji Banja viši maseni udjeli Pyr, BaA, BaP, BghiP, BbF i IcdP, a na postaji Kanal Usko viši maseni udjeli Chr i BkF. Na području ušća rijeke Neretve u zimskom razdoblju na postaji Blace utvrđeni su viši maseni udjeli Ant, Pyr, BaA, Chr, BkF, BaP, DahA, Flt, BbF i IcdP, dok su na postaji Škoj utvrđeni viši maseni udjeli Naph, Flu i Phe. U proljetnom razdoblju postaja Ploče izdvajala se višim masenim udjelima Flu, Ant, Pyr, BaA, Chr, BkF, BaP, BghiP, Flt i BbF, dok su na postaji Blace utvrđeni viši maseni udjeli DahA i IcdP. U ljetnom razdoblju najviši maseni udjeli većine analiziranih spojeva utvrđeni su na postaji Blace, osobito za Flu, Phe, Ant, Pyr, BaA, Chr, BkF, BaP, DahA, Flt i BbF. U jesenskom razdoblju na postaji Ploče utvrđeni su viši maseni udjeli Pyr, BaA, Chr, BaP, DahA, Flt, BbF i IcdP, dok su na postaji Škoj utvrđeni viši maseni udjeli Naph, BkF i BghiP.

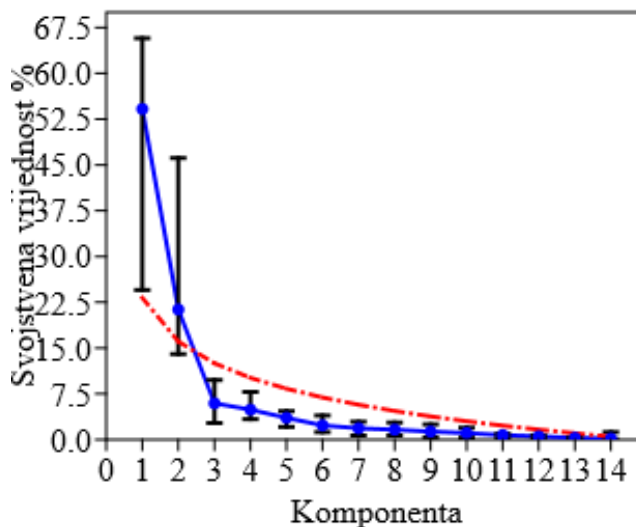
Shapiro-Wilkov test pokazao je odstupanje podataka od normalne raspodjele. Multivarijatna analiza PERMANOVA pokazala je statistički značajne razlike u raspodjeli masenih udjela PAH-ova između dagnji iz prirodnih populacija s područja ušća rijeke Neretve i uzgojnih populacija iz Malostonskog zaljeva (pseudo-F = 3,24; $p = 2,00 \times 10^{-4}$), dok sezonske razlike nisu bile statistički značajne. Iako su opisno utvrđene sezonske promjene masenih udjela pojedinih PAH-ova, PERMANOVA analizom nisu potvrđene statistički značajne razlike između sezona.

Analiza SIMPER, prikazana na slici 77, pokazala je da su detektirani PAH-ovi, osim DahA, BghiP i IcdP, bili zastupljeni u višim masenim udjelima u prirodnim populacijama dagnji s područja ušća rijeke Neretve. Najveći doprinos razlikama dali su Pyr, Flt, BaA, BaP, Ant, BbF, BkF i Chr.



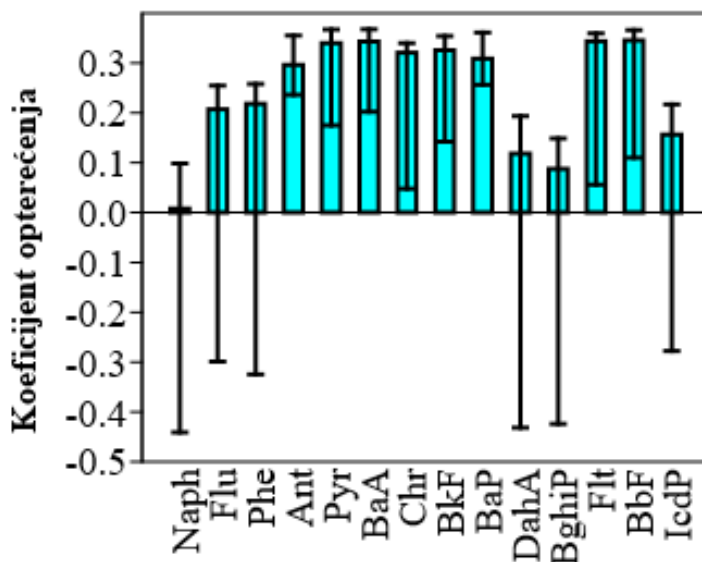
Slika 77. Relativne razlike u masenim udjelima kvantificiranih PAH-ova (Naph, Flu, Phe, Ant, Flt, Pyr, BaA, Chr, BbF, BkF, BaP, DahA, BghiP i IcdP) između prirodnih i uzgojnih populacija dagnji.

Analiza glavnih komponenti prikazana na slici 78, provedena je radi ispitivanja međusobnih odnosa i zajedničke varijabilnosti PAH-ova. Komponenta PC1 objašnjava 54,17 %, a PC2 dodatnih 21,32 % ukupne varijance. Zajedno objašnjavaju 75,49 % varijance u analiziranim podacima. Prema modelu slomljene palice, udjeli varijance objašnjeni komponentama PC1 i PC2 veći su od očekivanih udjela te su te dvije komponente uključene u daljnju interpretaciju. Preostale komponente pojedinačno objašnjavaju manje od 6 % ukupne varijance.

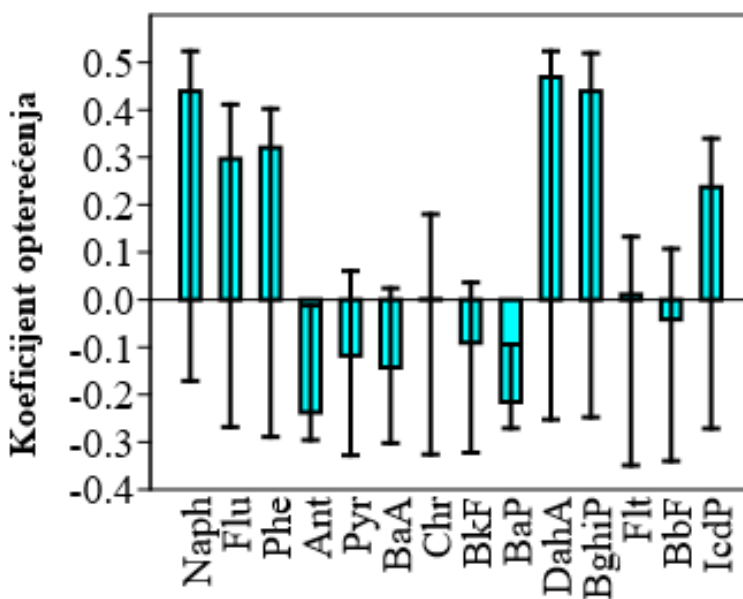


Slika 78. Dijagram glavnih komponenti za masene udjele PAH-ova u dagnjama s prikazom modela slomljene palice.

Komponenta PC1 povezana je s Ant, Pyr, BaA, Chr, BkF, BaP, BbF i Flt, koji imaju visoka pozitivna opterećenja, što znači da se maseni udjeli navedenih spojeva mijenjaju na sličan način (slika 79). Među njima prevladavaju PAH-ovi s četiri i pet aromatskih prstenova. Komponenta PC2 povezana je s Naph, Flu, Phe, DahA, BghiP i IcdP, koji također imaju pozitivna opterećenja (slika 80). Njihovo izdvajanje na PC2 pokazuje da se njihovi maseni udjeli mijenjaju drukčije od masenih udjela PAH-ova povezanih s PC1.



Slika 79. Opterećenja PAH-ova na PC1 komponenti.



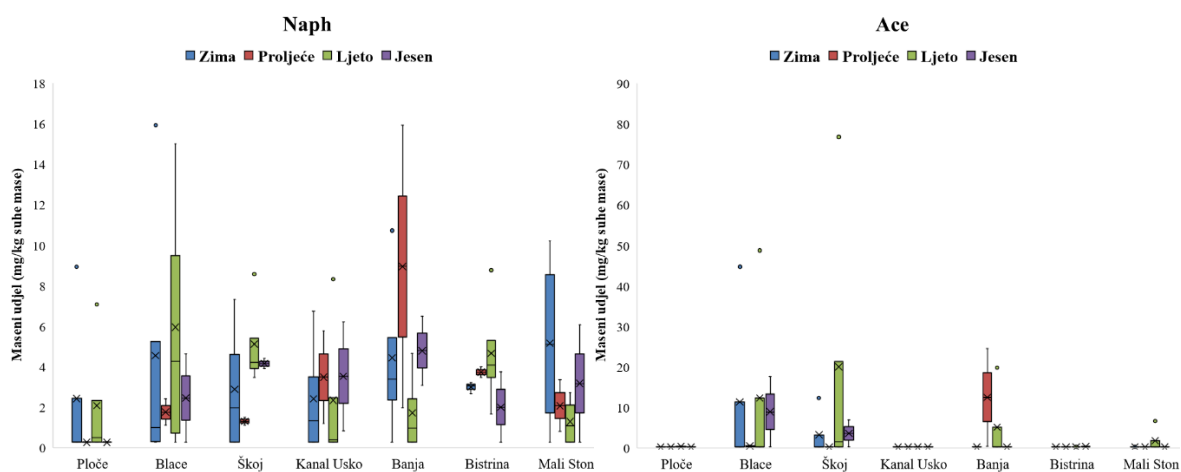
Slika 80. Opterećenja PAH-ova na PC2 komponenti.

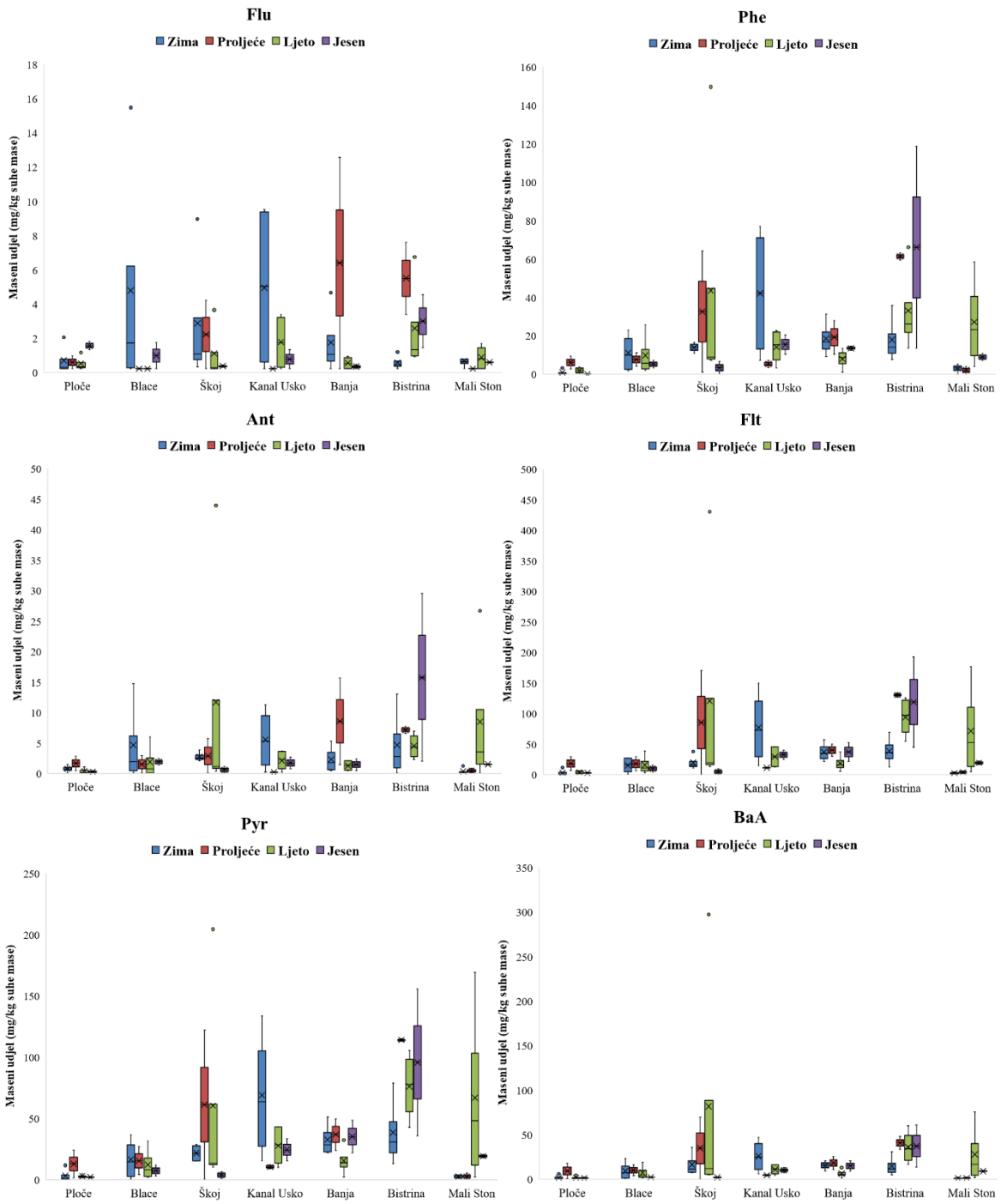
4.5.2. Sediment

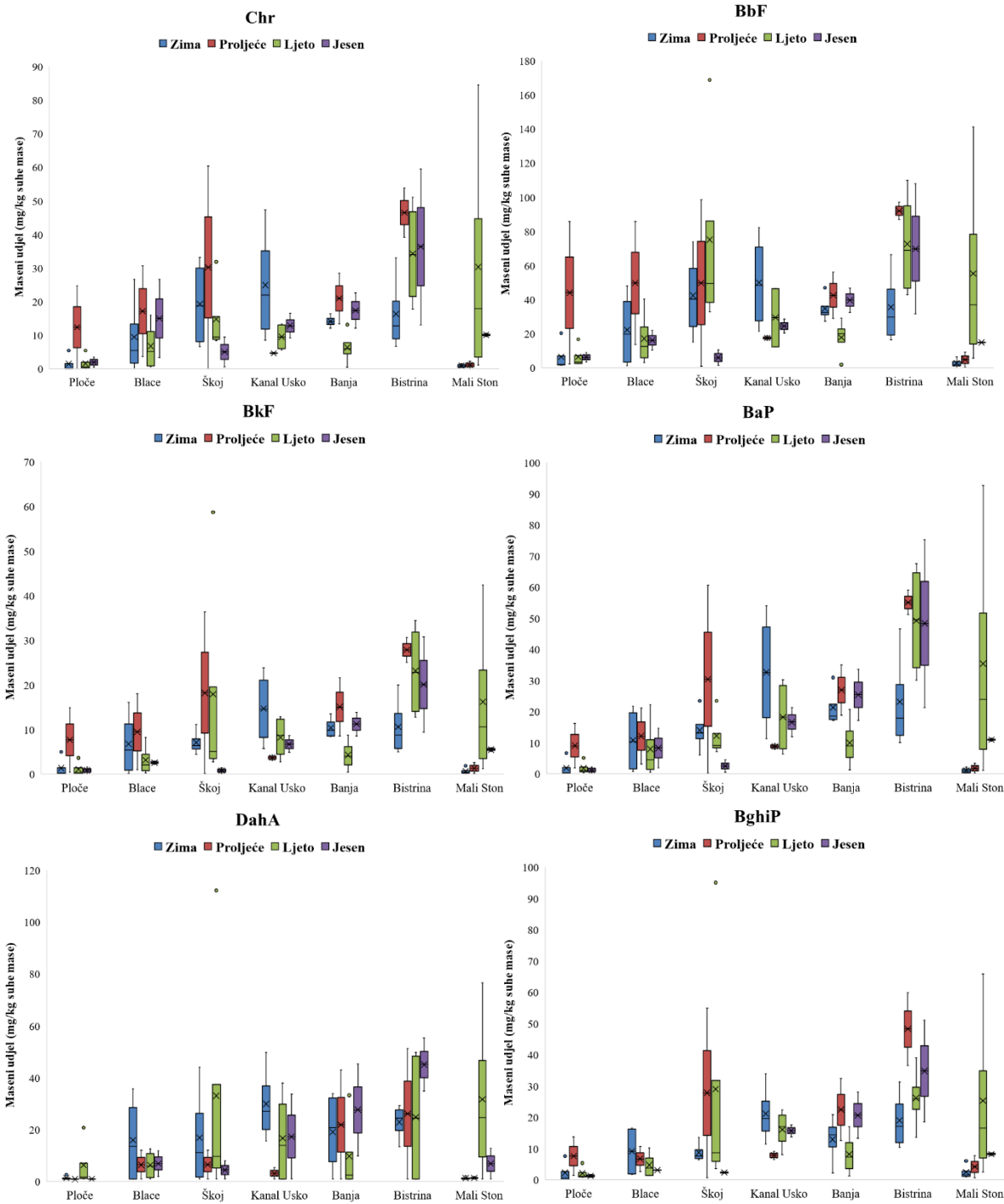
U uzorcima površinskog sedimenta s područja ušća rijeke Neretve i Malostonskog zaljeva analizirani su maseni udjeli 16 PAH-ova. Kvantificirano je 15 PAH-ova, dok je maseni udio Acy bio ispod GD te taj spoj nije uključen u statističku obradu. U ukupnoj raspodjeli kvantificiranih PAH-ova najveće udjele imali su BbF (15,41 %), Flt (13,18 %), Pyr (10,92 %), IcdP (10,22 %), DahA (6,84 %) i Phe (6,80 %).

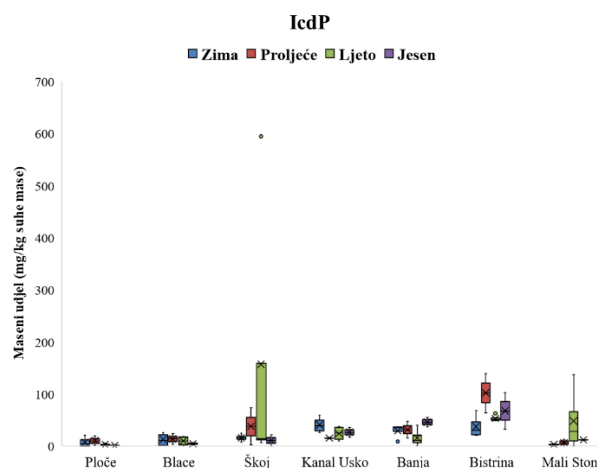
Prostorna raspodjela PAH-ova pokazala je jasnu razliku između istraživanih područja. Na području Malostonskog zaljeva utvrđeni su viši maseni udjeli svih kvantificiranih PAH-ova osim Ace, čiji je maseni udio bio viši na području ušća rijeke Neretve (slika 81). Najizraženije razlike između područja utvrđene su za BaP (91,80 %), Pyr (75,60 %), BghiP (65,90 %), DahA (60,60 %), Phe (56,80 %), BkF (55,10 %), Flt (52,50 %) i Chr (51,20 %).

Razlike su bile vidljive i između postaja unutar pojedinih područja. U Malostonskom zaljevu postaja Bistrina izdvojila se višim masenim udjelima većine analiziranih PAH-ova, osobito Flu, Phe, Ant, Pyr, BaA, Chr, BkF, BaP, DahA, BghiP, Flt, BbF i IcdP, dok su na postaji Banja utvrđeni viši maseni udjeli Ace i Naph. Na području ušća rijeke Neretve postaja Škoj izdvojila se najvišim srednjim masenim udjelima većine analiziranih PAH-ova, uključujući Phe, Ant, Pyr, BaA, Chr, BkF, BaP, DahA, BghiP, Flt, BbF i IcdP, dok su na postaji Blace utvrđeni najviši srednji maseni udjeli Naph, Ace i Flu.









Slika 81. Prostorno-sezonska raspodjela masenih udjela Naph, Ace, Flu, Phe, Ant, Flt, Pyr, BaA, Chr, BbF, BkF, BaP, DahA, BghiP i IcdP u sedimentu ($\mu\text{g}/\text{kg}$ suhe mase).

Sezonska raspodjela masenih udjela PAH-ova (slika 81) nije pokazala jedinstven obrazac za sve analizirane spojeve. Najviši srednji maseni udjeli Naph i Flu utvrđeni su zimi. U proljetnom razdoblju najviši srednji maseni udjeli utvrđeni su za Chr, BkF, BaP, BghiP i BbF, dok su ljeti najviši srednji maseni udjeli utvrđeni za Ace, Phe, Ant, Pyr, BaA, DahA, Flt i IcdP. Najniži srednji maseni udjeli Naph, Ace, Flu, BaA, BkF i BbF utvrđeni su u jesenskom razdoblju, dok su najniži srednji maseni udjeli Phe, Ant, Pyr, Chr, BaP, BghiP, Flt i IcdP utvrđeni zimi. Najniži srednji maseni udio DahA utvrđen je u proljetnom razdoblju.

Unutar pojedinih sezona prostorne razlike između područja ušća rijeke Neretve i Malostonskog zaljeva bile su izražene. U zimskom razdoblju na području Malostonskog zaljeva utvrđeni su viši maseni udjeli većine PAH-ova, osim Ace i Flu, koji su bili viši na području ušća rijeke Neretve. U proljetnom razdoblju u Malostonskom zaljevu prevladavali su Naph, Ace, Flu, Phe, Ant, Pyr, BkF, BaP, DahA, BghiP, Flt i IcdP, dok su na području ušća rijeke Neretve viši maseni udjeli utvrđeni za BaA, Chr i BbF. U ljetnom razdoblju Malostonski zaljev imao je više masene udjele Flu, Phe, Pyr, Chr, BkF, BaP, DahA, BghiP, Flt i BbF, a područje ušća rijeke Neretve više masene udjele Naph, Ace, Ant, BaA i IcdP. U jesenskom razdoblju prostorna razlika bila je najizraženija, na području Malostonskog zaljeva utvrđeni su viši maseni udjeli svih kvantificiranih PAH-ova osim Ace, čiji je maseni udio bio viši na području ušća rijeke Neretve. U svim sezonama među spojevima s najizraženijim razlikama između područja izdvajao se Ace. Izražene razlike utvrđene su i za BaP, Pyr, Flt, BghiP, IcdP, BkF i DahA, čiji su maseni udjeli najčešće bili viši u sedimentu

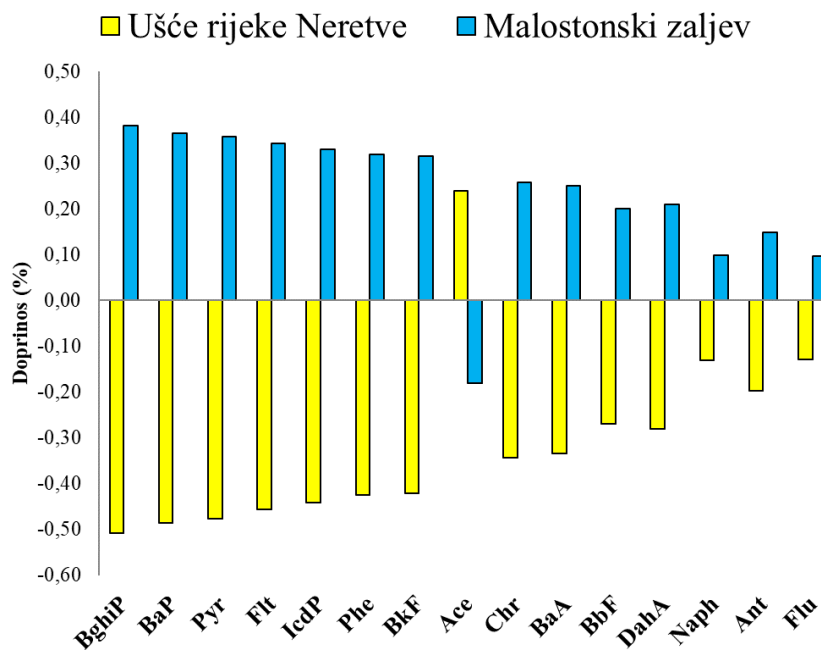
Malostonskog zaljeva. Relativne razlike iznosile su od 142,08 % do 183,19 % za Ace, od 75,15 % do 146,16 % za BaP, od 59,47 % do 163,20 % za Pyr, od 101,84 % do 161,28 % za Flt, od 45,30 % do 160,21 % za BghiP, od 46,77 % do 150,58 % za IcdP, od 54,82 % do 155,53 % za BkF te od 46,85 % do 142,56 % za DahA.

Sezonske razlike između postaja također su upućivale na prostorno neujednačenu raspodjelu PAH-ova. U Malostonskom zaljevu tijekom zimskog razdoblja postaja Kanal Usko imala je više masene udjele većine analiziranih PAH-ova nego postaje Banja, Bistrina i Mali Ston, dok se Naph izdvojio najvišim srednjim masenim udjelom na postaji Mali Ston. U proljetnom razdoblju postaje Banja i Bistrina izdvojile su se višim masenim udjelima većine PAH-ova nego postaje Kanal Usko i Mali Ston, pri čemu su na postaji Bistrina bili viši maseni udjeli Phe, Pyr, BaA, Chr, BkF, BghiP, Flt, BbF i IcdP nego na postaji Banja. Ljeti su se postaje Bistrina i Mali Ston izdvojile višim masenim udjelima većine analiziranih PAH-ova nego postaje Kanal Usko i Banja. U jesenskom razdoblju postaja Bistrina imala je više masene udjele većine analiziranih PAH-ova nego ostale postaje u Malostonskom zaljevu.

Na području ušća rijeke Neretve tijekom zimskog razdoblja postaje Blace i Škoj izdvojile su se višim masenim udjelima većine kvantificiranih PAH-ova nego postaja Ploče, pri čemu su na postaji Škoj utvrđeni viši maseni udjeli većine PAH-ova nego na postaji Blace. U proljetnom i ljetnom razdoblju postaja Škoj ponovno se izdvojila višim masenim udjelima većine kvantificiranih PAH-ova nego postaje Ploče i Blace. U jesenskom razdoblju postaja Blace imala je više masene udjele većine kvantificiranih PAH-ova nego postaje Ploče i Škoj, dok su maseni udjeli Naph i IcdP bili viši na postaji Škoj nego na postaji Blace.

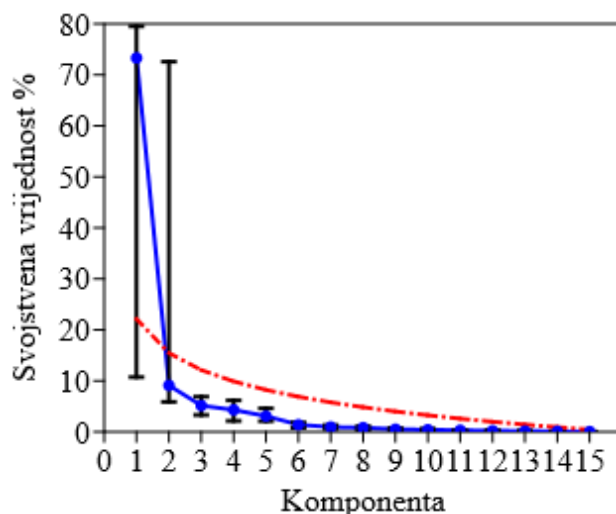
Razlike u raspodjeli masenih udjela PAH-ova između istraživanih područja ispitane su multivarijantnim analizama. Primjenom Shapiro-Wilkova testa utvrđena su odstupanja od normalne raspodjele za većinu analiziranih PAH-ova, uključujući Naph, Ace, Flu, Phe, Ant, Pyr, Chr, BkF, BbF, BaP i DahA, što podupire primjenu neparametrijskih jednovarijantnih testova. Analizom PERMANOVA utvrđena je statistički značajna razlika u masenim udjelima PAH-ova u uzorcima površinskog sedimenta između područja ušća rijeke Neretve i Malostonskog zaljeva (pseudo-F = 5,42; $p = 1,00 \times 10^{-4}$), dok sezonske razlike nisu bile statistički značajne.

Analiza SIMPER pokazala je da razlikama između istraživanih područja najviše doprinose HMW PAH-ovi, osobito BghiP, BaP, Pyr, Flt, IcdP, BkF, Chr i BaA (slika 82). Prosječni maseni udjeli svih kvantificiranih PAH-ova osim Ace bili su viši na području Malostonskog zaljeva, što potvrđuje prostornu izdvojenost tog područja u odnosu na ušće rijeke Neretve.



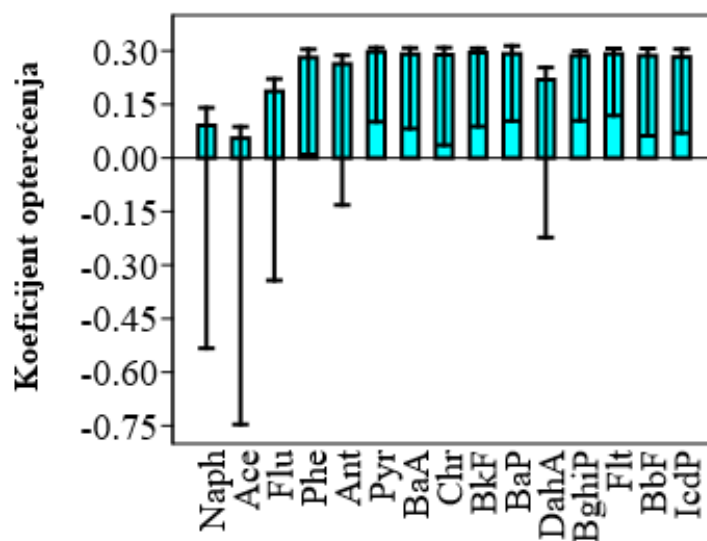
Slika 82. Relativne razlike u masenim udjelima Naph, Ace, Flu, Phe, Ant, Flt, Pyr, BaA, Chr, BbF, BkF, BaP, DahA, BghiP i IcdP između Malostonskog zaljeva i ušća rijeke Neretve.

Analiza glavnih komponenti provedena je radi dodatnog ispitivanja zajedničke promjenjivosti masenih udjela PAH-ova i usporedbe dobivenih rezultata s rezultatima analize SIMPER. Prema modelu slomljene palice samo je komponenta PC1 zadovoljila kriterij za uključivanje u interpretaciju, dok preostale komponente nisu zadovoljile taj kriterij (slika 83).

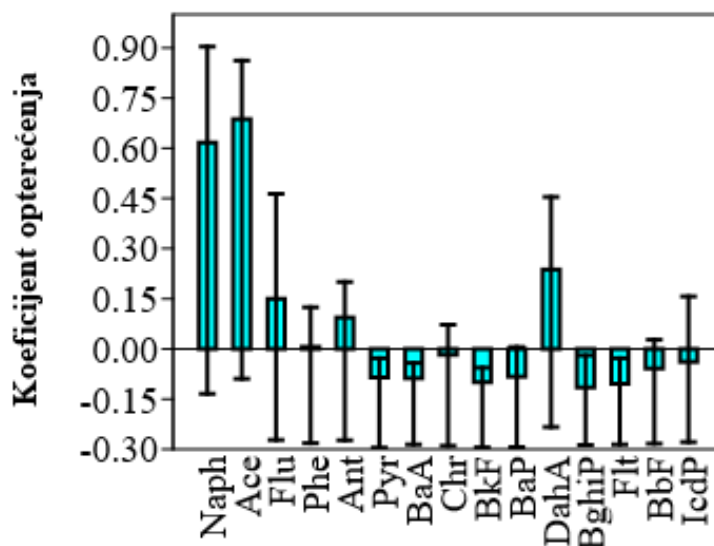


Slika 83. Dijagram glavnih komponenti za masene udjele kvantificiranih PAH-ova u površinskom sedimentu s područja ušća rijeke Neretve i Malostonskog zaljeva s prikazom modela slomljene palice.

Komponenta PC1 objašnjava 73,31 % ukupne varijance i obilježena je pozitivnim opterećenjima svih kvantificiranih PAH-ova. Najviša pozitivna opterećenja na komponenti PC1 utvrđena su za Pyr (0,30), BkF (0,30), BaP (0,29), Flt (0,29), BaA (0,29), Chr (0,29), BbF (0,29), BghiP (0,29) i IcdP (0,29) (slika 84). Iako komponenta PC2 nije zadovoljila kriterij modela slomljene palice za uključivanje u interpretaciju, na njoj se izdvajaju Ace (0,69) i Naph (0,62), što upućuje na drukčiji obrazac njihove raspodjele u odnosu na prethodno navedene HMW PAH-ove (slika 85).



Slika 84. Opterećenja PAH-ova na komponenti PC1.



Slika 85. Opterećenja PAH-ova na komponenti PC2.

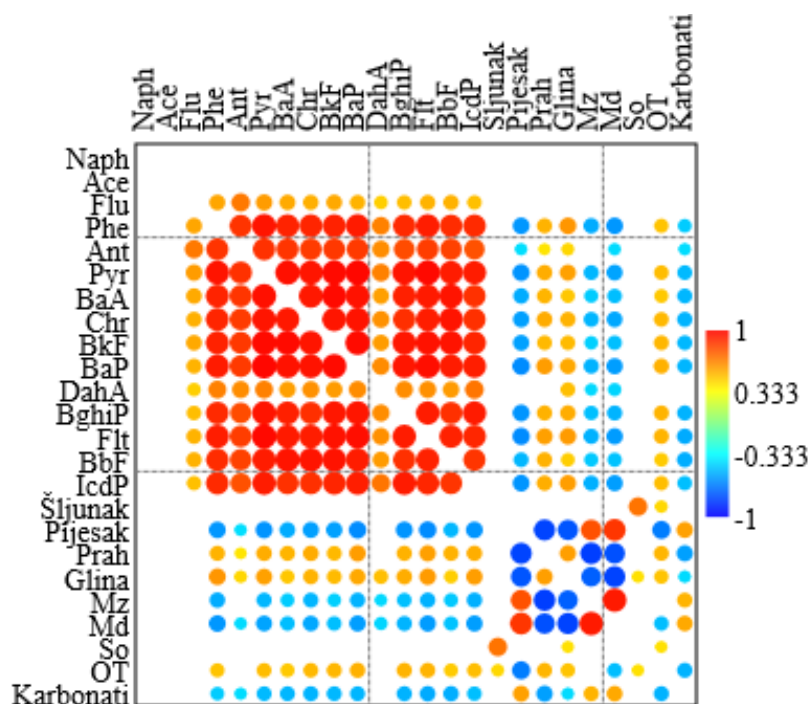
4.6. Utjecaj fizikalno-kemijskih značajki sedimenta na ukupni sadržaj PAH-ova u školjkašima i sedimentu

Kako bi se procijenila povezanost PAH-ova sa sastavom sedimenta prema veličini zrna te njegovim fizikalno-kemijskim značajkama, provedena je Spearmanova korelacijska analiza (slika 86). Utvrđene su statistički značajne pozitivne korelacije unutar skupine HMW PAH-ova. Najviši korelacijski koeficijenti utvrđeni su između Pyr i BaP ($\rho = 0,98$; $p = 2,13 \times 10^{-57}$), Pyr i Flt ($\rho = 0,98$; $p = 1,18 \times 10^{-53}$), BaA i BkF ($\rho = 0,97$; $p = 1,35 \times 10^{-51}$), Pyr i BkF ($\rho = 0,97$; $p = 1,05 \times 10^{-50}$) te Chr i BaP ($\rho = 0,95$; $p = 9,89 \times 10^{-41}$). Fenantren i Ant bili su međusobno pozitivno povezani ($\rho = 0,86$; $p = 1,80 \times 10^{-23}$), kao i Phe i Pyr ($\rho = 0,95$; $p = 5,77 \times 10^{-40}$) te Ant i Pyr ($\rho = 0,87$; $p = 1,12 \times 10^{-24}$). Osim navedenih spojeva, Flu, BbF i BghiP također su pokazivali statistički značajne pozitivne korelacije s Phe, Ant, Pyr, BaA, Chr, BkF i BaP. Dibenzo(a,h)antracen pokazao je statistički značajne pozitivne korelacije s Phe ($\rho = 0,66$; $p = 1,67 \times 10^{-9}$), Pyr ($\rho = 0,66$; $p = 1,68 \times 10^{-9}$), BaP ($\rho = 0,63$; $p = 2,48 \times 10^{-8}$) i IcdP ($\rho = 0,69$; $p = 6,99 \times 10^{-11}$).

Statistički značajne negativne korelacije s udjelom pijeska utvrđene su za BaP ($\rho = -0,63$; $p = 2,52 \times 10^{-8}$), Flt ($\rho = -0,63$; $p = 2,68 \times 10^{-8}$) i Pyr ($\rho = -0,61$; $p = 1,45 \times 10^{-7}$). Pozitivne korelacije s udjelom praha utvrđene su za BaP ($\rho = 0,59$; $p = 1,01 \times 10^{-6}$) i Pyr ($\rho = 0,55$; $p = 1,91 \times 10^{-5}$) te s glinom za Phe ($\rho = 0,61$; $p = 2,26 \times 10^{-7}$), Flt ($\rho = 0,59$; $p = 7,13 \times 10^{-7}$) i DahA ($\rho = 0,50$; $p = 3,18 \times 10^{-4}$). Parametar Mz bio je statistički značajno negativno koreliran s Phe ($\rho = -0,55$; $p =$

1,56×10⁻⁵), Pyr (ρ = -0,52; p = 9,34×10⁻⁵), BaP (ρ = -0,53; p = 5,51×10⁻⁵), Flt (ρ = -0,54; p = 4,10×10⁻⁵) i DahA (ρ = -0,43; p = 1,05×10⁻²). Parametar Md bio je statistički značajno negativno koreliran s Phe (ρ = -0,61; p = 2,68×10⁻⁷), BaP (ρ = -0,59; p = 1,21×10⁻⁶), IcdP (ρ = -0,59; p = 1,13×10⁻⁶), Ant (ρ = -0,43; p = 1,32×10⁻²) i DahA (ρ = -0,44; p = 6,16×10⁻³). Parametar So nije pokazao statistički značajne korelacije ni s jednim PAH-om.

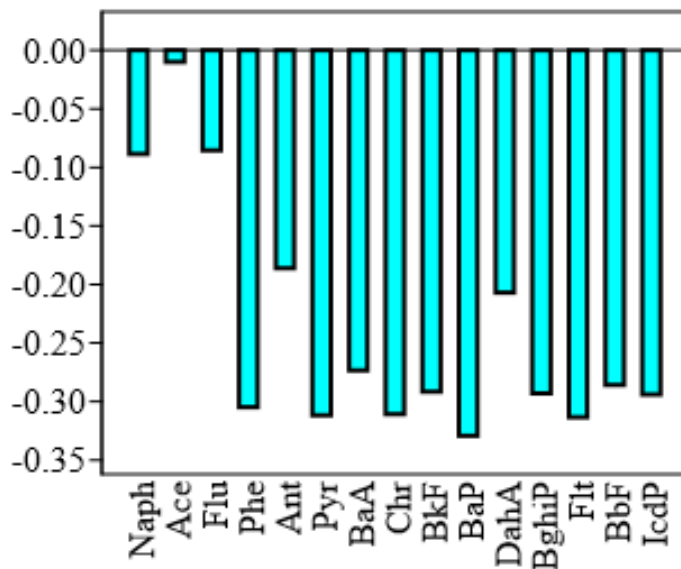
Udio organske tvari bio je statistički značajno pozitivno koreliran s Phe (ρ = 0,49; p = 6,44×10⁻⁴), Pyr (ρ = 0,51; p = 2,42×10⁻⁴), BaP (ρ = 0,54; p = 3,66×10⁻⁵), BghiP (ρ = 0,53; p = 5,99×10⁻⁵) i IcdP (ρ = 0,50; p = 3,00×10⁻⁴). Karbonati su pokazivali statistički značajne negativne korelacije s Phe (ρ = -0,47; p = 2,11×10⁻³), Ant (ρ = -0,42; p = 1,61×10⁻²), Pyr (ρ = -0,51; p = 1,49×10⁻⁴), BaA (ρ = -0,52; p = 9,69×10⁻⁵), Chr (ρ = -0,53; p = 5,78×10⁻⁵), BkF (ρ = -0,52; p = 1,13×10⁻⁴), BaP (ρ = -0,52; p = 8,82×10⁻⁵), BghiP (ρ = -0,53; p = 5,58×10⁻⁵), Flt (ρ = -0,55; p = 1,41×10⁻⁵), BbF (ρ = -0,55; p = 2,15×10⁻⁵) i IcdP (ρ = -0,50; p = 3,31×10⁻⁴).



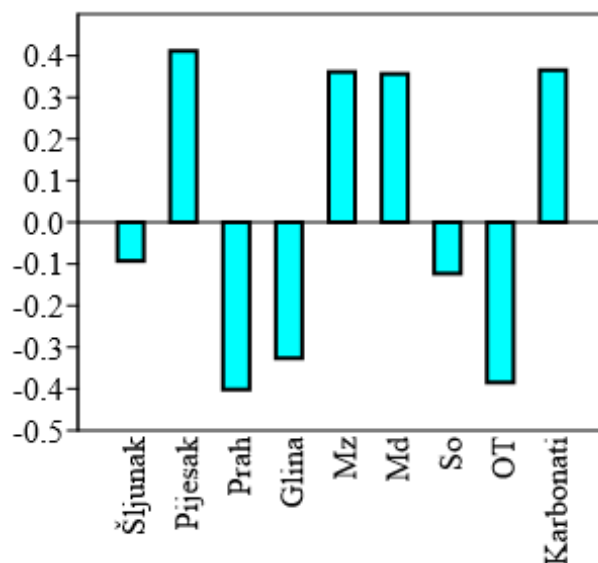
Slika 86. Spearmanova korelacijska matrica između granulometrijskih parametara (Mz, Md, So), udjela šljunka, pijeska, praha i gline, organske tvari (OT), karbonata i PAH-ova u površinskom sedimentu.

Analiza PLS između fizikalno-kemijskih značajki sedimenta i masenih udjela PAH-ova pokazala je razdvajanje varijabli duž prve komponente prema njihovoj povezanosti s PAH-ovima u

sedimentu. Prva komponenta PLS analize bila je statistički značajna ($p = 8,00 \times 10^{-4}$) i objasnila je 98,2 % ukupne kovarijance između masenih udjela PAH-ova i fizikalno-kemijskih značajki sedimenta. Na prvoj komponenti svi kvantificirani PAH-ovi imali su negativna opterećenja, pri čemu su izraženija negativna opterećenja utvrđena za BaP (-0,33), Phe (-0,31), Pyr (-0,31), Chr (-0,31), Flt (-0,31), BkF (-0,29), BbF (-0,29), IcdP (-0,29), BghiP (-0,29), BaA (-0,27) i Ant (-0,18), a slabija za Naph (-0,09), Flu (-0,08) i Ace (-0,01). Među fizikalno-kemijskim značajkama sedimenta, prah (-0,40), organska tvar (-0,39) i glina (-0,33) bili su smješteni u negativnom smjeru prve komponente, zajedno sa šljunkom (-0,09) i parametrom So (-0,12), čija su opterećenja bila slabija. Suprotno tome, pijesak (0,41), karbonati (0,37), Mz (0,36) i Md (0,36) bili su smješteni u pozitivnom smjeru iste komponente. Dobiveni rezultati u skladu su sa Spearmanovom korelacijskom analizom, koja je pokazala pozitivnu povezanost PAH-ova s prahom, glinom i organskom tvari te negativnu povezanost s udjelom pijeska i karbonata. Rezultati PLS analize prikazani su na slikama 87 i 88.



Slika 87. Opterećenja PAH-ova u sedimentu na prvoj komponenti PLS analize.



Slika 88. Opterećenja fizikalno-kemijskih značajki sedimenta na prvoj komponenti PLS analize.

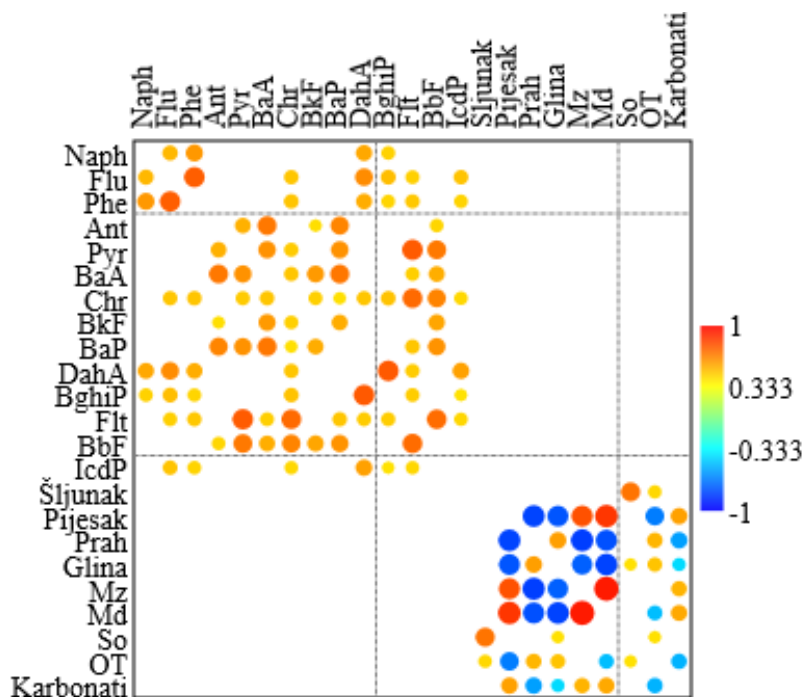
Radi dodatne procjene doprinosa sastava sedimenta prema veličini zrna, parametara Mz i Md, organske tvari i karbonata raspodjeli PAH-ova u sedimentu, provedena je RDA analiza. Ukupni model bio je statistički značajan ($R^2 = 0,46$; $F = 3,83$; $p = 1,00 \times 10^{-3}$), što upućuje na značajnu povezanost fizikalno-kemijskih značajki sedimenta i sastava PAH-ova. Os RDA1 objasnila je 32,46 %, a os RDA2 dodatnih 7,56 % ukupne varijance. Zajedno, prve dvije osi objašnjavaju 40,02 % ukupne varijance. Preostale osi pojedinačno objašnjavaju manje od 3,50 % ukupne varijance. Na osi RDA1 svi kvantificirani PAH-ovi pokazali su pozitivne projekcije. Najizraženije pozitivne projekcije imali su BaP (0,88), Flt (0,835), Pyr (0,83), Chr (0,828) i Phe (0,82), dok su najslabije projekcije imali Ace (0,02), Flu (0,23) i Naph (0,25). Među fizikalno-kemijskim značajkama sedimenta, organska tvar (0,70), prah (0,67) i glina (0,54) bili su smješteni u pozitivnom smjeru osi RDA1, zajedno sa šljunkom (0,18) i parametrom So (0,24). Suprotno tome, pijesak (-0,70), karbonati (-0,49), Mz (-0,64) i Md (-0,68) bili su smješteni u negativnom smjeru iste osi. Rezultati RDA analize u skladu su s rezultatima Spearmanove korelacijske analize i PLS analize jer potvrđuju da su viši maseni udjeli PAH-ova u sedimentu, osobito HMW PAH-ova, povezani s većim udjelima praha, gline i organske tvari.

Budući da su dagnje i sediment uzorkovani istodobno na istim postajama, Spearmanovom korelacijskom analizom razmotrena je povezanost između masenih udjela PAH-ova u dagnjama i fizikalno-kemijskih značajki sedimenta. Analiza provedena za PAH-ove u dagnjama (slika 89) pokazala je statistički značajne međusobne korelacije unutar skupine HMW PAH-ova, dok

statistički značajne korelacije između PAH-ova u dagnjama i fizikalno-kemijskih značajki sedimenta nisu utvrđene.

Unutar skupine HMW PAH-ova u dagnjama najizraženije pozitivne korelacije utvrđene su između Flt i Pyr ($\rho = 0,76$; $p = 9,04 \times 10^{-15}$), DahA i BghiP ($\rho = 0,77$; $p = 5,39 \times 10^{-15}$), Flt i BbF ($\rho = 0,72$; $p = 3,57 \times 10^{-12}$), Flt i Chr ($\rho = 0,72$; $p = 2,23 \times 10^{-12}$), Pyr i BbF ($\rho = 0,68$; $p = 1,86 \times 10^{-10}$), Ant i BaA ($\rho = 0,69$; $p = 1,54 \times 10^{-10}$), BaA i BaP ($\rho = 0,69$; $p = 1,26 \times 10^{-10}$), BbF i Chr ($\rho = 0,65$; $p = 3,81 \times 10^{-9}$), Ant i BaP ($\rho = 0,65$; $p = 4,62 \times 10^{-9}$), Pyr i BaA ($\rho = 0,62$; $p = 9,16 \times 10^{-8}$) te Pyr i BaP ($\rho = 0,62$; $p = 8,76 \times 10^{-8}$). Spoj BaA bio je statistički značajno pozitivno koreliran i s BkF ($\rho = 0,60$; $p = 4,61 \times 10^{-7}$), BbF ($\rho = 0,55$; $p = 2,07 \times 10^{-5}$) i Flt ($\rho = 0,46$; $p = 2,77 \times 10^{-3}$). Krizen je bio statistički značajno pozitivno koreliran s BkF ($\rho = 0,46$; $p = 3,30 \times 10^{-3}$), Pyr ($\rho = 0,47$; $p = 1,70 \times 10^{-3}$), BaP ($\rho = 0,41$; $p = 2,26 \times 10^{-2}$), DahA ($\rho = 0,48$; $p = 8,30 \times 10^{-4}$), BghiP ($\rho = 0,49$; $p = 5,28 \times 10^{-4}$) i IcdP ($\rho = 0,44$; $p = 8,60 \times 10^{-3}$). Dodatno, Ant je bio statistički značajno pozitivno koreliran i s Pyr ($\rho = 0,54$; $p = 3,58 \times 10^{-5}$), BkF ($\rho = 0,42$; $p = 1,88 \times 10^{-2}$), BbF ($\rho = 0,44$; $p = 6,95 \times 10^{-3}$), a BkF s BbF ($\rho = 0,57$; $p = 5,13 \times 10^{-6}$) i BaP ($\rho = 0,55$; $p = 1,83 \times 10^{-5}$). Također je utvrđena korelacija između DahA i IcdP ($\rho = 0,58$; $p = 2,12 \times 10^{-6}$), BaP i BbF ($\rho = 0,62$; $p = 1,12 \times 10^{-7}$), Flt i BaP ($\rho = 0,48$; $p = 7,82 \times 10^{-4}$), Flt i DahA ($\rho = 0,47$; $p = 2,00 \times 10^{-3}$), Flt i BghiP ($\rho = 0,46$; $p = 2,20 \times 10^{-3}$) te BghiP i IcdP ($\rho = 0,41$; $p = 2,68 \times 10^{-2}$).

Uz HMW PAH-ove, značajne korelacije utvrđene su i između LMW i HMW spojeva. Spoj Flu bio je pozitivno povezan s Chr ($\rho = 0,48$; $p = 8,82 \times 10^{-4}$), DahA ($\rho = 0,63$; $p = 2,30 \times 10^{-8}$), BghiP ($\rho = 0,50$; $p = 2,72 \times 10^{-4}$), Flt ($\rho = 0,46$; $p = 3,06 \times 10^{-3}$) i IcdP ($\rho = 0,49$; $p = 6,39 \times 10^{-4}$). Fenantren je pokazivao pozitivne korelacije s Chr ($\rho = 0,49$; $p = 6,76 \times 10^{-4}$), DahA ($\rho = 0,55$; $p = 1,79 \times 10^{-5}$), BghiP ($\rho = 0,44$; $p = 6,18 \times 10^{-3}$), Flt ($\rho = 0,48$; $p = 1,12 \times 10^{-3}$) i IcdP ($\rho = 0,45$; $p = 4,97 \times 10^{-3}$). Naftalen je bio pozitivno koreliran s Flu ($\rho = 0,52$; $p = 1,12 \times 10^{-4}$), Phe ($\rho = 0,60$; $p = 3,24 \times 10^{-7}$), DahA ($\rho = 0,56$; $p = 7,60 \times 10^{-6}$) i BghiP ($\rho = 0,45$; $p = 4,10 \times 10^{-3}$). Za razliku od HMW PAH-ova, LMW PAH-ovi pokazivali su manji broj statistički značajnih korelacija.



Slika 89. Spearmanova korelacijska matrica između granulometrijskih parametara (Mz, Md, So), veličinskih frakcija (šljunak, pijesak, prah i glina), organske tvari (OT), karbonata i PAH-ova u uzorcima dagnji.

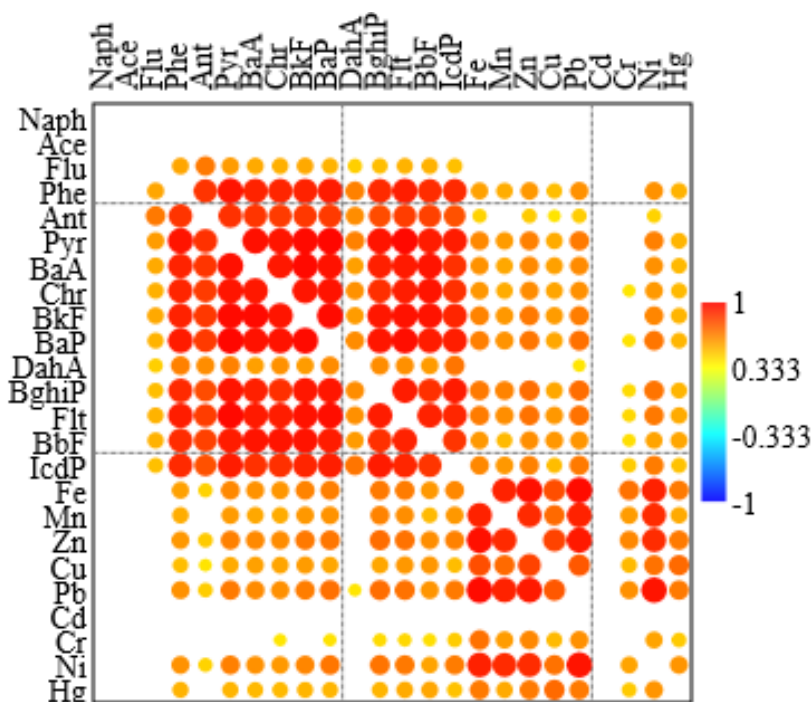
Radi dodatne procjene utjecaja sastava sedimenta prema veličini zrna na raspodjelu PAH-ova u dagnjama provedene su RDA i PLS analize. Analiza RDA pokazala je da ukupni model nije bio statistički značajan te da je fizikalno-kemijskim značajkama sedimenta objašnjeno 18,50 % ukupne varijance masenih udjela PAH-ova u dagnjama. Ti su rezultati u skladu sa Spearmanovom korelacijskom analizom. Analiza PLS također nije pokazala značajnu povezanost između fizikalno-kemijskih značajki sedimenta i sastava PAH-ova u dagnjama. Iako je prva komponenta PLS analize objasnila 71,10 %, a druga dodatnih 17,09 % kovarijance, permutacijski test pokazao je da nijedna komponenta nije bila statistički značajna.

4.7. Odnos između metala i PAH-ova u sedimentu i školjkašima

Kako bi se procijenila povezanost PAH-ova i metala u sedimentu, provedena je Spearmanova korelacijska analiza (slika 90). Najizraženije pozitivne korelacije između metala i PAH-ova utvrđene su za HMW PAH-ove, dok su među LMW PAH-ovima statistički značajne korelacije s metalima utvrđene za Phe i Ant. Spoj Phe bio je statistički značajno pozitivno koreliran s Fe, Mn, Zn, Cu, Pb, Ni i Hg, pri čemu su Spearmanovi korelacijski koeficijenti iznosili $\rho = 0,50 - 0,62$, uz

p u rasponu od $9,66 \times 10^{-8}$ – $2,21 \times 10^{-6}$. Spoj Ant bio je statistički značajno pozitivno koreliran s Fe, Zn, Cu, Pb i Ni ($\rho = 0,36 - 0,47$; $p = 2,37 \times 10^{-3} - 5,20 \times 10^{-3}$). Spojevi Naph, Ace i Flu nisu pokazali statistički značajne korelacije s analiziranim metalima.

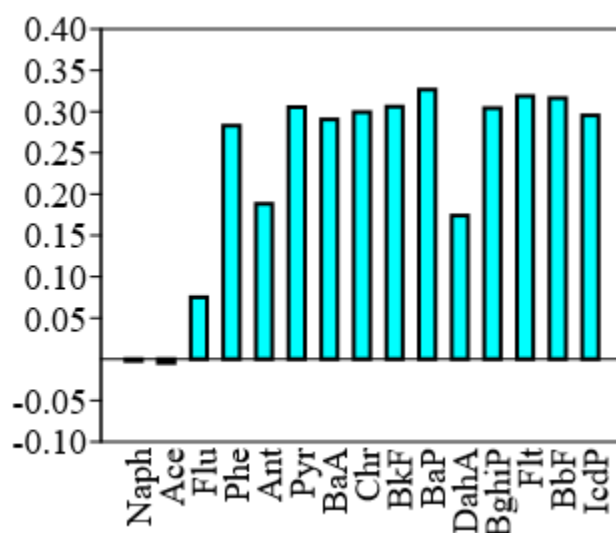
Unutar skupine HMW PAH-ova utvrđen je veći broj statistički značajnih pozitivnih korelacija s metalima. Spojevi Pyr i BaA bili su statistički značajno pozitivno korelirani s Fe, Mn, Zn, Cu, Pb, Ni i Hg. Spojevi Chr i BaP bili su povezani s istim metalima te dodatno s Cr (Chr-Cr: $\rho = 0,40$; $p = 4,84 \times 10^{-2}$; BaP-Cr: $\rho = 0,41$; $p = 3,34 \times 10^{-2}$). Za BbF, BghiP, Flt i IcdP utvrđene su snažne korelacije s Fe, Mn, Zn, Cu, Pb, Cr, Ni i Hg, s korelacijskim koeficijentima u rasponu $\rho = 0,47 - 0,72$ uz p-vrijednosti $3,08 \times 10^{-11} - 3,60 \times 10^{-7}$. Spoj BkF bio je statistički značajno povezan s Fe, Mn, Zn, Cu, Pb, Ni i Hg, dok korelacija s Cr nije bila statistički značajna. Spoj DahA bio je statistički značajno povezan samo s Pb ($\rho = 0,40$; $p = 0,046$). Kadmij nije bio statistički značajno povezan ni s jednim analiziranim PAH-om.



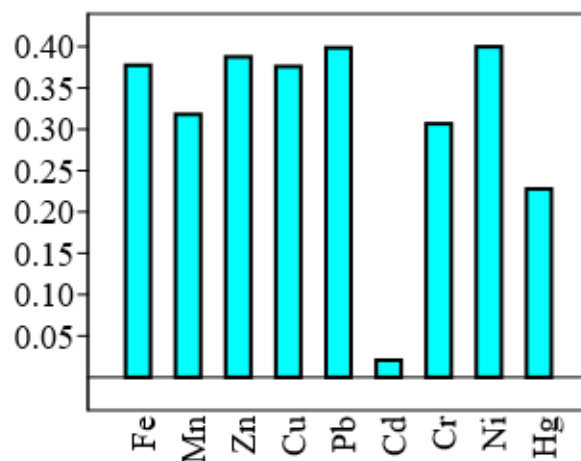
Slika 90. Spearmanova korelacijska matrica PAH-ova (Naph, Ace, Flu, Phe, Ant, Pyr, BaA, Chr, BkF, BaP, DahA, BghiP, Flt, BbF i IcdP) i metala u sedimentu (Fe, Mn, Zn, Cu, Pb, Cd, Cr, Ni i Hg).

Analiza PLS pokazala je da je povezanost metala i PAH-ova gotovo u cijelosti objašnjena prvom komponentom, koja je obuhvatila 99,65 % ukupne kovarijance ($p = 1,00 \times 10^{-4}$). Preostale

komponente imale su vrlo malen doprinos kovarijanci ($< 0,3\%$) i nisu bile statistički značajne. Na prvoj komponenti PLS analize svi HMW PAH-ovi i metali bili su smješteni u pozitivnom smjeru iste komponente (slike 91 i 92). Među LMW PAH-ovima, Phe (0,28) i Ant (0,19) imali su pozitivna opterećenja, dok je Flu pokazao slabo pozitivno opterećenje (0,08). Rezultati PLS analize bili su podudarni s rezultatima Spearmanove korelacijske analize. U PLS analizi, HMW PAH-ovi imali su najviša opterećenja na prvoj komponenti, istodobno su pokazali najveći broj statistički značajnih korelacija s metalima. Spojevi Phe i Ant imali su umjerena pozitivna opterećenja u PLS analizi te statistički značajne korelacije s metalima, ali slabije izražene nego HMW PAH-ovi. Nasuprot tome, Naph, Ace i Flu imali su vrlo niska opterećenja u PLS modelu te nisu pokazali statistički značajnu povezanost s metalima.



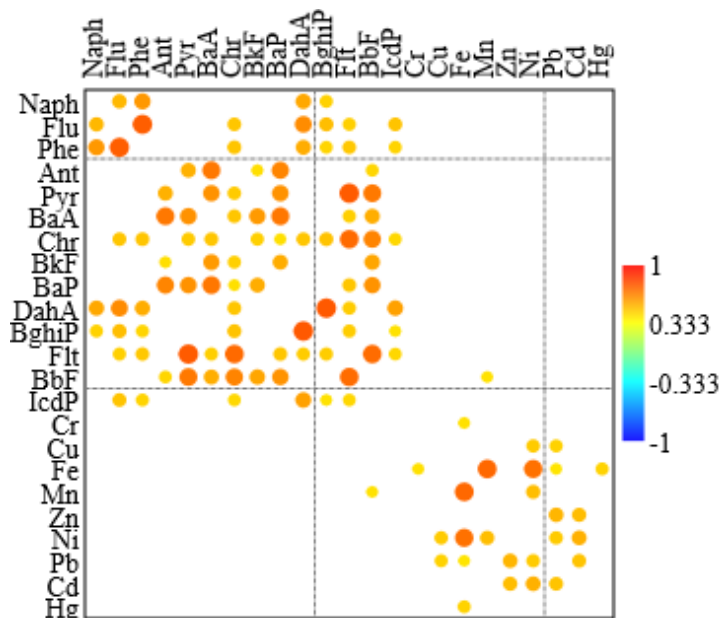
Slika 91. Opterećenja PAH-ova u sedimentu na prvoj PLS komponenti.



Slika 92. Opterećenja metala u sedimentu na prvoj PLS komponenti.

Kako bi se dodatno procijenila povezanost metala s raspodjelom PAH-ova u sedimentu, provedena je RDA analiza. Ukupni model RDA analize bio je statistički značajan ($F = 6,10$; $p = 1,00 \times 10^{-3}$), a metali su objasnili 57,35 % ukupne varijance PAH-ova. Os RDA1 objasnila je 50,70 % ukupne varijance PAH-ova, dok je os RDA2 objasnila dodatnih 2,82 %. Preostale osi pojedinačno su objašnjavale manje od 2 % ukupne varijance. Na osi RDA1 svi analizirani metali bili su pozitivno usmjereni, a najizraženije projekcije imali su Pb, Ni i Zn, što upućuje na njihov najveći doprinos razlikama u raspodjeli PAH-ova. Na osi RDA2 najizraženiju pozitivnu projekciju imao je Mn, dok je Cd bio negativno usmjeren. Pozitivne projekcije na osi RDA1 utvrđene su i za analizirane PAH-ove, a najizraženije su bile za BaP, Flt, BbF, BkF, Pyr, BghiP, Chr, IcdP, BaA i Phe. Na osi RDA2 Naph i Ace imali su nešto izraženija opterećenja u odnosu na preostale PAH-ove, pritom je Naph bio pozitivno, a Ace negativno usmjeren. Međutim, njihova su opterećenja bila niska, što upućuje na malen doprinos ukupnoj raspodjeli PAH-ova.

Za razliku od sedimenta, Spearmanova korelacijska analiza za dagnje pokazala je znatno slabiju povezanost između metala i PAH-ova. Utvrđena je samo jedna statistički značajna korelacija između masenih udjela PAH-ova i metala, i to između BbF i Mn ($\rho = 0,41$; $p = 2,88 \times 10^{-2}$), dok preostali parovi PAH-ova i metala nisu pokazali statistički značajne korelacije (slika 93).



Slika 93. Statistički značajne Spearmanove korelacije između PAH-ova i metala.

Kako bi se dodatno procijenio odnos između metala i PAH-ova u dagnjama, provedene su RDA i PLS analize. Ukupni model RDA analize bio je statistički značajan ($F = 2,28$; $p = 1,00 \times 10^{-3}$), što

potvrđuje povezanost metala i PAH-ova u dagnjama na razini cijelog skupa podataka. Međutim, osi RDA analize objasnile su razmjerno male udjele ukupne varijance PAH-ova. Os RDA1 objasnila je 15,60 %, a os RDA2 dodatnih 8,01 %, dok su preostale osi pojedinačno objašnjavale manje od 5 %. Analiza PLS nije pokazala statistički značajnu povezanost između metala i PAH-ova u dagnjama. Iako je prva komponenta PLS analize obuhvatila 71,47 % zajedničke kovarijance, permutacijski test nije potvrdio njezinu statističku značajnost ($p = 0,29$), pa se taj rezultat ne može pouzdano tumačiti kao stvarna povezanost između analiziranih skupova varijabli. Preostale komponente također nisu bile statistički značajne.

4.8. Određivanje porijekla PAH-ova u sedimentu primjenom dijagnostičkih omjera

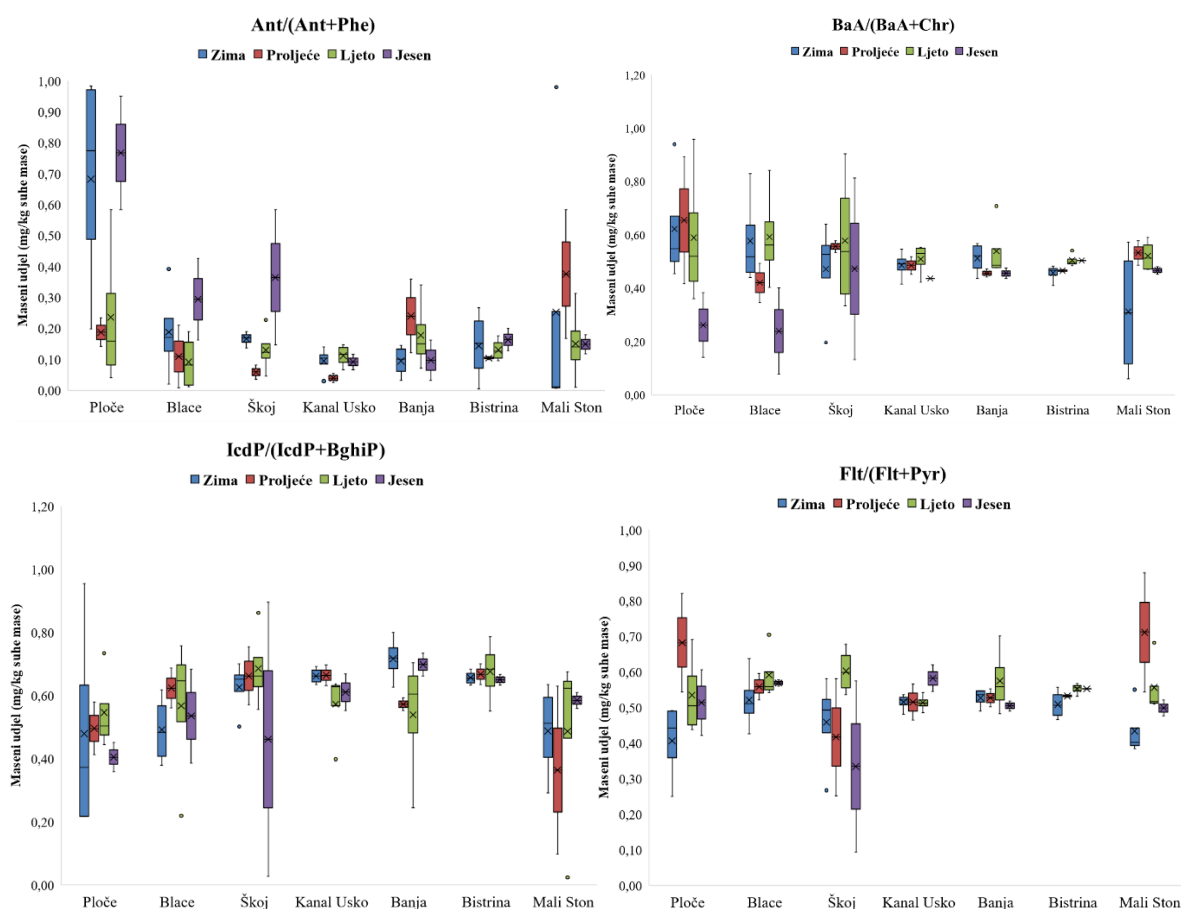
U analizi podrijetla PAH-ova u sedimentu korišteni su dijagnostički omjeri $\text{Ant}/(\text{Ant}+\text{Phe})$, $\text{Flt}/(\text{Flt}+\text{Pyr})$, $\text{BaA}/(\text{BaA}+\text{Chr})$, $\text{IcdP}/(\text{IcdP}+\text{BghiP})$, Phe/Ant i $\Sigma\text{LMW}/\Sigma\text{HMW}$, koji omogućuju razlikovanje petrogenih, pirogenih i mješovitih izvora PAH-ova prema interpretacijskim pragovima Budzinskog i sur. (1997) te Yunkera i sur. (2002). Dobiveni dijagnostički omjeri upućuju na dominantan, ali ne isključiv pirogeni doprinos PAH-ova u površinskim sedimentima, uz prisutnost mješovitih izvora. Rasponi omjera $\text{Ant}/(\text{Ant}+\text{Phe})$, $\text{Flt}/(\text{Flt}+\text{Pyr})$, $\text{BaA}/(\text{BaA}+\text{Chr})$ i $\text{IcdP}/(\text{IcdP}+\text{BghiP})$ obuhvaćaju područja karakteristična i za petrogene i za pirogene izvore. Omjer Phe/Ant kretao se od 0,02 do 217,03, dok je omjer $\Sigma\text{LMW}/\Sigma\text{HMW}$ bio u rasponu od 0,03 do 3,19. U većini uzoraka omjer $\Sigma\text{LMW}/\Sigma\text{HMW}$ bio je manji od 1, što podupire prevladavajući pirogeni signal, dok lokalno povišeni omjeri upućuju na povremeni petrogeni doprinos.

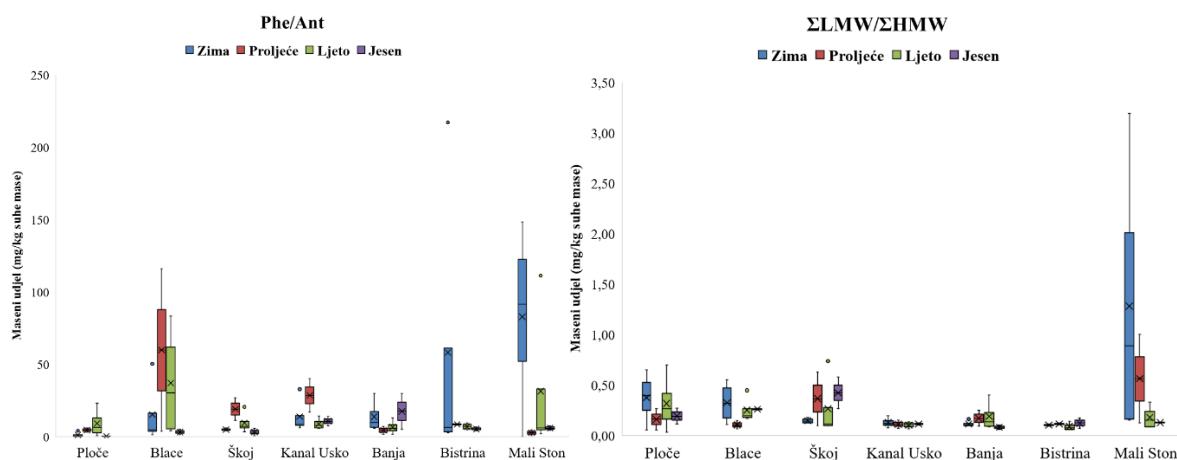
Razlike dijagnostičkih omjera PAH-ova između Malostonskog zaljeva i područja ušća rijeke Neretve bile su od 3,03 % do 56,16 % (tablica 26; slika 94). Većina omjera pokazala je male razlike između područja, uglavnom do 11,51 %, što upućuje na međusobno usporedivo podrijetlo PAH-ova u sedimentima obaju područja. Izraženije razlike utvrđene su za omjere $\text{Ant}/(\text{Ant}+\text{Phe})$ (56,16 %) i Phe/Ant (47,32 %). U Malostonskom zaljevu viši su bili omjeri $\text{Flt}/(\text{Flt}+\text{Pyr})$, $\text{IcdP}/(\text{IcdP}+\text{BghiP})$ i Phe/Ant , dok su u području ušća rijeke Neretve viši bili omjeri $\text{Ant}/(\text{Ant}+\text{Phe})$, $\text{BaA}/(\text{BaA}+\text{Chr})$ i $\Sigma\text{LMW}/\Sigma\text{HMW}$.

Unutar Malostonskog zaljeva nije utvrđena ujednačena prostorna raspodjela svih analiziranih dijagnostičkih omjera PAH-ova. Najizraženije razlike među postajama utvrđene su za omjere

Σ LMW/ Σ HMW, Phe/Ant i Ant/(Ant+Phe). Postaja Mali Ston izdvajala se višim omjerima Σ LMW/ Σ HMW, Phe/Ant i Ant/(Ant+Phe) u odnosu na postaje Kanal Usko, Bistrina i Banja. Razlike između postaje Mali Ston i ostalih postaja Malostonskog zaljeva dosezale su 53,42 % u odnosu na Kanal Usko, 57,45 % u odnosu na Bistrinu i 46,55 % u odnosu na Banju. Ostali dijagnostički omjeri pokazali su manju prostornu promjenjivost, pri čemu su najveće razlike iznosile 2,49 % za Flt/(Flt+Pyr), 12,21 % za BaA/(BaA+Chr) i 31,57 % za IcdP/(IcdP+BghiP).

Na području ušća rijeke Neretve najveće razlike među postajama utvrđene su za omjere Ant/(Ant+Phe) i Phe/Ant. Postaja Ploče izdvajala se višim omjerom Ant/(Ant+Phe) u odnosu na postaje Blace i Škoj, dok je omjer Phe/Ant bio viši na postaji Blace. Preostali dijagnostički omjeri bili su ujednačeniji među postajama, pri čemu su najveće razlike iznosile 15,39 % za Flt/(Flt+Pyr), 10,79 % za BaA/(BaA+Chr), 23,77 % za IcdP/(IcdP+BghiP) i 13,15 % za Σ LMW/ Σ HMW.





Slika 94. Prostorna raspodjela dijagnostičkih omjera Ant/(Ant+Phe), BaA/(BaA+Chr), IcdP/(IcdP+BghiP), Flt/(Flt+Pyr), Phe/Ant i Σ LMW/ Σ HMW u sedimentu.

Tablica 26. Rasponi i srednji omjeri dijagnostičkih omjera PAH-ova u površinskim sedimentima po postajama.

Područje	Postaja	Ant/(Ant+Phe)	Flt/(Flt+Pyr)	BaA/(BaA+Chr)	IcdP/(IcdP+BghiP)	Σ LMW/ Σ HMW	Phe/Ant
Ušće rijeke Neretve	Ploče	0,04 – 0,98 (0,47)	0,25 – 0,82 (0,51)	0,14 – 0,96 (0,56)	0,22 – 0,95 (0,49)	0,03 – 0,70 (0,29)	0,02 – 23,14 (4,31)
	Blace	0,01 – 0,43 (0,16)	0,43 – 0,71 (0,56)	0,08 – 0,84 (0,50)	0,22 – 0,76 (0,55)	0,07 – 0,55 (0,25)	1,34 – 115,97 (28,04)
	Škoj	0,04 – 0,58 (0,17)	0,09 – 0,68 (0,48)	0,13 – 0,90 (0,52)	0,03 – 0,90 (0,62)	0,10 – 0,74 (0,27)	0,71 – 27,00 (8,63)
Malostonski zaljev	Kanal Usko	0,02 – 0,15 (0,09)	0,47 – 0,62 (0,53)	0,42 – 0,55 (0,49)	0,40 – 0,70 (0,62)	0,07 – 0,19 (0,12)	5,82 – 40,08 (14,23)
	Banja	0,03 – 0,36 (0,15)	0,48 – 0,70 (0,54)	0,44 – 0,71 (0,50)	0,24 – 0,80 (0,63)	0,06 – 0,40 (0,14)	1,78 – 30,04 (10,55)

Bistrina	4,59×10 ⁻³ – 0,27 (0,14)	0,47 – 0,57 (0,54)	0,41 – 0,54 (0,48)	0,55 – 0,79 (0,66)	0,06 – 0,18 (0,10)	2,76 – 217,03 (24,14)
Mali Ston	0,01 – 0,98 (0,22)	0,38 – 0,88 (0,53)	0,06 – 0,59 (0,44)	0,02 – 0,68 (0,48)	0,09 – 3,19 (0,60)	0,02 – 148,43 (39,60)

Udio pirogenih pokazatelja dodatno potvrđuje prevladavajući pirogeni signal u površinskim sedimentima (tablica 27). U Malostonskom zaljevu prosječni pirogeni udio kretao se od 70,83 % na postaji Mali Ston do 90,28 % na postaji Bistrina, dok je na postajama Kanal Usko i Banja iznosio 79,17 % odnosno 83,33 %. U području ušća rijeke Neretve prosječni pirogeni udio kretao se od 75,00 % na postaji Ploče do 80,56 % na postaji Škoj, dok je na postaji Blace iznosio 79,17 %. Takvi udjeli potvrđuju visoku zastupljenost pirogenih pokazatelja u oba istraživana područja.

Tablica 27. Udio pirogenih pokazatelja u površinskim sedimentima po postajama.

Područje	Postaja	Ant/(Ant +Phe) > 0,1	Flt/(Flt +Pyr) > 0,5	BaA/(Ba A+Chr) > 0,35	IcdP/(Icd P+BghiP) > 0,5	Phe/ Ant < 10	ΣLMW /ΣHM W < 1	Prosječni pirogeni udio (%)
Ušće rijeke Neretve	Ploče	83,33	41,67	91,67	41,67	91,6 7	100,00	75,00
	Blace	66,67	91,67	83,33	66,67	66,6 7	100,00	79,17
	Škoj	75,00	66,67	75,00	91,67	75,0 0	100,00	80,56
Malostonski zaljev	Kanal	50,00	75,00	100,00	91,67	58,3	100,00	79,17
	Usko					3		
	Banja	66,67	75,00	100,00	91,67	66,6 7	100,00	83,33
	Bistrina	66,67	83,33	100,00	100,00	91,6 7	100,00	90,28
	Mali	66,67	66,67	83,33	66,67	66,6	75,00	70,83
	Ston					7		

Sezonska raspodjela dijagnostičkih omjera PAH-ova pokazuje promjenjivost tijekom godine, bez jasno izraženog jedinstvenog sezonskog obrasca. U svim sezonama zabilježeni su omjeri karakteristični za pirogene i petrogene izvore, što upućuje na mješovito podrijetlo PAH-ova. Omjeri $\text{Ant}/(\text{Ant}+\text{Phe})$, $\text{Flt}/(\text{Flt}+\text{Pyr})$, $\text{BaA}/(\text{BaA}+\text{Chr})$ i $\text{IcdP}/(\text{IcdP}+\text{BghiP})$ u većini uzoraka upućuju na dominantan pirogeni signal, dok niži omjeri zabilježeni unutar njihovih ukupnih raspona upućuju na petrogeni doprinos u dijelu uzoraka. Omjer Phe/Ant u svim je sezonama obuhvaćao omjere manje i veće od interpretacijske granice od 10, što potvrđuje mješovito podrijetlo PAH-ova. Omjer $\Sigma\text{LMW}/\Sigma\text{HMW}$ u većini uzoraka bio je manji od 1, dok su omjeri veći od 1 zabilježeni u manjem dijelu uzoraka i upućuju na lokalno izraženiji petrogeni doprinos.

Sezonska usporedba Malostonskog zaljeva i područja ušća rijeke Neretve pokazuje manje razlike između područja tijekom godine, dok je izraženija promjenjivost utvrđena među postajama unutar pojedinih područja (tablica 28). U zimskom razdoblju u području ušća rijeke Neretve viši su bili omjeri $\text{Ant}/(\text{Ant}+\text{Phe})$ i $\text{BaA}/(\text{BaA}+\text{Chr})$, dok su u Malostonskom zaljevu viši bili omjeri $\text{Flt}/(\text{Flt}+\text{Pyr})$, $\text{IcdP}/(\text{IcdP}+\text{BghiP})$, $\Sigma\text{LMW}/\Sigma\text{HMW}$ i Phe/Ant . Najveće zimske razlike utvrđene su za Phe/Ant (141,49 %) i $\text{Ant}/(\text{Ant}+\text{Phe})$ (81,11 %). U proljetnom razdoblju viši omjeri $\text{BaA}/(\text{BaA}+\text{Chr})$, $\text{IcdP}/(\text{IcdP}+\text{BghiP})$ i Phe/Ant utvrđeni su u području ušća rijeke Neretve, dok su $\text{Ant}/(\text{Ant}+\text{Phe})$, $\text{Flt}/(\text{Flt}+\text{Pyr})$ i $\Sigma\text{LMW}/\Sigma\text{HMW}$ bili viši u Malostonskom zaljevu. Najveće proljetne razlike zabilježene su za Phe/Ant (85,72 %) i $\text{Ant}/(\text{Ant}+\text{Phe})$ (46,38 %). U ljetnom razdoblju područje ušća rijeke Neretve imalo je više srednje omjere za sve analizirane dijagnostičke omjere, pri čemu je najveća razlika utvrđena za $\Sigma\text{LMW}/\Sigma\text{HMW}$ (65,43 %). U jesenskom razdoblju u području ušća rijeke Neretve viši su bili omjeri $\text{Ant}/(\text{Ant}+\text{Phe})$ i $\Sigma\text{LMW}/\Sigma\text{HMW}$, dok su u Malostonskom zaljevu viši bili omjeri $\text{Flt}/(\text{Flt}+\text{Pyr})$, $\text{BaA}/(\text{BaA}+\text{Chr})$, $\text{IcdP}/(\text{IcdP}+\text{BghiP})$ i Phe/Ant . Najveće jesenske razlike utvrđene su za Phe/Ant (124,64 %), $\text{Ant}/(\text{Ant}+\text{Phe})$ (116,53 %) i $\Sigma\text{LMW}/\Sigma\text{HMW}$ (88,95 %).

U Malostonskom zaljevu postaja Mali Ston najčešće se izdvajala višim omjerima $\text{Ant}/(\text{Ant}+\text{Phe})$, Phe/Ant i $\Sigma\text{LMW}/\Sigma\text{HMW}$, osobito zimi i u proljeće. U području ušća rijeke Neretve postaje Ploče, Blace i Škoj izmjenjivale su se kao postaje s višim omjerima, ovisno o sezoni i analiziranom pokazatelju. Najveće sezonske razlike među postajama u Malostonskom zaljevu zabilježene su za Phe/Ant u proljeće, ljeto i jesen te za $\Sigma\text{LMW}/\Sigma\text{HMW}$ zimi. U području ušća rijeke Neretve najveće

sezonske razlike među postajama također su bile vezane uz omjer Phe/Ant, osobito između postaja Ploče i Blace te Ploče i Škoj.

Tablica 28. Sezonski rasponi i srednji omjeri dijagnostičkih omjera PAH-ova po područjima.

Područje	Sezona	Ant/ (Ant+Phe)	Flt/(Flt +Pyr)	BaA/(Ba A+Chr)	IcdP/(IcdP +BghiP)	Σ LMW/ Σ HMW	Phe/Ant
Malostonski zaljev	Jesen	0,03 – 0,20 (0,13)	0,48 – 0,62 (0,54)	0,44 – 0,51 (0,47)	0,55 – 0,73 (0,64)	0,06 – 0,18 (0,11)	4,02 – 30,04 (9,95)
	Ljeto	0,01 – 0,34 (0,14)	0,48 – 0,70 (0,55)	0,42 – 0,71 (0,52)	0,02 – 0,79 (0,57)	0,06 – 0,40 (0,14)	1,94 – 111,26 (13,54)
	Proljeće	0,02 – 0,58 (0,19)	0,47 – 0,88 (0,57)	0,44 – 0,58 (0,49)	0,10 – 0,70 (0,57)	0,07 – 1,00 (0,24)	0,71 – 40,08 (11,16)
	Zima	$4,59 \times 10^{-3}$ – 0,98 (0,15)	0,38 – 0,56 (0,50)	0,06 – 0,57 (0,44)	0,29 – 0,80 (0,63)	0,08 – 3,19 (0,41)	0,02 – 217,03 (42,30)
Ušće rijeke Neretve	Jesen	0,15 – 0,95 (0,48)	0,09 – 0,61 (0,47)	0,08 – 0,81 (0,32)	0,03 – 0,90 (0,47)	0,11 – 0,58 (0,29)	0,05 – 5,85 (2,31)
	Ljeto	0,01 – 0,58 (0,15)	0,44 – 0,71 (0,58)	0,33 – 0,96 (0,59)	0,22 – 0,86 (0,60)	0,03 – 0,74 (0,28)	0,71 – 83,54 (18,64)
	Proljeće	0,01 – 0,23 (0,12)	0,25 – 0,82 (0,55)	0,35 – 0,89 (0,54)	0,41 – 0,75 (0,59)	0,06 – 0,63 (0,21)	3,28 – 115,97 (27,90)
	Zima	0,02 – 0,98 (0,35)	0,25 – 0,64 (0,46)	0,20 – 0,94 (0,56)	0,22 – 0,95 (0,53)	0,05 – 0,65 (0,28)	0,02 – 50,49 (7,25)

Analiza sezonskog pirogenog udjela pokazuje visoku zastupljenost pirogenih pokazatelja tijekom cijelog istraživanog razdoblja u oba područja (tablica 29). U Malostonskom zaljevu sezonski pirogeni udio kretao se od 70,83 % do 87,50 %, s najvećim udjelom u jesenskom razdoblju i

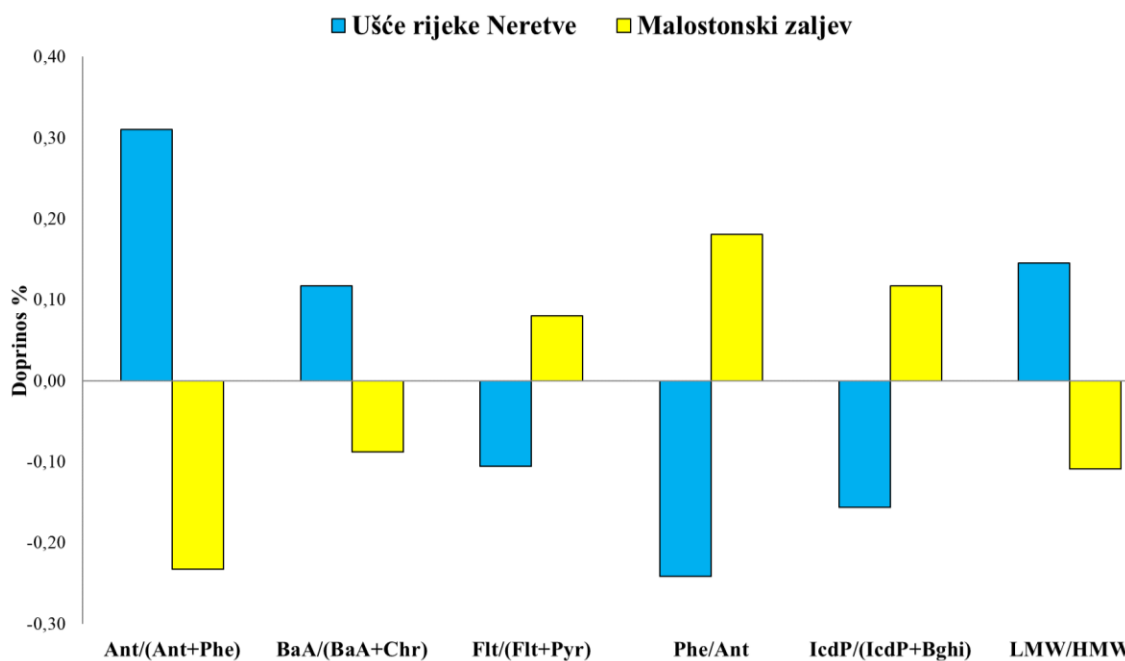
najmanjim u zimskom razdoblju. U području ušća rijeke Neretve sezonski pirogeni udio kretao se od 75,00 % do 80,56 %, s najvećim udjelom zimi te najmanjim u proljeće i jesen. Usporedba sezonskih udjela pokazuje izraženiju promjenjivost u Malostonskom zaljevu, dok su u području ušća rijeke Neretve udjeli bili ujednačeniji tijekom godine.

Tablica 29. Udio pirogenih pokazatelja u površinskim sedimentima po sezonama.

Područje	Sezona	Ant/(Ant +Phe) > 0,1	Flt/(Flt +Pyr) > 0,5	BaA/ (BaA+ Chr) > 0,35	IcdP/(IcdP +BghiP) > 0,5	Phe/ Ant < 10	Σ LMW/ Σ HMW < 1	Prosječni pirogeni udio (%)
Malostonski zaljev	Proljeće	62,50	87,50	100,00	87,50	75,0 0	87,50	83,33
	Ljeto	68,75	87,50	100,00	81,25	81,2 5	100,00	86,46
	Jesen	75,00	75,00	100,00	100,00	75,0 0	100,00	87,50
	Zima	50,00	56,25	87,50	87,50	56,2 5	87,50	70,83
Ušće rijeke Neretve	Proljeće	50,00	83,33	83,33	83,33	50,0 0	100,00	75,00
	Ljeto	58,33	83,33	91,67	75,00	66,6 7	100,00	79,17
	Jesen	100,00	66,67	50,00	33,33	100, 00	100,00	75,00
	Zima	91,67	41,67	91,67	66,67	91,6 7	100,00	80,56

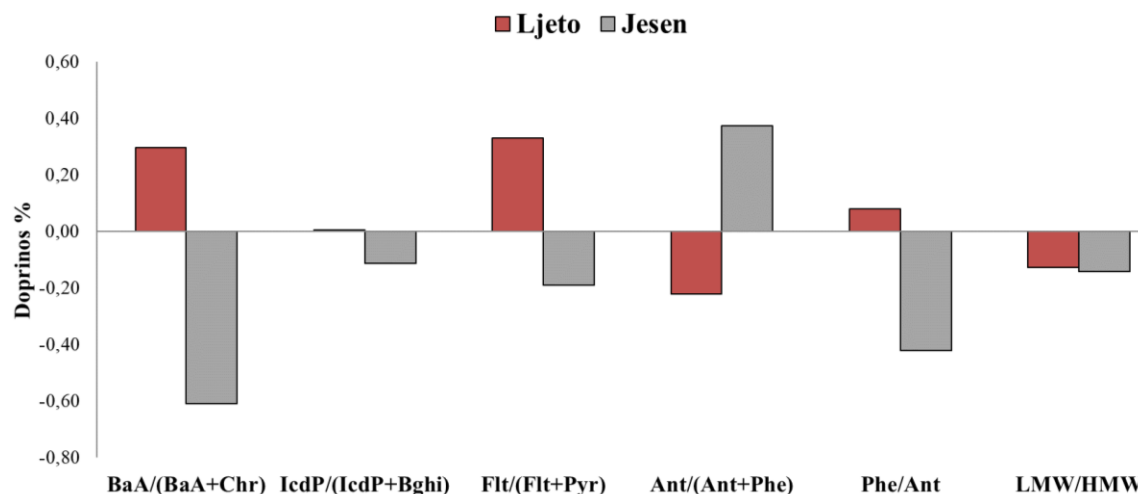
Multivarijatna PERMANOVA analiza dijagnostičkih omjera PAH-ova potvrdila je statistički značajne razlike između istraživanih područja (pseudo-F = 2,41; $p = 3,62 \times 10^{-2}$), kao i razlike između ljetnog i jesenskog razdoblja. Analiza SIMPER pokazala je da su razlikama između područja najviše pridonijeli omjeri Ant/(Ant+Phe) (17,75 %), BaA/(BaA+Chr) (17,27 %) i Flt/(Flt+Pyr) (17,21 %), dok je najmanji doprinos imao omjer Σ LMW/ Σ HMW (14,94 %) (slika 95). Viši omjeri Ant/(Ant+Phe), BaA/(BaA+Chr) i Σ LMW/ Σ HMW utvrđeni su u području ušća

rijeke Neretve, dok su Malostonski zaljev obilježili viši omjeri Flt/(Flt+Pyr), Phe/Ant i IcdP/(IcdP+BghiP).



Slika 95. Relativne razlike u dijagnostičkim omjerima Ant/(Ant+Phe), BaA/(BaA+Chr), IcdP/(IcdP+BghiP), Flt/(Flt+Pyr), Phe/Ant i Σ LMW/ Σ HMW između sedimenata s područja Malostonskog zaljeva i ušća rijeke Neretve.

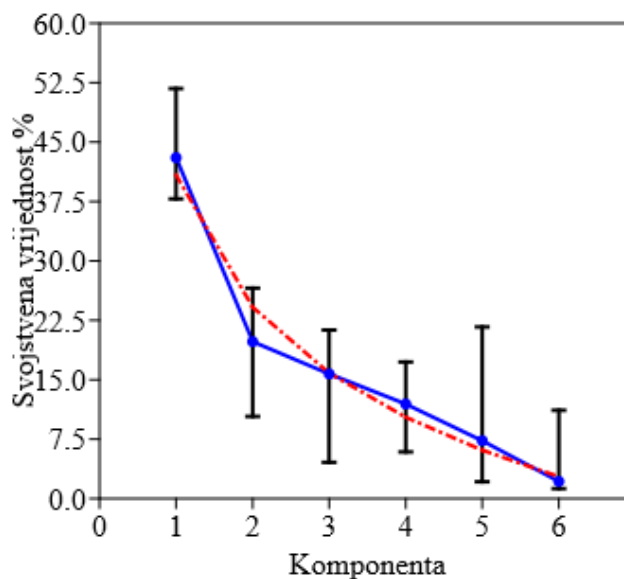
Sezonska SIMPER analiza za razlike između ljetnog i jesenskog razdoblja pokazala je da su ukupnim razlikama najviše pridonijeli omjeri BaA/(BaA+Chr) (24,74 %), IcdP/(IcdP+BghiP) (20,73 %) i Flt/(Flt+Pyr) (19,68 %), dok je najmanji doprinos imao omjer Σ LMW/ Σ HMW (5,50 %). Viši omjeri BaA/(BaA+Chr), IcdP/(IcdP+BghiP), Flt/(Flt+Pyr), Phe/Ant i Σ LMW/ Σ HMW utvrđeni su ljeti, dok je jesen obilježena višim omjerom Ant/(Ant+Phe) (slika 96).



Slika 96. Relativne razlike u dijagnostičkim omjerima PAH-ova između ljetnog i jesenskog razdoblja.

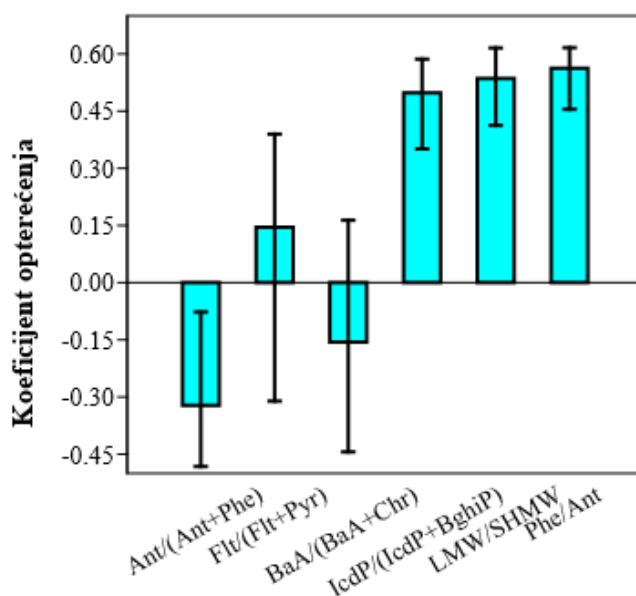
4.9. Određivanje porijekla PAH-ova primjenom PCA analize

Rezultati PCA analize dijagnostičkih omjera PAH-ova u površinskim sedimentima prikazani su na slikama 97 – 99. Prema modelu slomljene palice, za daljnju interpretaciju zadržana je samo komponenta PC1.

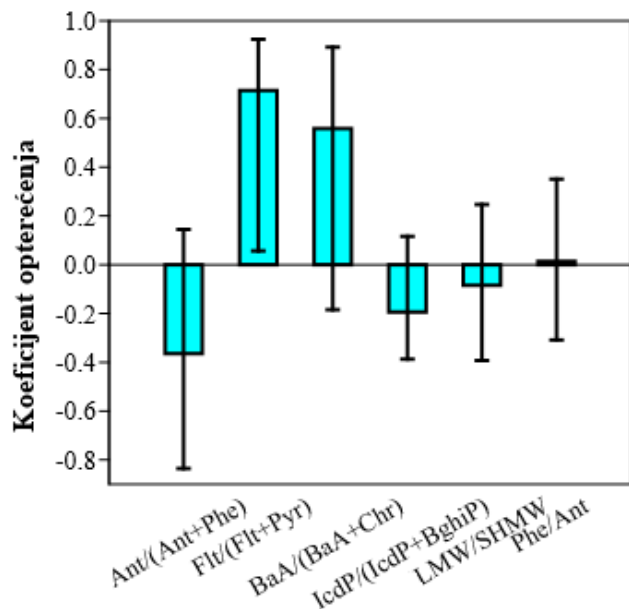


Slika 97. Dijagram glavnih komponenti za dijagnostičke omjere PAH-ova u sedimentu s prikazom modela slomljene palice.

Komponenta PC1 objašnjava 43,03 % ukupne varijance Pozitivna opterećenja omjera Phe/Ant (0,56), Σ LMW/ Σ HMW (0,54) i IcdP/(IcdP+BghiP) (0,50), uz negativna opterećenja omjera Ant/(Ant+Phe) (-0,32), BaA/(BaA+Chr) (-0,16) i Flt/(Flt+Pyr) (-0,15), upućuju na razlike u doprinosu petrogenih i pirogenih izvora PAH-ova između uzoraka (slika 98). Komponenta PC2 objašnjava 19,81 % ukupne varijance te je određena pozitivnim opterećenjima omjera Flt/(Flt+Pyr) (0,71) i BaA/(BaA+Chr) (0,56), uz negativno opterećenje omjera IcdP/(IcdP+BghiP) (-0,19) (slika 99). Komponente PC3 – PC6 kumulativno su objašnjavale 37,16 % ukupne varijance (PC3: 15,74 %, PC4: 11,94 %, PC5: 7,31 % i PC6: 2,17 %). Prema modelu slomljene palice, komponenta PC2 i preostale komponente nisu zadržane za daljnju interpretaciju te se nisu tumačile u kontekstu podrijetla PAH-ova.



Slika 98. Opterećenja PAH-ova na komponenti PC1.

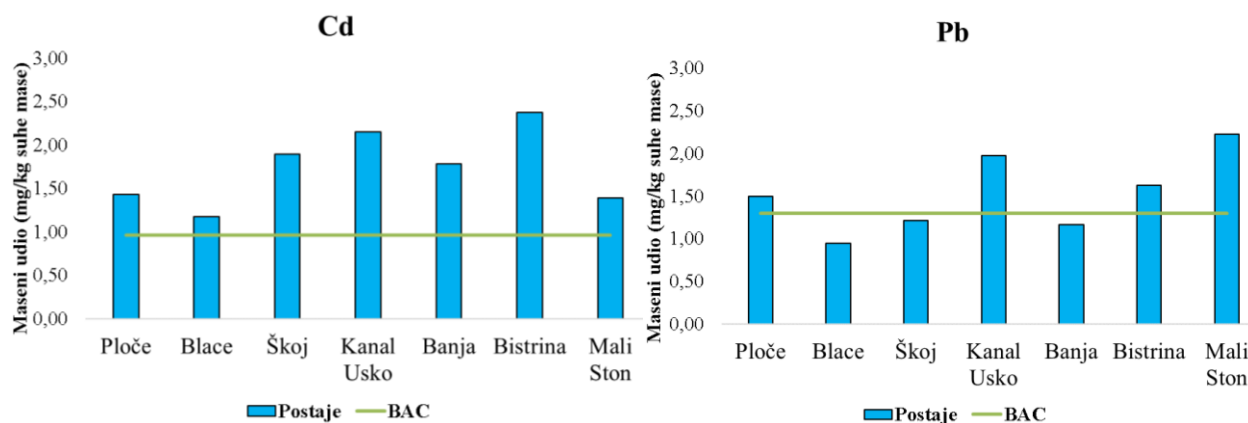


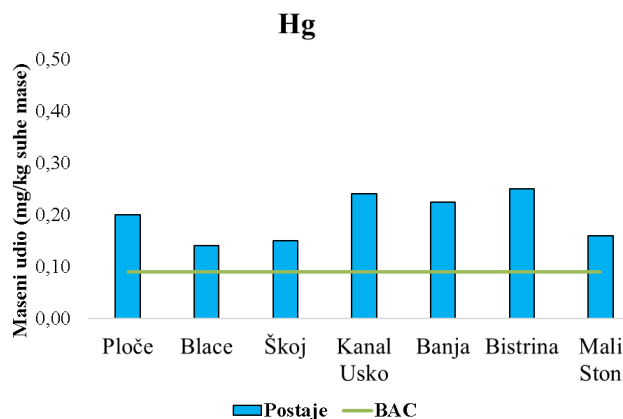
Slika 99. Opterećenja PAH-ova na komponenti PC2.

4.10. Procjena ekotoksikološkog rizika

4.10.1. Metali u školjkašima

Maseni udjeli Cd, Pb i Hg u mekom tkivu dagnji uspoređeni su s pripadajućim kriterijem BAC (vidi poglavlje 3.7.1). Maseni udjeli jednaki ili viši od kriterija BAC zabilježeni su u 45,24 % uzoraka za Cd, 9,52 % uzoraka za Pb i 59,52 % uzoraka za Hg (slika 100).

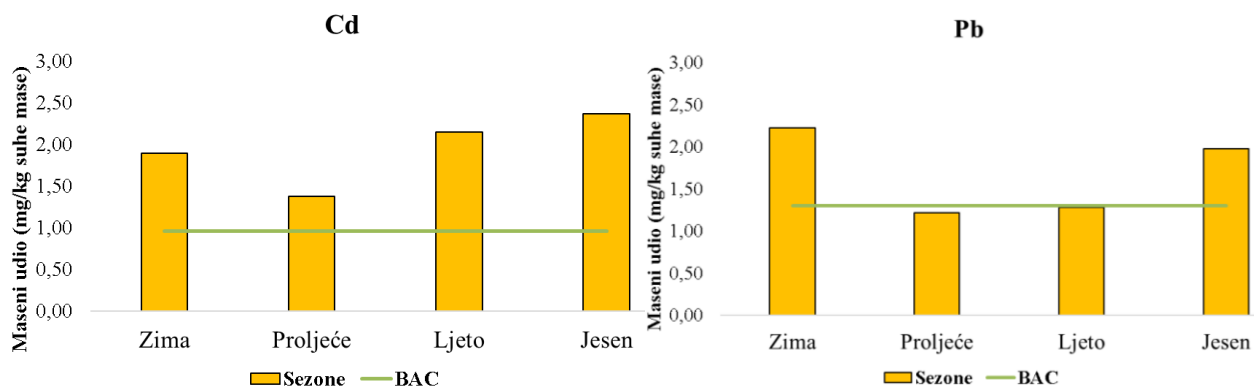


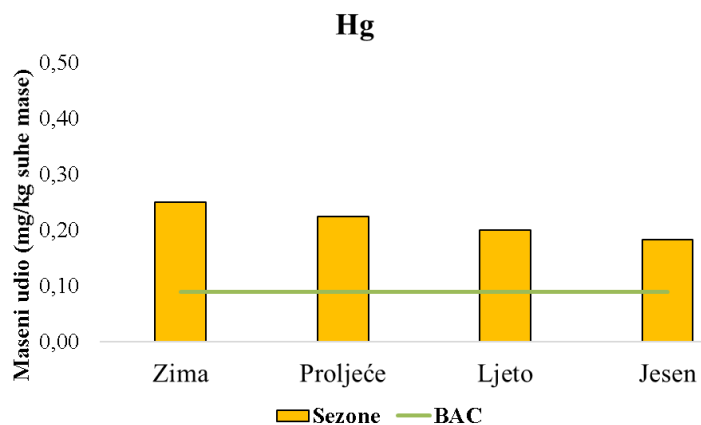


Slika 100. Maseni udjeli Cd, Pb i Hg u dagnjama na istraživanim postajama, izraženi u mg/kg suhe mase, s pripadajućim kriterijem BAC.

Usporedba istraživanih područja pokazuje da su maseni udjeli jednaki ili viši od kriterija BAC za Cd, Pb i Hg bili učestaliji u Malostonskom zaljevu nego u području ušća rijeke Neretve. U Malostonskom zaljevu utvrđeni su u 54,17 % uzoraka za Cd, 14,58 % uzoraka za Pb i 64,58 % uzoraka za Hg, dok su u području ušća rijeke Neretve zabilježeni u 33,33 % uzoraka za Cd, 2,78 % uzoraka za Pb i 52,78 % uzoraka za Hg.

Maseni udjeli jednaki ili viši od kriterija BAC za Cd i Hg utvrđeni su na svim istraživanim postajama. Za Cd su obuhvaćali od 41,67 % do 66,67 % uzoraka u Malostonskom zaljevu te od 8,33 % do 50,00 % uzoraka u području ušća rijeke Neretve. Za Hg su obuhvaćali od 50,00 % do 75,00 % uzoraka u Malostonskom zaljevu te od 50,00 % do 58,33 % uzoraka u području ušća rijeke Neretve. Maseni udjeli jednaki ili viši od kriterija BAC za Pb utvrđeni su na postajama Kanal Usko, Bistrina i Mali Ston u Malostonskom zaljevu te na postaji Ploče u području ušća rijeke Neretve. Njihova je učestalost iznosila od 16,67 % do 25,00 % uzoraka u Malostonskom zaljevu te 8,33 % uzoraka na postaji Ploče.





Slika 101. Sezonska raspodjela masenih udjela Cd, Pb i Hg u dagnjama, izraženih u mg/kg suhe mase, s pripadajućim kriterijem BAC.

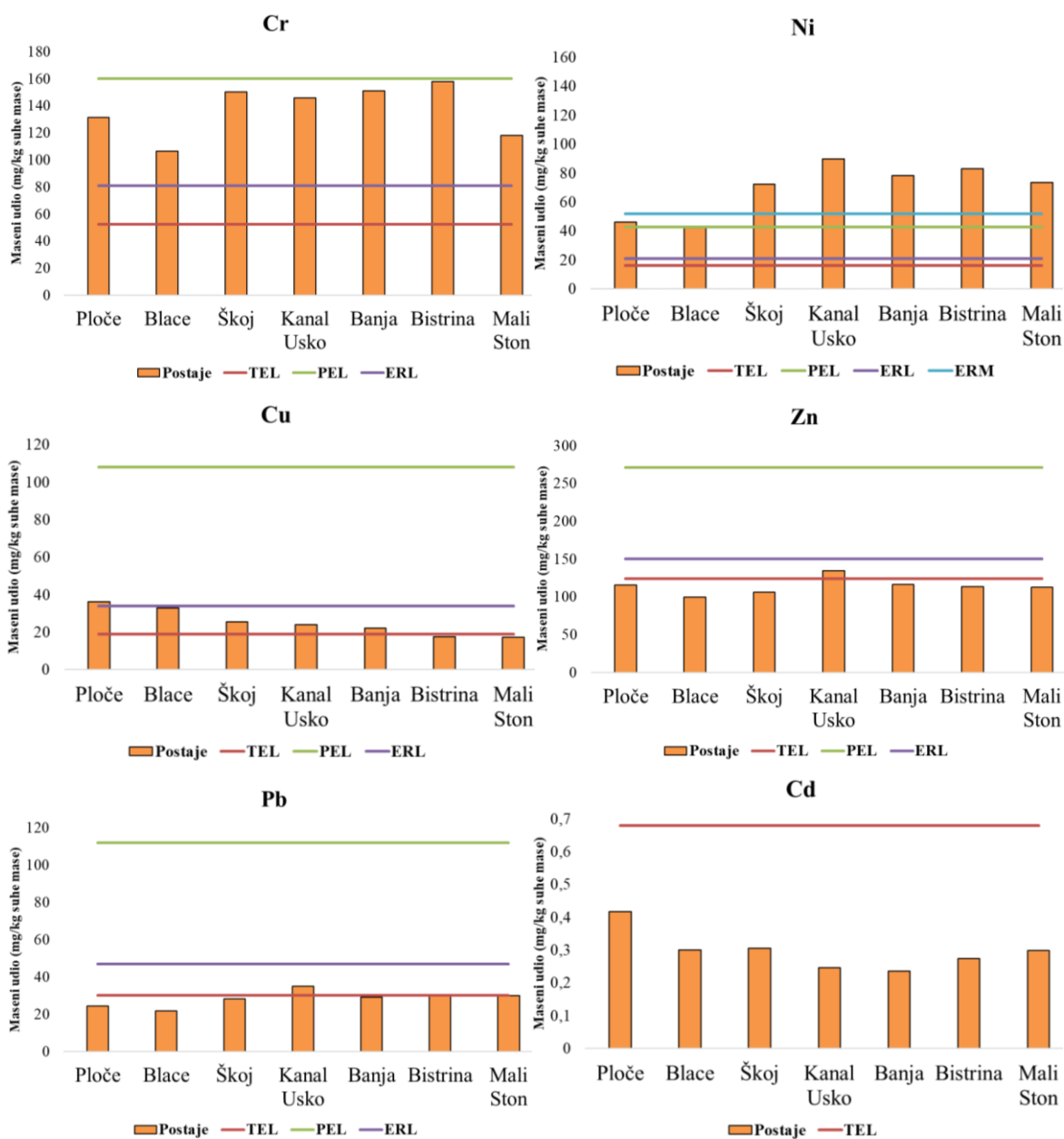
Sezonska usporedba pokazuje da je najviši udio masenih udjela jednakih ili viših od kriterija BAC za Cd i Hg utvrđen zimi, i to u 64,29 % uzoraka za Cd i 89,29 % uzoraka za Hg. Maseni udjeli jednaki ili viši od kriterija BAC za Pb zabilježeni su samo zimi i u jesen, pri čemu je viši udio utvrđen u jesen (28,57 %) nego zimi (14,29 %) (slika 101).

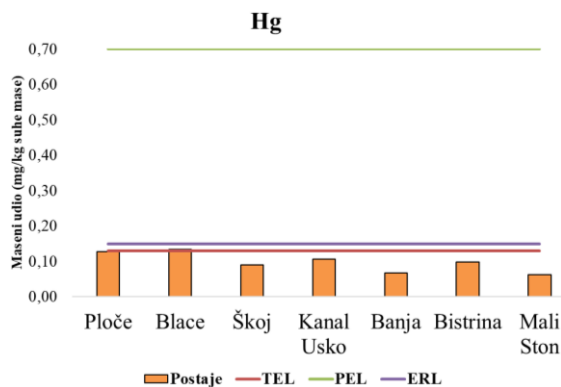
Tijekom proljeća maseni udjeli jednaki ili viši od kriterija BAC utvrđeni su u 35,71 % uzoraka za Cd i 57,14 % uzoraka za Hg, dok za Pb nisu zabilježeni. Tijekom ljeta maseni udjeli jednaki ili viši od kriterija BAC utvrđeni su u 32,14 % uzoraka za Cd i 32,14 % uzoraka za Hg, dok za Pb nisu zabilježeni. U jesenskom razdoblju maseni udjeli jednaki ili viši od kriterija BAC utvrđeni su u 42,86 % uzoraka za Cd, 57,14 % uzoraka za Hg i 28,57 % uzoraka za Pb.

4.10.2. Metali u sedimentu

Maseni udjeli metala u uzorcima sedimenta uspoređeni su s donjim pragovima učinka (TEL i ERL) te gornjim pragovima učinka (PEL i ERM) za Cr, Ni, Cu, Zn, Pb, Cd i Hg (slike 102 i 103). U analiziranim uzorcima prekoračenja TEL praga utvrđena su za Cr, Ni, Cu, Zn, Pb i Hg, dok za Cd nijedan izmjereni maseni udio nije prelazio TEL, ERL, PEL ni ERM prag. Najveći udio prekoračenja TEL praga zabilježen je za Cr (78,57 %) i Ni (77,38 %), zatim za Cu (14,29 %), Pb (2,38 %) te Zn i Hg (po 1,19 %). Prekoračenja ERL praga utvrđena su za Cr (72,62 %) i Ni (66,67 %), dok je za Cu zabilježeno prekoračenje u jednom uzorku (1,19 %). Prekoračenja gornjih pragova učinka utvrđena su isključivo za Ni, pri čemu je PEL prag prekoračen u 52,38 % uzoraka, a ERM

prag u 42,86 % uzoraka. Za metale čiji maseni udjeli nisu prelazili TEL prag na slikama su prikazani isključivo TEL pragovi.





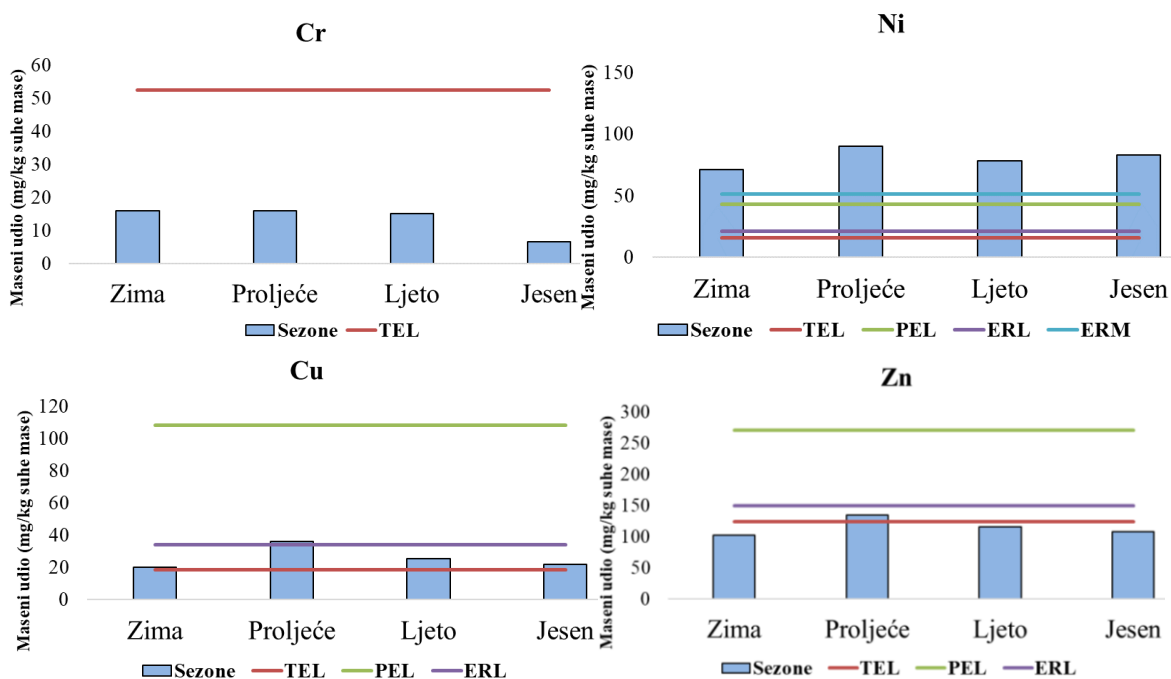
Slika 102. Maseni udjeli metala u uzorcima sedimenta, izraženi u mg/kg suhe mase, na istraživanim postajama s pripadajućim TEL, ERL i PEL pragovima.

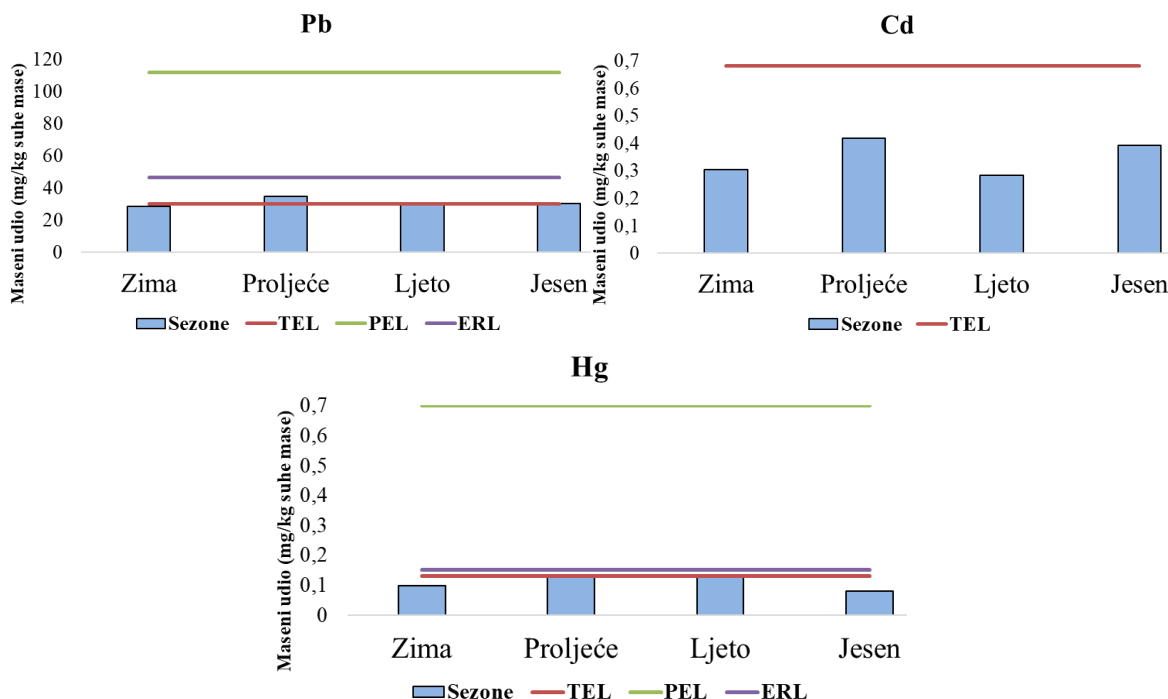
Usporedba istraživanih područja pokazuje da su prekoračenja pragova učinka bila učestalija u Malostonskom zaljevu nego u području ušća rijeke Neretve, osobito za Cr i Ni. U području ušća rijeke Neretve prekoračenja TEL praga utvrđena su u 72,22 % uzoraka za Cr, 63,89 % uzoraka za Ni, 16,67 % uzoraka za Cu i 2,78 % uzoraka za Hg, dok za Zn, Pb i Cd nisu zabilježena. Prekoračenja ERL praga u istom području utvrđena su u 63,89 % uzoraka za Cr, 41,67 % uzoraka za Ni i 2,78 % uzoraka za Cu. Prekoračenja PEL i ERM pragova zabilježena su samo za Ni, i to u 13,89 % uzoraka za PEL prag i 5,56 % uzoraka za ERM prag. U Malostonskom zaljevu prekoračenja TEL praga bila su učestalija te su utvrđena u 83,33 % uzoraka za Cr, 87,50 % uzoraka za Ni, 12,50 % uzoraka za Cu, 2,08 % uzoraka za Zn i 4,17 % uzoraka za Pb, dok prekoračenja za Hg i Cd nisu zabilježena. Prekoračenja ERL praga utvrđena su u 79,17 % uzoraka za Cr i 85,42 % uzoraka za Ni. Kao i u području ušća rijeke Neretve, prekoračenja PEL i ERM pragova bila su vezana isključivo uz Ni, ali su bila znatno učestalija: 81,25 % uzoraka prelazilo je PEL prag, a 70,83 % uzoraka ERM prag.

Među istraživanim postajama u Malostonskom zaljevu najizraženija prekoračenja utvrđena su za Cr i Ni. Prekoračenja TEL praga za oba metala zabilježena su na svim postajama. Na postajama Kanal Usko, Banja i Bistrina prekoračenja su obuhvaćala 100,00 % uzoraka, dok su na postaji Mali Ston bila niža te su iznosila 33,33 % uzoraka za Cr i 50,00 % uzoraka za Ni. Prekoračenja ERL praga za Cr utvrđena su u 100,00 % uzoraka na postajama Kanal Usko i Bistrina, u 91,67 % uzoraka na postaji Banja te u 25,00 % uzoraka na postaji Mali Ston. Za Ni su prekoračenja ERL praga zabilježena u 100,00 % uzoraka na postajama Kanal Usko, Banja i Bistrina te u 41,67 % uzoraka na postaji Mali Ston. Prekoračenja PEL praga za Ni iznosila su 100,00 % uzoraka na postajama

Kanal Usko, Banja i Bistrina te 25,00 % uzoraka na postaji Mali Ston, dok su prekoračenja ERM praga iznosila 83,33 % uzoraka na postajama Kanal Usko i Banja, 91,67 % uzoraka na postaji Bistrina te 25,00 % uzoraka na postaji Mali Ston. Za Cu, Zn i Pb u Malostonskom zaljevu zabilježena su isključivo prekoračenja TEL praga. Prekoračenja TEL praga za Cu utvrđena su na postajama Kanal Usko i Banja, i to u 16,67 % odnosno 33,33 % uzoraka. Za Zn je prekoračenje TEL praga utvrđeno samo na postaji Kanal Usko u 8,33 % uzoraka, dok su za Pb prekoračenja zabilježena na postajama Kanal Usko i Bistrina, također u 8,33 % uzoraka.

U području ušća rijeke Neretve prekoračenja TEL praga za Cr i Ni također su utvrđena na svim postajama. Za Cr su obuhvaćala od 66,67 % do 75,00 % uzoraka, a za Ni od 25,00 % do 83,33 % uzoraka. Prekoračenja PEL praga utvrđena su isključivo za Ni, i to u 16,67 % uzoraka na postajama Ploče i Škoj te u 8,33 % uzoraka na postaji Blace. Prekoračenja ERM praga za Ni zabilježena su samo na postaji Škoj, u 16,67 % uzoraka. Za Cu su prekoračenja TEL praga utvrđena na svim postajama u rasponu od 8,33 % do 25,00 % uzoraka, dok je prekoračenje ERL praga za Cu utvrđeno samo na postaji Ploče u 8,33 % uzoraka. Prekoračenja TEL praga za Hg zabilježena su samo na postaji Blace u 8,33 % uzoraka.





Slika 103. Sezonska raspodjela masenih udjela metala u uzorcima sedimenta, izraženih u mg/kg suhe mase, s pripadajućim pragovima učinka.

Sezonska raspodjela, prikazana na slici 103, pokazuje da su prekoračenja TEL praga za Cr, Ni i Cu zabilježena tijekom svih sezona. Prekoračenja TEL praga za Zn utvrđena su samo tijekom proljeća, za Pb tijekom proljeća i jeseni, a za Hg tijekom ljeta. Prekoračenja ERL praga za Cr i Ni zabilježena su tijekom svih sezona, dok je za Cu prekoračenje ERL praga utvrđeno samo tijekom proljeća. Prekoračenja PEL i ERM pragova tijekom svih sezona bila su vezana isključivo uz Ni.

U zimskom razdoblju prekoračenja TEL praga utvrđena su u 75,00 % uzoraka za Cr, 67,86 % uzoraka za Ni i 3,57 % uzoraka za Cu. Prekoračenja ERL praga iznosila su 71,43 % uzoraka za Cr i 57,14 % uzoraka za Ni, dok su prekoračenja PEL i ERM pragova za Ni iznosila 46,43 % odnosno 42,86 % uzoraka. Tijekom proljeća zabilježen je najveći udio prekoračenja TEL praga za Cr i Ni, po 85,71 % uzoraka, te za Cu, 35,71 % uzoraka. U istoj sezoni prekoračenja TEL praga za Zn i Pb iznosila su po 7,14 % uzoraka. Prekoračenja ERL praga utvrđena su u 64,29 % uzoraka za Cr, 85,71 % uzoraka za Ni i 7,14 % uzoraka za Cu, dok su prekoračenja PEL i ERM pragova za Ni iznosila 71,43 % odnosno 35,71 % uzoraka. Tijekom ljeta prekoračenja TEL praga utvrđena su u 82,14 % uzoraka za Cr, 85,71 % uzoraka za Ni, 17,86 % uzoraka za Cu i 3,57 % uzoraka za Hg. Prekoračenja ERL praga iznosila su 78,57 % uzoraka za Cr i 71,43 % uzoraka za Ni, dok su

prekoračenja PEL i ERM pragova za Ni iznosila 50,00 % odnosno 42,86 % uzoraka. U jesenskom razdoblju prekoračenja TEL praga zabilježena su u 71,43 % uzoraka za Cr i Ni te u 7,14 % uzoraka za Cu i Pb. Prekoračenja ERL praga iznosila su 71,43 % uzoraka za Cr i 57,14 % uzoraka za Ni, dok su prekoračenja PEL i ERM pragova za Ni iznosila po 50,00 % uzoraka.

4.10.3. PAH-ovi u školjkašima

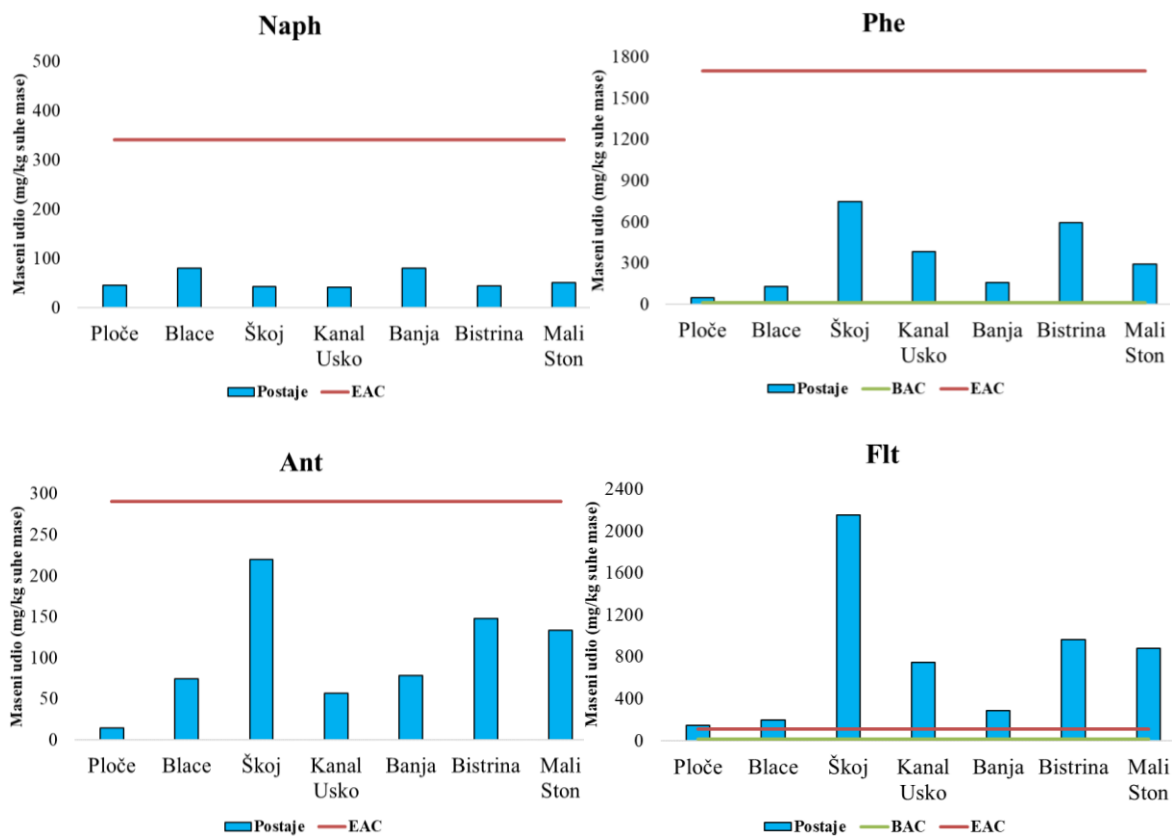
Maseni udjeli PAH-ova u dagnjama uspoređeni su s OSPAR-ovim kriterijem BAC definiranim za Phe, Flt, Pyr, BaA, Chr, BaP, BghiP i IcdP te s dostupnim kriterijem EAC definiranim za Naph, Phe, Ant, Flt, Pyr, BaA, BaP i BghiP (slika 104). U analiziranim uzorcima prekoračenja kriterija BAC utvrđena su za sve PAH-ove za koje je taj kriterij dostupan. Najviši udio prekoračenja kriterija BAC zabilježen je za BghiP (97,62 %), zatim za BaP (92,86 %), IcdP (89,29 %), BaA (86,90 %), Flt i Pyr (85,71 %), Phe (83,33 %) te Chr (76,19 %). Prekoračenja kriterija EAC utvrđena su isključivo za Pyr (45,24 %), Flt (44,05 %), BaA (30,95 %) i BghiP (19,05 %), dok za Naph, Phe, Ant i BaP nisu zabilježena.

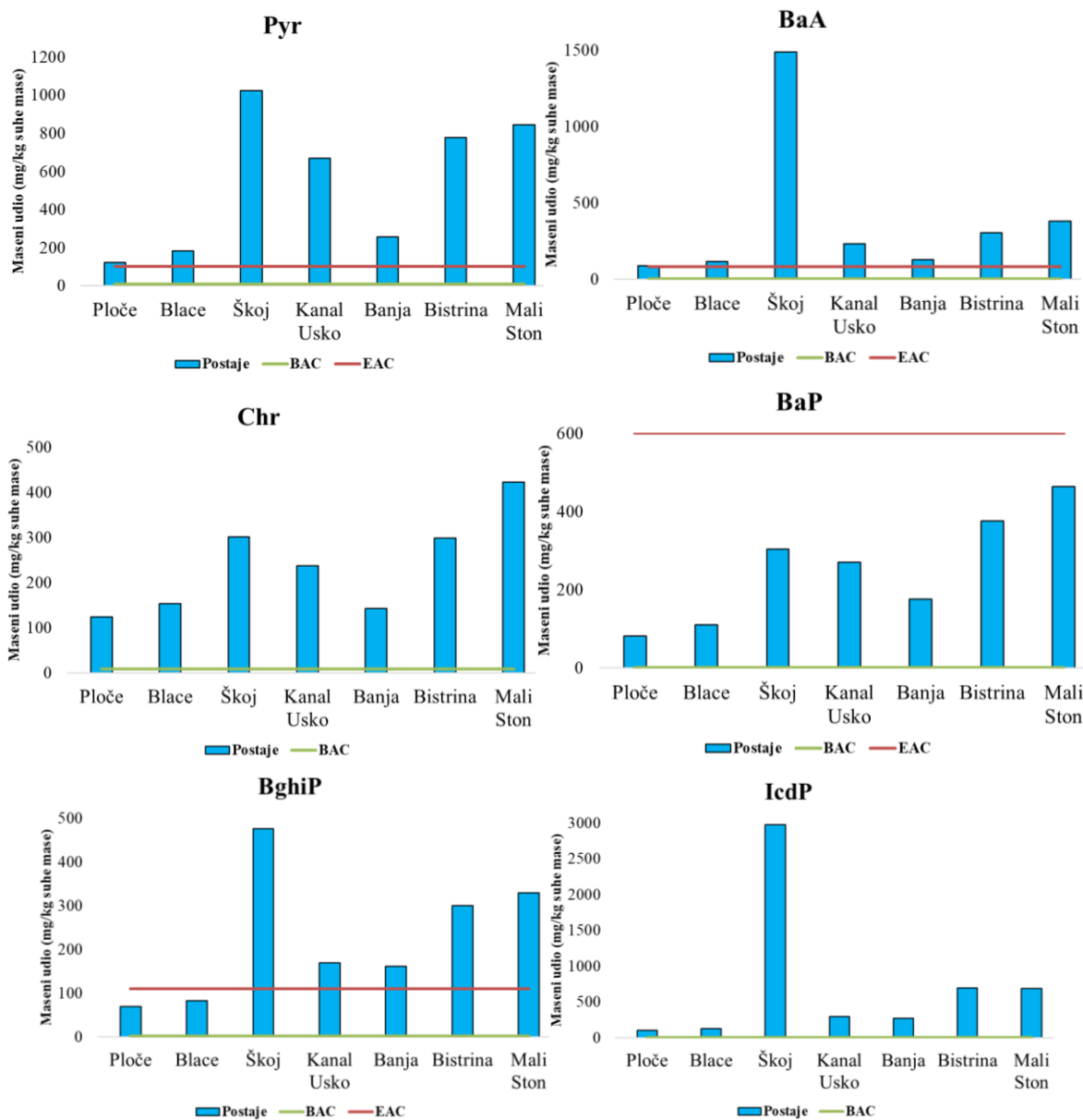
Usporedba istraživanih područja pokazuje da su prekoračenja kriterija BAC bila učestalija u Malostonskom zaljevu nego u području ušća rijeke Neretve. U Malostonskom zaljevu prekoračenja kriterija BAC utvrđena su u 93,75 % uzoraka za Phe, Flt, Pyr i BaA, u 85,42 % uzoraka za Chr, u 95,83 % uzoraka za BaP, u 100,00 % uzoraka za BghiP te u 91,67 % uzoraka za IcdP. U području ušća rijeke Neretve zabilježena su u 69,44 % uzoraka za Phe, 75,00 % uzoraka za Flt i Pyr, 77,78 % uzoraka za BaA, 63,89 % uzoraka za Chr, 88,89 % uzoraka za BaP, 94,44 % uzoraka za BghiP te 86,11 % uzoraka za IcdP.

Prekoračenja kriterija BAC za Phe, Flt, Pyr, BaA, Chr, BaP, BghiP i IcdP utvrđena su na svim istraživanim postajama u oba područja. U Malostonskom zaljevu na postaji Kanal Usko prekoračenja kriterija BAC utvrđena su u 100,00 % uzoraka za sve PAH-ove s dostupnim kriterijem BAC. Na postaji Banja obuhvaćala su od 91,67 % do 100,00 % uzoraka, na postaji Bistrina 100,00 % uzoraka, a na postaji Mali Ston od 50,00 % do 100,00 % uzoraka. U području ušća rijeke Neretve prekoračenja kriterija BAC na postaji Ploče utvrđena su u rasponu od 33,33 % do 83,33 % uzoraka, na postaji Blace od 75,00 % do 100,00 % uzoraka te na postaji Škoj od 83,33 % do 100,00 % uzoraka.

Prekoračenja kriterija EAC bila su učestalija u Malostonskom zaljevu. U tom su području utvrđena u 58,33 % uzoraka za Flt, 60,42 % uzoraka za Pyr, 37,50 % uzoraka za BaA i 29,17 % uzoraka za BghiP. U području ušća rijeke Neretve zabilježena su u 25,00 % uzoraka za Flt i Pyr, 22,22 % uzoraka za BaA te 5,56 % uzoraka za BghiP. Za Naph, Phe, Ant i BaP nisu utvrđena prekoračenja kriterija EAC ni u jednom području.

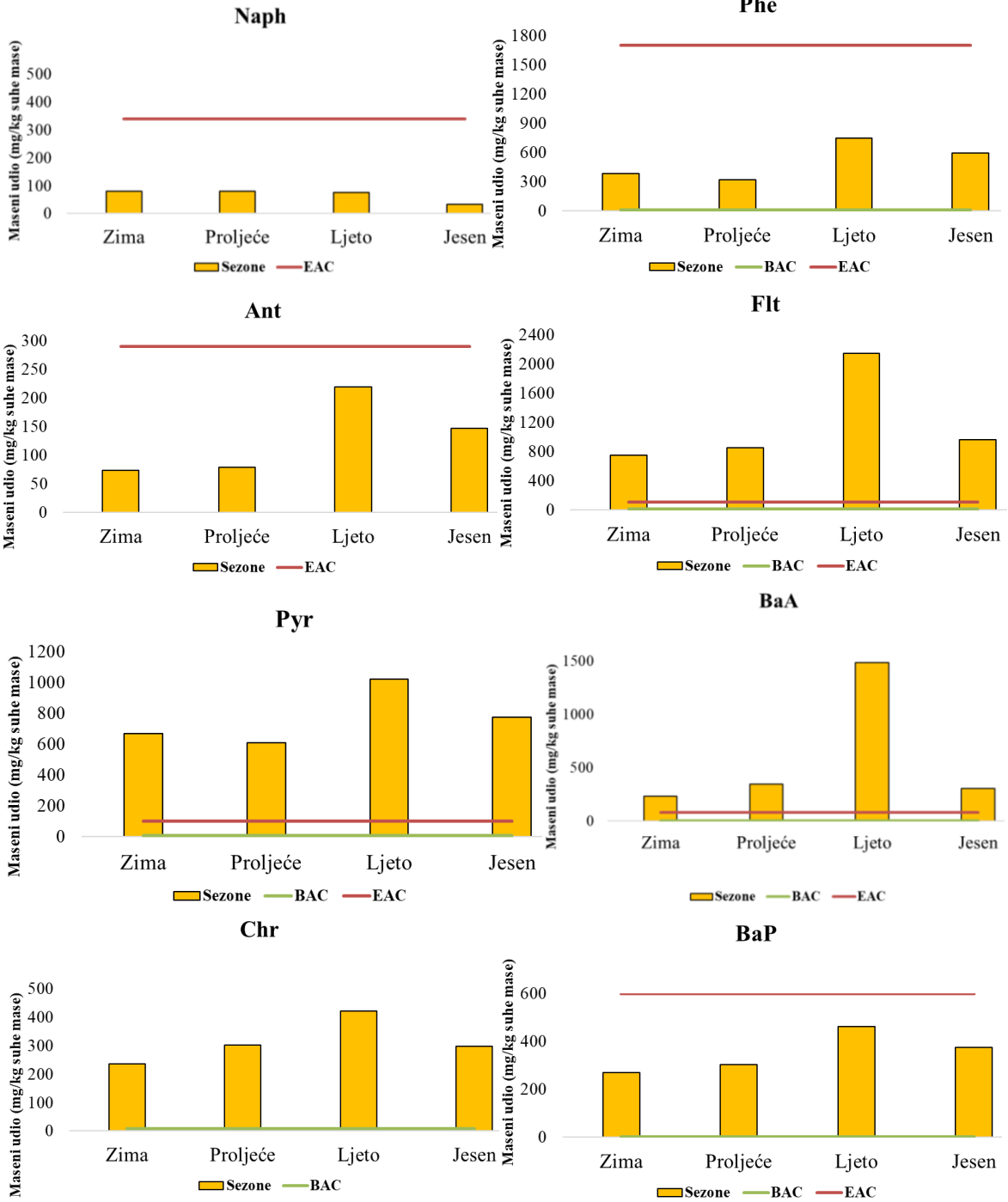
U Malostonskom zaljevu prekoračenja kriterija EAC na postaji Kanal Usko utvrđena su u 25,00 % uzoraka za BghiP, 33,33 % za BaA, 50,00 % za Pyr i 58,33 % za Flt. Na postaji Banja iznosila su 16,67 % za BghiP, 33,33 % za BaA, 58,33 % za Flt i 75,00 % za Pyr. Na postaji Bistrina utvrđena su u 58,33 % uzoraka za BghiP, 66,67 % za BaA te 91,67 % za Flt i Pyr, dok su na postaji Mali Ston iznosila 16,67 % za BaA i BghiP te 25,00 % za Flt i Pyr. U području ušća rijeke Neretve prekoračenja kriterija EAC za Flt, Pyr i BaA utvrđena su u 8,33 % uzoraka na postaji Ploče. Na postaji Blace prekoračenja su utvrđena u 25,00 % uzoraka za BaA te 33,33 % za Flt i Pyr, dok su na postaji Škoj zabilježena u 16,67 % uzoraka za BghiP te u 33,33 % uzoraka za Flt, Pyr i BaA.

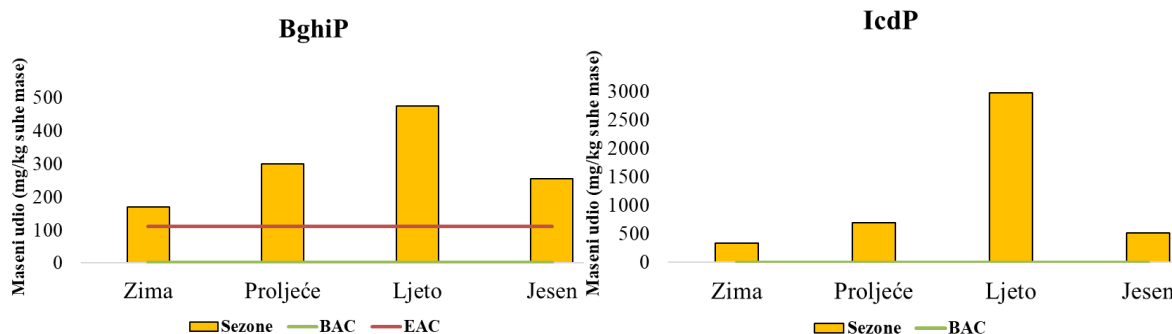




Slika 104. Maseni udjeli PAH-ova u dagnjama, izraženi u $\mu\text{g}/\text{kg}$ suhe mase, na istraživanim postajama s pripadajućim kriterijima BAC i EAC.

Rezultati sezonske analize pokazuju da su prekoračenja kriterija BAC za Phe, Flt, Pyr, BaA, Chr, BaP, BghiP i IcdP utvrđena tijekom svih sezona (slika 105). Prekoračenja kriterija EAC za Flt, Pyr, BaA i BghiP također su utvrđena tijekom svih sezona.





Slika 105. Sezonska raspodjela masenih udjela PAH-ova u dagnjama, izraženih u $\mu\text{g}/\text{kg}$ suhe mase, s pripadajućim kriterijima BAC i EAC.

U zimskom razdoblju prekoračenja kriterija BAC utvrđena su u 82,14 % uzoraka za Phe i BaA, 78,57 % uzoraka za Flt i Pyr, 71,43 % uzoraka za Chr, 89,29 % uzoraka za BaP i IcdP te 92,86 % uzoraka za BghiP. U istoj sezoni prekoračenja kriterija EAC utvrđena su u 42,86 % uzoraka za Flt, 50,00 % uzoraka za Pyr, 25,00 % uzoraka za BaA i 10,71 % uzoraka za BghiP. Tijekom proljeća prekoračenja kriterija BAC utvrđena su u 85,71 % uzoraka za Phe, Flt i BaP, 78,57 % uzoraka za Pyr, BaA i Chr, 92,86 % uzoraka za IcdP te 100,00 % uzoraka za BghiP. U istoj sezoni prekoračenja kriterija EAC utvrđena su u 50,00 % uzoraka za Flt i Pyr, 42,86 % uzoraka za BaA i 28,57 % uzoraka za BghiP. U ljetnom razdoblju prekoračenja kriterija BAC utvrđena su u 85,71 % uzoraka za Phe, 92,86 % uzoraka za Flt i BaA, 96,43 % uzoraka za Pyr, 75,00 % uzoraka za Chr, 100,00 % uzoraka za BaP i BghiP te 89,29 % uzoraka za IcdP. Prekoračenja kriterija EAC u istoj sezoni utvrđena su u 42,86 % uzoraka za Flt, 39,29 % uzoraka za Pyr i BaA te 25,00 % uzoraka za BghiP. U jesenskom razdoblju prekoračenja kriterija BAC utvrđena su u 78,57 % uzoraka za Phe, 85,71 % uzoraka za Flt, Pyr, Chr i IcdP, 92,86 % uzoraka za BaA i BaP te 100,00 % uzoraka za BghiP. Prekoračenja kriterija EAC u istoj sezoni utvrđena su u 42,86 % uzoraka za Flt i Pyr te u 14,29 % uzoraka za BaA i BghiP.

4.10.4. PAH-ovi u sedimentu

Maseni udjeli PAH-ova u sedimentima uspoređeni su s dostupnim ekotoksikološkim pragovima TEL i PEL (Canadian Council of Ministers of the Environment, 2002), ERL i ERM (Long i sur., 1995) te BAC pragovima prema OSPAR smjernicama (OSPAR Commission, 2023) (slika 106). U analiziranim uzorcima prekoračenja BAC pragova utvrđena su za Naph, Phe, Ant, Flt, Pyr, BaA, Chr, BaP, BghiP i IcdP. U Malostonskom zaljevu prekoračenja BAC pragova bila su najčešća za Pyr (52,08 %), Flt (43,75 %), BaA (37,50 %), BaP (33,33 %), Chr (27,08 %) i Ant (25,00 %), dok

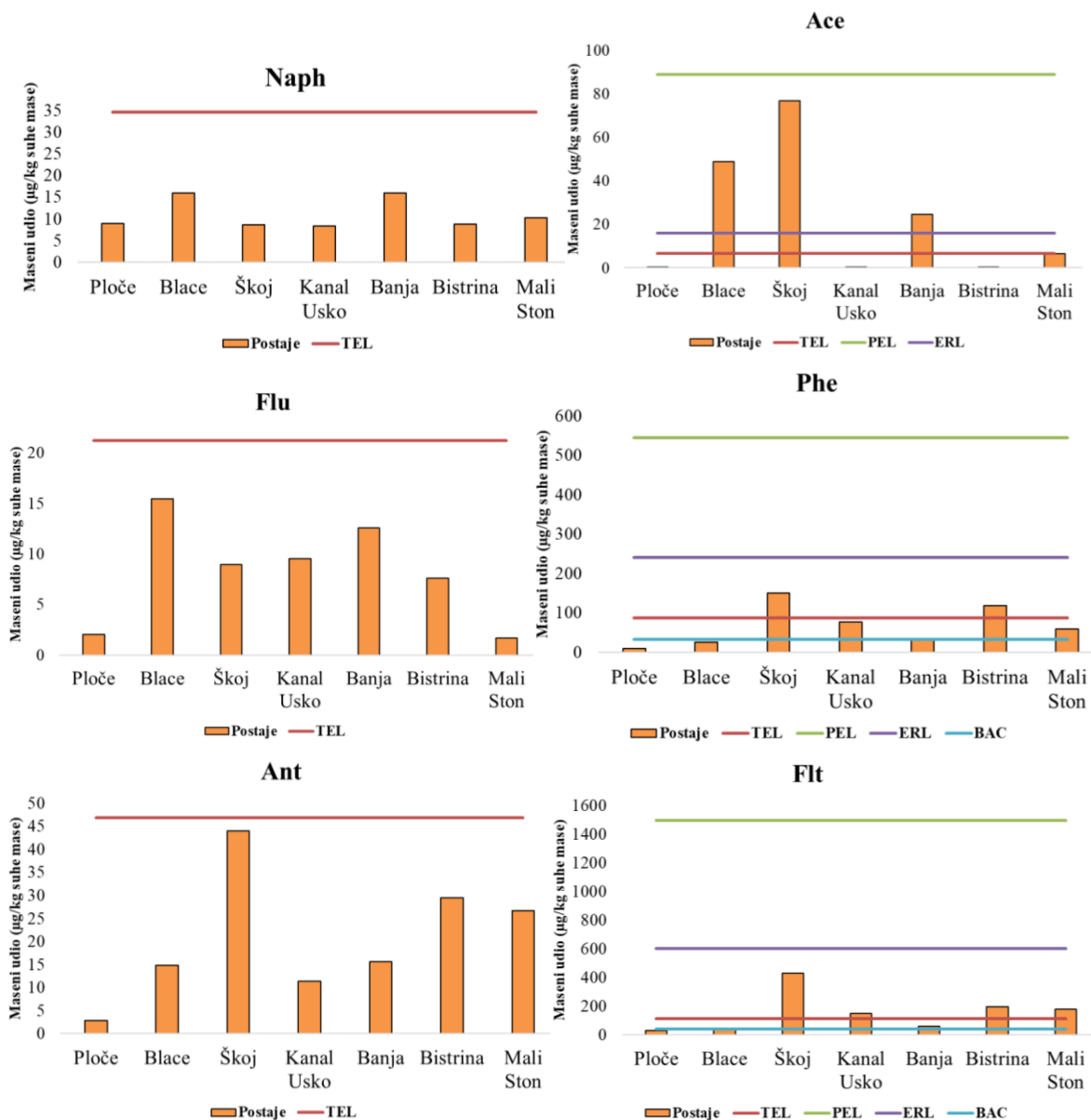
su manji udjeli prekoračenja utvrđeni za Phe (18,75 %), Naph (10,42 %) i IcdP (4,17 %). Za BghiP u Malostonskom zaljevu nisu utvrđena prekoračenja BAC praga. U području ušća rijeke Neretve prekoračenja BAC pragova bila su rjeđa te su utvrđena za Pyr (25,00 %), BaA i Chr (22,22 %), Naph i Ant (11,11 %), Phe i Flt (5,56 %) te BaP, BghiP i IcdP (2,78 %).

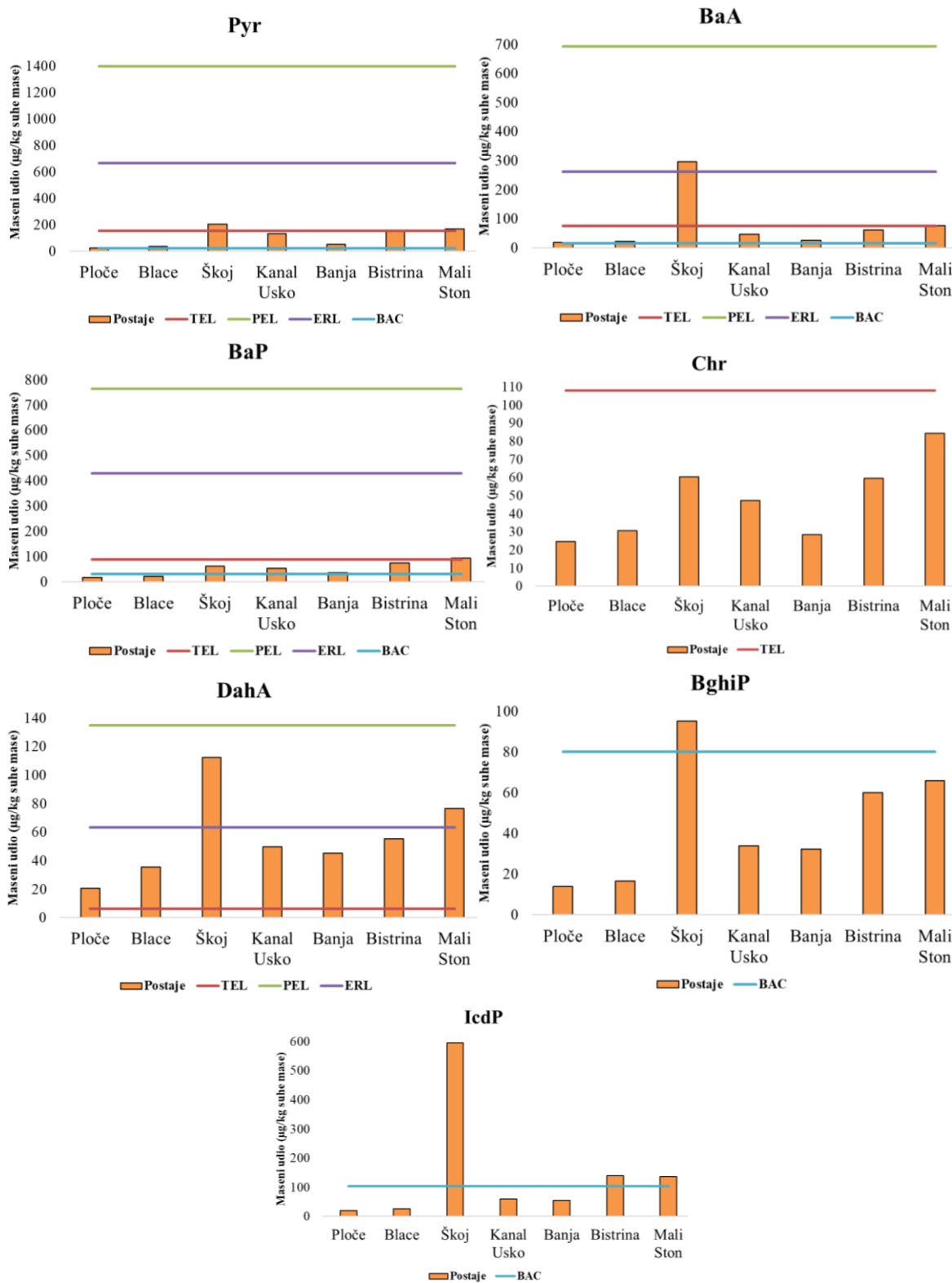
Usporedba istraživanih postaja pokazuje da su prekoračenja BAC pragova u Malostonskom zaljevu bila najizraženija na postaji Bistrina, gdje su utvrđena u 91,67 % uzoraka za Pyr, 83,33 % za Flt, 66,67 % za BaA i BaP, 58,33 % za Chr, 50,00 % za Ant, 41,67 % za Phe te 8,33 % za Naph i IcdP. Na postaji Kanal Usko prekoračenja su utvrđena u rasponu od 8,33 % za Naph do 50,00 % za Pyr, a na postaji Banja od 16,67 % za Naph, Ant i Chr do 50,00 % za Pyr. Na postaji Mali Ston prekoračenja BAC pragova bila su manje učestala te su utvrđena u 8,33 % uzoraka za Naph i IcdP te u 16,67 % uzoraka za Phe, Ant, Flt, Pyr, BaA, Chr i BaP. U području ušća rijeke Neretve prekoračenja BAC pragova bila su najizraženija na postaji Škoj, gdje su utvrđena u 33,33 % uzoraka za Pyr, BaA i Chr, u 16,67 % za Phe, Ant i Flt te u 8,33 % za Naph, BaP, BghiP i IcdP. Na postaji Blace prekoračenja su utvrđena u 16,67 % uzoraka za Naph i Ant, u 25,00 % za BaA i Chr te u 33,33 % za Pyr, dok su na postaji Ploče utvrđena samo za Naph, Pyr, BaA i Chr, i to u 8,33 % uzoraka.

Prekoračenja TEL pragova bila su znatno rjeđa od prekoračenja BAC pragova, osim za DahA. U Malostonskom zaljevu prekoračenja TEL pragova utvrđena su u 56,25 % uzoraka za DahA, 14,58 % za Flt, 4,17 % za Ace i Pyr te 2,08 % za Phe, BaA i BaP. U području ušća rijeke Neretve prekoračenja TEL pragova utvrđena su u 38,89 % uzoraka za DahA, 16,67 % za Ace, 5,56 % za Flt te 2,78 % za Phe, Pyr i BaA. U Malostonskom zaljevu prekoračenja TEL pragova za DahA utvrđena su na svim postajama, s najvećim udjelom na postaji Bistrina (75,00 %), zatim na postajama Kanal Usko i Banja (58,33 %) te na postaji Mali Ston (33,33 %). Prekoračenja TEL praga za Flt bila su najizraženija na postaji Bistrina (41,67 %), dok su za ostale PAH-ove utvrđena sporadično. U području ušća rijeke Neretve prekoračenja TEL pragova za DahA utvrđena su na postajama Škoj (58,33 %), Blace (50,00 %) i Ploče (8,33 %). Prekoračenja TEL praga za Ace utvrđena su na postajama Blace i Škoj u 25,00 % uzoraka, dok su prekoračenja za Phe, Flt, Pyr i BaA zabilježena samo na postaji Škoj.

Prekoračenja ERL pragova bila su sporadična. U Malostonskom zaljevu utvrđena su u 4,17 % uzoraka za Ace i 2,08 % za DahA, dok su u području ušća rijeke Neretve utvrđena u 11,11 %

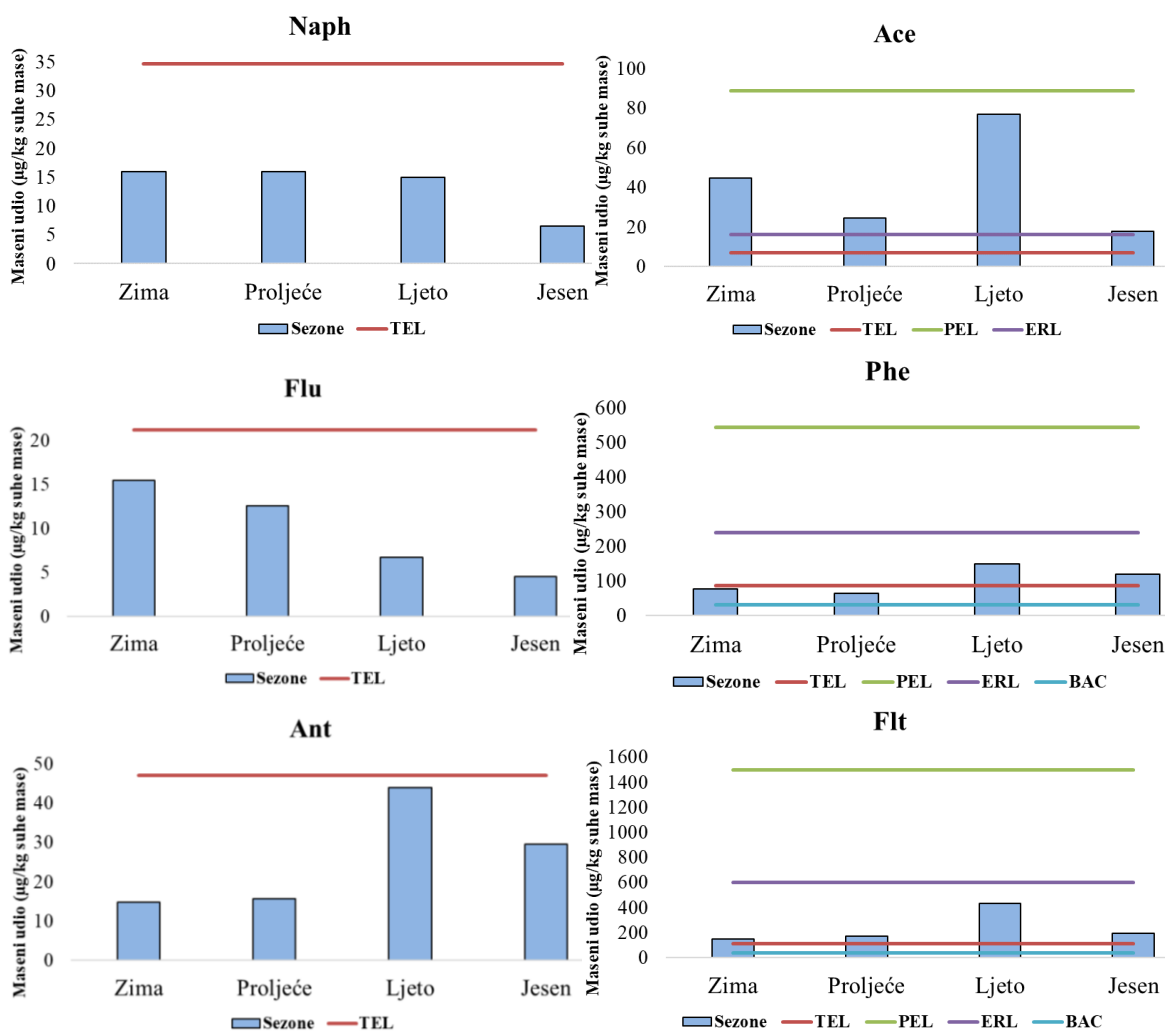
uzoraka za Ace te 2,78 % uzoraka za BaA i DahA. U Malostonskom zaljevu prekoračenja ERL pragova zabilježena su na postaji Banja za Ace (16,67 %) te na postaji Mali Ston za DahA (8,33 %). U području ušća rijeke Neretve prekoračenja su utvrđena na postaji Blace za Ace (25,00 %) te na postaji Škoj za Ace, BaA i DahA (8,33 %). Prekoračenja PEL i ERM pragova nisu utvrđena ni za jedan analizirani PAH u oba istraživana područja.

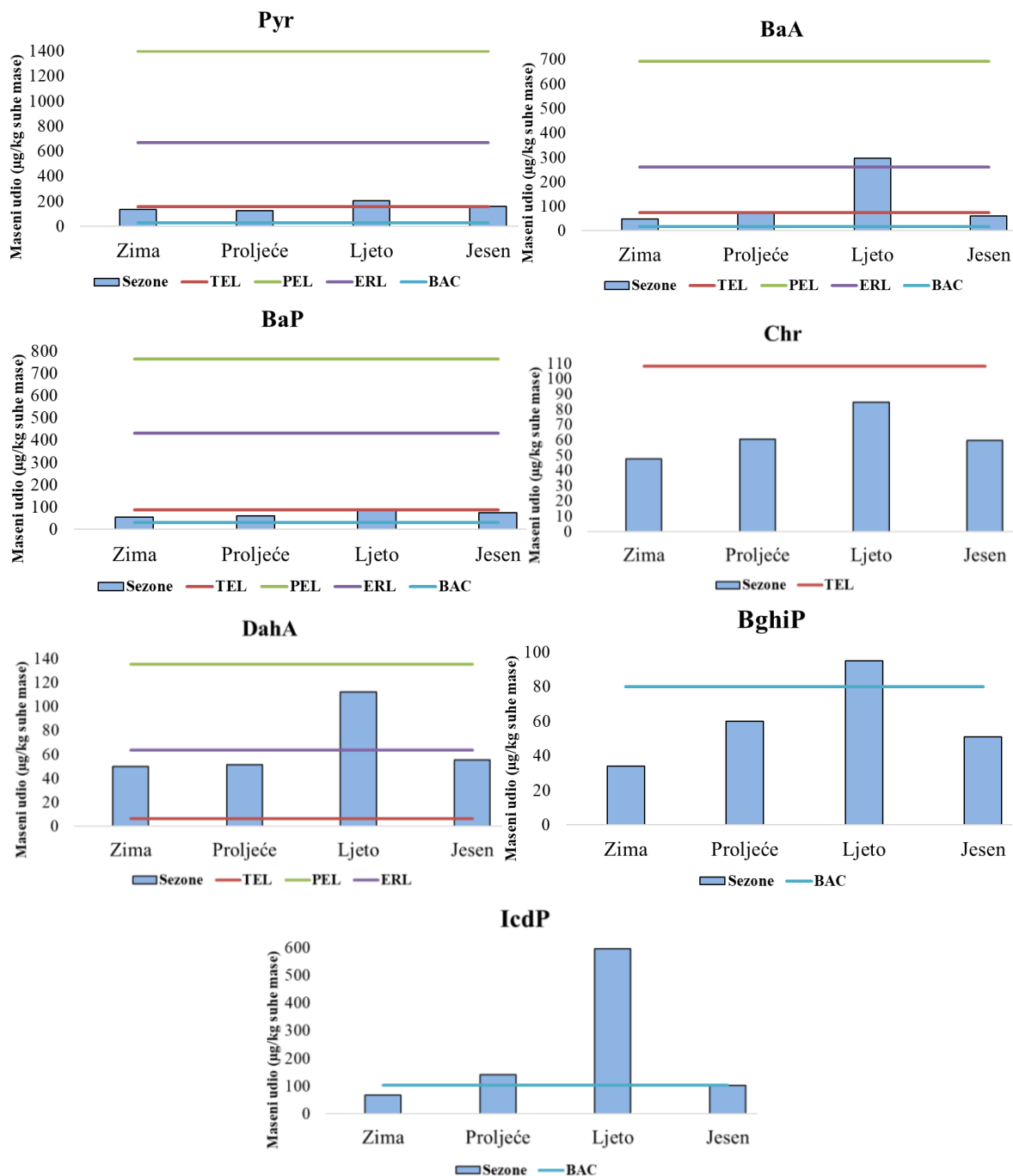




Slika 106. Maseni udjeli PAH-ova ($\mu\text{g}/\text{kg}$ suhe mase) u sedimentu na istraživanim postajama s pripadajućim pragovima TEL, ERL, PEL, ERM i BAC. Za PAH-ove čiji izmjereni maseni udjeli nisu prelazili TEL prag, prikazani su samo TEL pragovi.

Rezultati sezonske analize (slika 107) pokazuju da su prekoračenja BAC pragova za Phe, Ant, Flt, Pyr, BaA, Chr i BaP utvrđena tijekom svih sezona. Najizraženija prekoračenja zabilježena su za Pyr, Flt i BaA, osobito u proljetnom i ljetnom razdoblju. Prekoračenja BAC praga za Naph utvrđena su zimi, u proljeće i ljeti, za IcdP u proljeće i ljeti, a za BghiP samo tijekom ljeta. Prekoračenja TEL pragova utvrđena su za Ace, Phe, Flt, Pyr, BaA, BaP i DahA, pri čemu su prekoračenja za DahA zabilježena tijekom svih sezona. Prekoračenja ERL pragova utvrđena su sporadično za Ace, BaA i DahA.





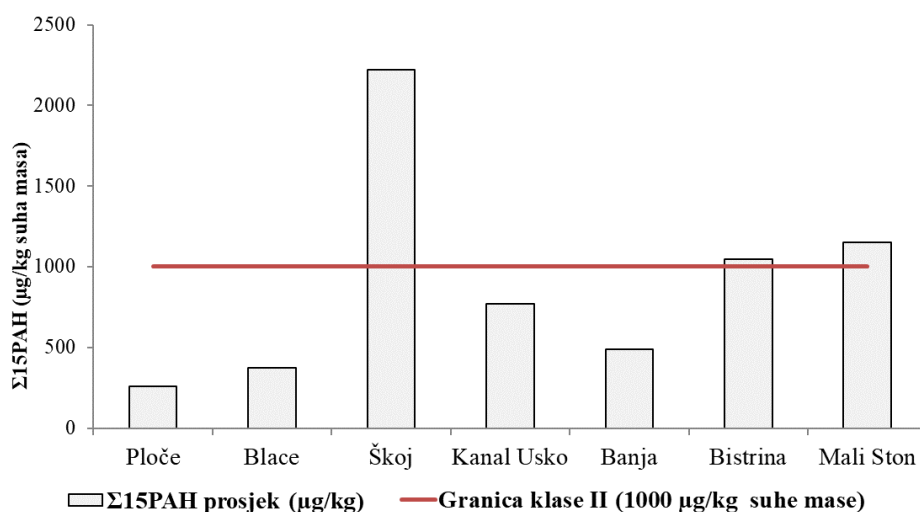
Slika 107. Sezonska raspodjela masenih udjela PAH-ova ($\mu\text{g}/\text{kg}$ suhe mase) u sedimentu s pripadajućim pragovima TEL, ERL, PEL, ERM i BAC. Za PAH-ove čiji izmjereni maseni udjeli nisu prelazili TEL prag, prikazani su samo TEL pragovi.

U zimskom razdoblju prekoračenja BAC pragova utvrđena su u 42,86 % uzoraka za Pyr, 25,00 % za BaA, 21,43 % za Flt i Chr, 17,86 % za Ant, 14,29 % za Naph i BaP te 10,71 % za Phe. U istoj

sezoni prekoračenja TEL pragova utvrđena su u 53,57 % uzoraka za DahA, 7,14 % za Ace i 3,57 % za Flt, dok je prekoračenje ERL praga utvrđeno u 3,57 % uzoraka za Ace. Tijekom proljeća prekoračenja BAC pragova utvrđena su u 50,00 % uzoraka za Pyr, 42,86 % za BaA i Chr, 28,57 % za Ant, Flt i BaP, 21,43 % za Phe te 7,14 % za Naph i IcdP. Prekoračenja TEL pragova u proljeće utvrđena su u 28,57 % uzoraka za DahA, 21,43 % za Flt te 7,14 % za Ace, dok je prekoračenje ERL praga utvrđeno u 7,14 % uzoraka za Ace. U ljetnom razdoblju prekoračenja BAC pragova utvrđena su u 39,29 % uzoraka za Pyr i BaA, 32,14 % za Flt, 25,00 % za BaP, 21,43 % za Ant i Chr, 14,29 % za Naph i Phe, 7,14 % za IcdP te 3,57 % za BghiP. Prekoračenja TEL pragova ljeti utvrđena su u 50,00 % uzoraka za DahA, 14,29 % za Flt, 10,71 % za Ace, 7,14 % za Pyr i BaA te 3,57 % za Phe i BaP, dok su prekoračenja ERL pragova utvrđena za Ace (10,71 %), DahA (7,14 %) i BaA (3,57 %). U jesenskom razdoblju prekoračenja BAC pragova utvrđena su u 28,57 % uzoraka za Flt i Pyr, 21,43 % za Chr, 14,29 % za BaA i BaP te 7,14 % za Phe i Ant. Prekoračenja TEL pragova u istoj sezoni utvrđena su u 57,14 % uzoraka za DahA, 14,29 % za Ace te 7,14 % za Phe, Flt i Pyr, dok je prekoračenje ERL praga utvrđeno u 7,14 % uzoraka za Ace.

4.11. Stupanj onečišćenja sedimenta PAH-ovima

Stupanj onečišćenja sedimenta PAH-ovima na istraživanim područjima procijenjen je na temelju prosječnih masenih udjela $\Sigma 15\text{PAH}$, prema kriterijima prikazanim u poglavlju 3.11. Rezultati pokazuju da se sediment na istraživanim postajama prema prosječnim masenim udjelima može svrstati u nisko do umjereno onečišćen sediment, uz razlike među postajama i sezonama (tablica 30 i slika 108). Ipak, pojedinačni izmjereni maseni udjeli $\Sigma 15\text{PAH}$ na postajama Škoj, Bistrina i Mali Ston prelazili su 1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ suhe mase, što odgovara visokom stupnju onečišćenja prema Baumard i sur. (1998).



Slika 108. Najviši izmjereni maseni udjeli $\Sigma 15\text{PAH}$ ($\mu\text{g}/\text{kg}$ suhe mase) u površinskom sedimentu po istraživanim postajama. Crvena isprekidana linija označava gornju granicu klase II, odnosno umjerenog stupnja onečišćenja prema Baumard i sur. (1998).

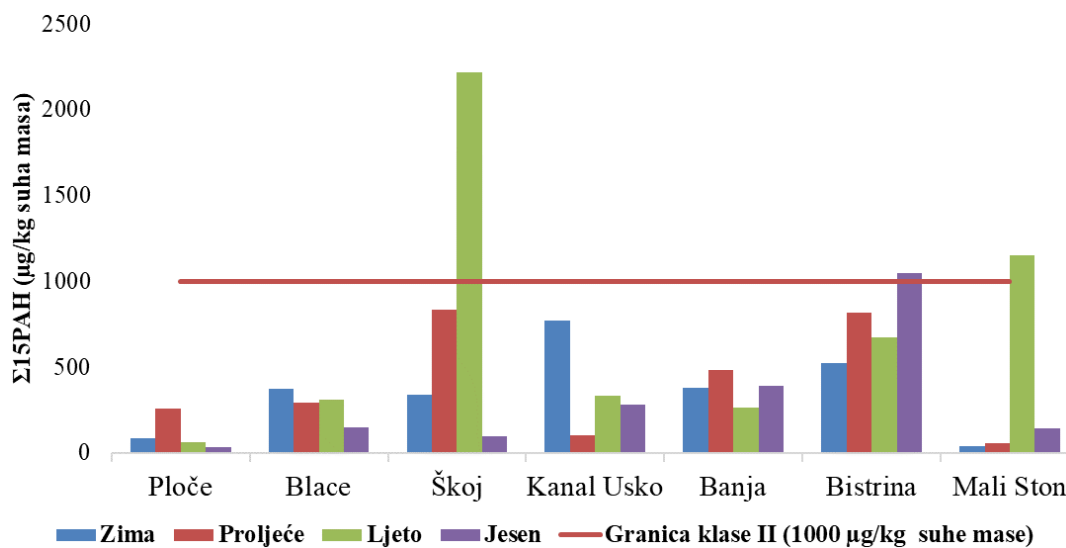
Tablica 30. Rasponi i prosječni maseni udjeli $\Sigma 15\text{PAH}$ ($\mu\text{g}/\text{kg}$ suhe mase) u sedimentu na istraživanim područjima i postajama tijekom istraživačkog razdoblja te razred onečišćenja prema Baumard i sur. (1998).

Područje	Postaja	Prosječni maseni udio $\Sigma 15\text{PAH}$	Raspon masenih udjela $\Sigma 15\text{PAH}$	Razred onečišćenja
Ušće rijeke Neretve	Ploče	50,49	4,94 – 260,04	Klasa I
	Blace	139,17	12,41 – 371,40	Klasa II
Malostonski zaljev	Škoj	376,08	7,83 – 2220,44	Klasa II
	Kanal Usko	267,67	80,74 – 769,69	Klasa II
	Banja	231,83	17,11 – 485,89	Klasa II
	Bistrina	508,66	123,48 – 1048,05	Klasa II
	Mali Ston	185,46	8,69 – 1150,92	Klasa II

Usporedba istraživanih područja pokazuje da su pojedinačni maseni udjeli iznad praga od 1 000 $\mu\text{g}/\text{kg}$, koji označava granicu visokog stupnja onečišćenja, utvrđeni na dvjema postajama u Malostonskom zaljevu i na jednoj postaji u području ušća rijeke Neretve. U Malostonskom zaljevu takvi su maseni udjeli utvrđeni na postajama Bistrina (1048,05 $\mu\text{g}/\text{kg}$ suhe mase) i Mali Ston

(1150,92 $\mu\text{g}/\text{kg}$ suhe mase), dok je na području ušća rijeke Neretve najviši maseni udio izmjeren na postaji Škoj (2220,44 $\mu\text{g}/\text{kg}$ suhe mase). Na postajama Ploče, Blace, Kanal Usko i Banja nisu utvrđeni maseni udjeli iznad 1 000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ suhe mase.

Sezonska raspodjela pokazuje da prosječni sezonski maseni udjeli $\Sigma 15\text{PAH}$ ni na jednom području nisu prelazili prag od 1 000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ suhe mase. Prosječni maseni udio za jesensko razdoblje na području ušća rijeke Neretve pripadao je klasi I, dok su prosječni maseni udjeli za preostale sezone u istraživanim područjima pripadali klasi II (tablica 31 i slika 109). Pojedinačni maseni udjeli iznad praga visokog stupnja onečišćenja utvrđeni su ljeti i u jesen. Na području ušća rijeke Neretve takav je maseni udio utvrđen ljeti na postaji Škoj (2220,44 $\mu\text{g}/\text{kg}$ suhe mase). U Malostonskom zaljevu maseni udjeli iznad 1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ suhe mase utvrđeni su u jesen na postaji Bistrina (1048,05 $\mu\text{g}/\text{kg}$ suhe mase) i ljeti na postaji Mali Ston (1150,92 $\mu\text{g}/\text{kg}$ suhe mase). Zimi nisu utvrđeni maseni udjeli iznad 1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ suhe mase.



Slika 109. Maseni udjeli $\Sigma 15\text{PAH}$ ($\mu\text{g}/\text{kg}$ suhe mase) u sedimentu po sezonama na istraživanim područjima. Crvena isprekidana linija označava gornju granicu klase II prema Baumard i sur. (1998).

Tablica 31. Rasponi, prosječni maseni udjeli Σ 15PAH ($\mu\text{g}/\text{kg}$ suhe mase) te razred onečišćenja prema Baumard i sur. (1998) po sezonama na istraživanim područjima.

Područje	Sezona	Raspon masenih udjela Σ 15PAH	Prosječni maseni udio Σ 15PAH	Razred onečišćenja
Ušće rijeke Neretve	Zima	4,94 – 371,40	135,46	Klasa II
	Proljeće	7,83 – 833,22	243,56	Klasa II
	Ljeto	21,30 – 2220,44	280,03	Klasa II
	Jesen	11,06 – 148,37	56,95	Klasa I
Malostonski zaljev	Zima	20,45 – 769,69	250,84	Klasa II
	Proljeće	8,69 – 815,96	305,40	Klasa II
	Ljeto	17,11 – 1150,92	330,00	Klasa II
	Jesen	116,36 – 1048,05	323,38	Klasa II

4.12. Morski biotoksini

4.12.1. Toksikološki profil i prostorno-vremenska raspodjela

Rezultati analize lipofilnih i hidrofilnih biotoksina pokazali su da su u uzorcima dagnji utvrđeni isključivo ciklički imini i YTX, dok ostale skupine lipofilnih toksina (OA/DTX, PTX i AZA) te hidrofilni toksini (PSP i DA) nisu utvrđeni ni u jednom analiziranom uzorku. Unutar skupine cikličkih imina analizirana je prisutnost 14 SPX (SPX A, B, C, D, G, H, I, SPX 1, izo-SPX 1, 13-desmetil SPX D, 13,19-didesmetil SPX C, 27-hidroksi-13,19-didesmetil SPX C, 27-hidroksi-13-desmetil SPX C i 20-metil SPX G), sedam GYM (GYM A, 12-metil GYM A, GYM B, 12-metil GYM B, 16-desmetil GYM D, GYM C i GYM E) i osam PnTX analoga (PnTX A, B, C, D, E, F, G i H). Profil biotoksina u prirodnim i uzgojnim dagnjama obilježila je najčešća pojavnost GYM A, SPX 1 i YTX, koji su utvrđeni u najvećem broju uzoraka.

Tijekom istraživanog razdoblja GYM A pokazivao je relativno ujednačenu prostornu raspodjelu i uzak interkvartilni raspon, bez izraženih razlika među postajama. Toksin GYM A izmjeren je iznad GD-a ($0,09 \mu\text{g}/\text{kg}$) u 83 od ukupno 84 analizirana uzorka (98,81 %), dok je u 82 uzorka (97,62 %) bio iznad GK-a ($0,29 \mu\text{g}/\text{kg}$). Najviši maseni udjeli GYM A tijekom 2022. godine izmjereni su na postaji Škoj ($12,36 \mu\text{g}/\text{kg}$), dok su tijekom 2023. godine najviši maseni udjeli zabilježeni na postaji Mali Ston ($39,28 \mu\text{g}/\text{kg}$). Za razliku od GYM A, SPX 1 pokazao je izraženije prostorne razlike i

širi raspon masenih udjela među postajama. Toksin SPX 1 bio je prisutan u 76 od ukupno 84 uzorka (90,47 %) pri masenim udjelima iznad GD-a (0,11 µg/kg), dok je u 63 uzorka (75,00 %) izmjeren iznad GK-a (0,33 µg/kg). Tijekom 2022. godine najviši maseni udjeli SPX 1 izmjereni su na postaji Ploče (8,34 µg/kg), dok su tijekom 2023. godine najviši maseni udjeli zabilježeni na postaji Mali Ston (13,79 µg/kg). Uz cikličke imine, u uzorcima je izmjeren i YTX, koji je bio prisutan u 73 od ukupno 84 uzorka (86,90 %) pri masenim udjelima iznad GD-a (0,003 mg/kg), dok je u 57 uzoraka (67,86 %) izmjeren iznad GK-a (0,01 mg/kg). U odnosu na GYM A i SPX 1, YTX je pokazao najizraženije prostorne razlike. Tijekom 2022. godine najviši maseni udjeli YTX-a izmjereni su na postajama Bistrina (0,43 mg/kg) i Mali Ston (0,30 mg/kg), dok su povišeni maseni udjeli zabilježeni i na postajama Kanal Usko i Ploče (do 0,26 mg/kg). Tijekom 2023. godine viši maseni udjeli YTX-a češće su utvrđeni na postajama izvan uzgajališta, ponajprije na postajama Ploče (do 0,20 mg/kg) i Škoj (do 0,12 mg/kg). Uz najzastupljenije toksine, izmjereni su i 13-desmetil SPX D u 3,00 % uzoraka (raspon 1,98 – 3,55 µg/kg), PnTX G u 41,00 % uzoraka (raspon 1,56 – 9,77 µg/kg) te spoj koji odgovara izomeru GYM A, utvrđen u 35,00 % uzoraka, ali bez mogućnosti kvantifikacije zbog nedostatka analitičkog standarda.

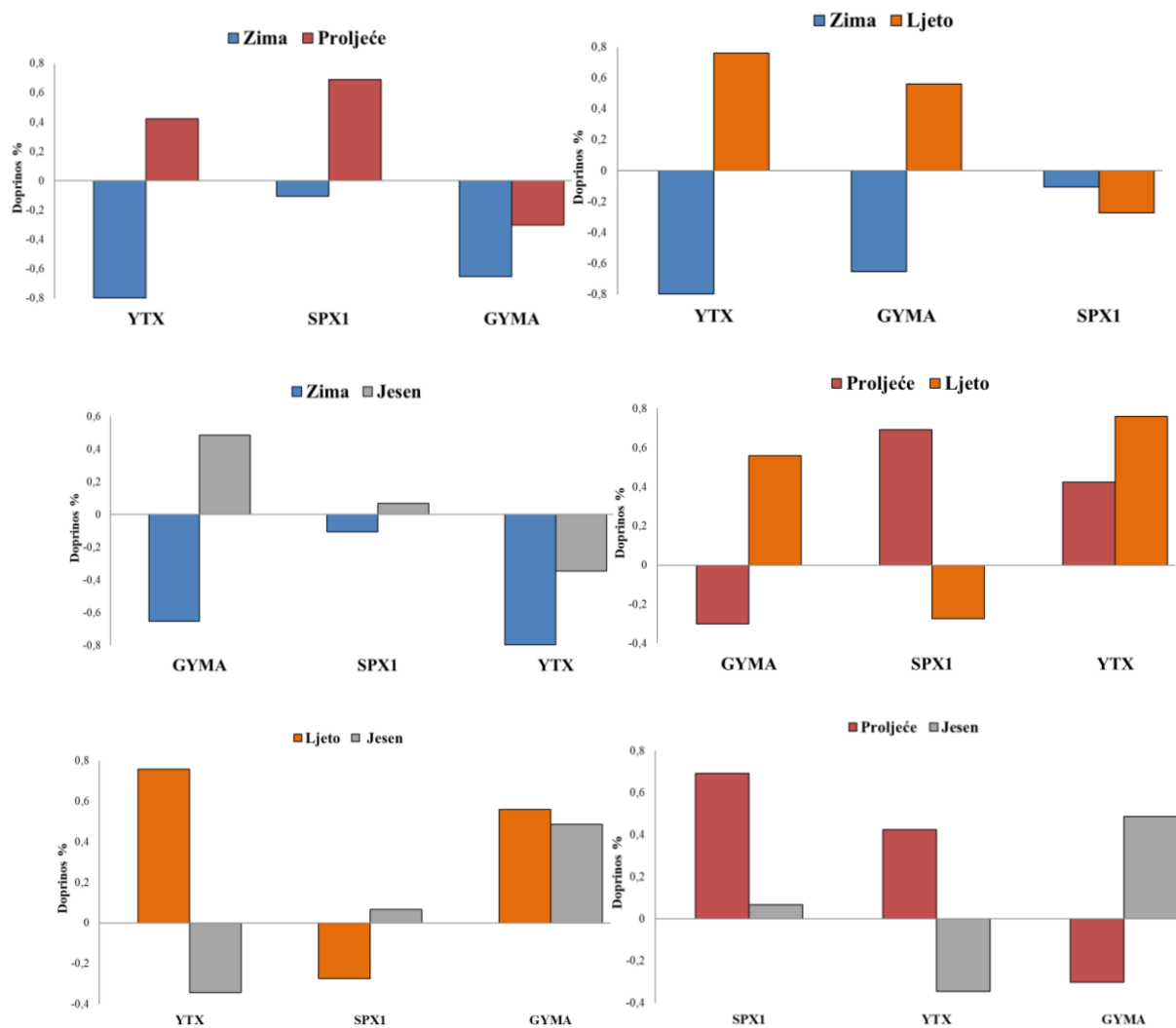
Sezonska raspodjela cikličkih imina pokazala je najviše masene udjele GYM A tijekom proljetnog i ljetnog razdoblja, dok su niži maseni udjeli uglavnom zabilježeni tijekom zime. Za SPX 1 nije utvrđena jasno izražena sezonska raspodjela. Sličnu sezonsku dinamiku pokazao je i YTX, s višim masenim udjelima tijekom proljeća i ljeta te nižim masenim udjelima tijekom zimskog razdoblja. Toksini PnTX G i 13-desmetil SPX D također su pokazali više masene udjele tijekom toplijeg dijela godine.

Pouzdana statistička procjena bila je moguća samo za GYM A, SPX 1 i YTX, budući da su ti spojevi bili zastupljeni u dostatnom broju uzoraka i pri masenim udjelima koji su omogućili pouzdanu kvantifikaciju. Za ostale utvrđene analoge broj pozitivnih uzoraka bio je nedostatan za provedbu statističke analize. Stoga su prostorne i sezonske promjene tih spojeva opisane deskriptivno, bez mogućnosti potvrde statističke značajnosti.

Primjena statističke metode PERMANOVA za GYM A, SPX 1 i YTX pokazala je statistički značajne razlike između sezona ($F = 10,97$; $p = 1 \times 10^{-4}$). Parne usporedbe pokazale su značajne razlike između zime i proljeća ($p = 6,0 \times 10^{-4}$), zime i ljeta ($p = 6,0 \times 10^{-4}$), zime i jeseni ($p = 1,8 \times 10^{-3}$), proljeća i ljeta ($p = 7,8 \times 10^{-3}$) te ljeta i jeseni ($p = 2,2 \times 10^{-2}$). Nadalje, primjena metode

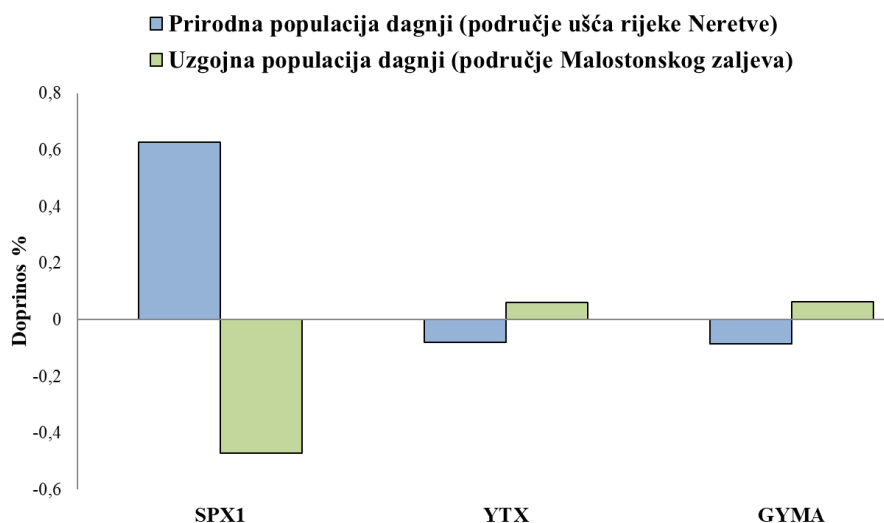
PERMANOVA prema tipu populacije pokazala je statistički značajnu razliku između prirodnih i uzgojnih populacija dagnji ($F = 9,43$; $p = 1 \times 10^{-4}$).

Kako bi se utvrdili spojevi koji najviše pridonose uočenim razlikama, provedena je analiza SIMPER. Rezultati analize SIMPER pokazali su da razlikama u profilu utvrđenih biotoksina između zime i proljeća te zime i ljeta najviše pridonose promjene u masenim udjelima YTX-a. Razlike između zime i jeseni najvećim su dijelom povezane s promjenama u masenim udjelima GYM A. Razlikama između proljeća i ljeta podjednako su pridonijeli GYM A, SPX 1 i YTX, dok je razlikama između ljeta i jeseni najviše pridonio YTX. Razlici između proljeća i jeseni najviše je pridonio SPX 1 (slika 110).



Slika 110. Relativne razlike u masenim udjelima utvrđenih biotoksina između sezona: zima – proljeće, zima – ljeto, zima – jesen, proljeće – ljeto, proljeće – jesen i ljeto – jesen.

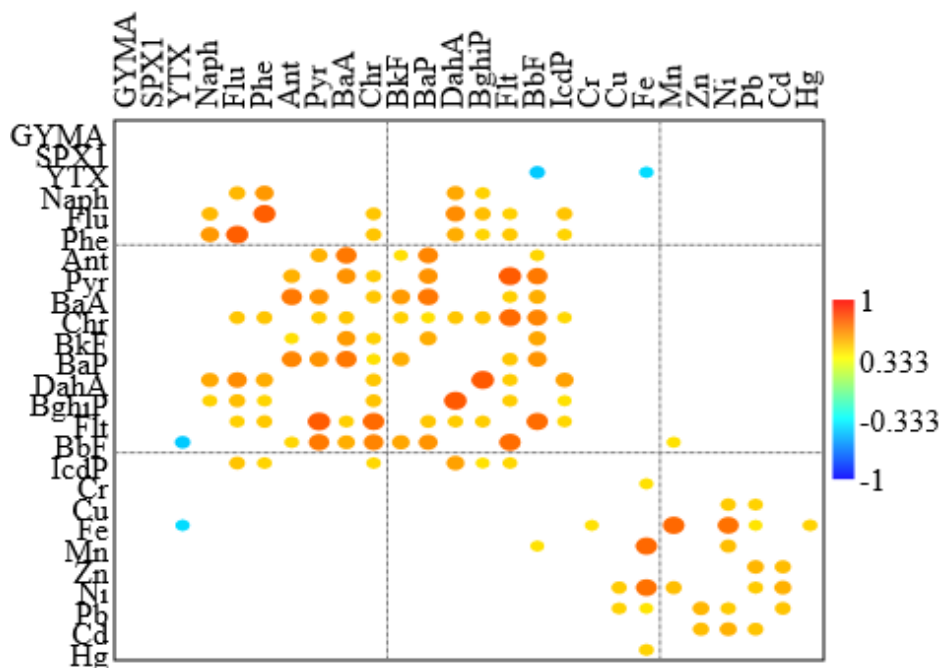
Rezultati analize SIMPER također su pokazali da razlikama između prirodnih i uzgojnih populacija dagnji najviše pridonose viši maseni udjeli SPX 1 u prirodnim populacijama dagnji (slika 111).



Slika 111. Relativne razlike u masenim udjelima utvrđenih biotoksina između prirodnih i uzgojnih populacija dagnji.

4.12.2. Odnosi između cikličkih imina, PAH-ova i metala u tkivu dagnji

pearmanova korelacijska analiza masenih udjela GYM A, SPX 1 i YTX-a s masenim udjelima PAH-ova i metala u tkivu dagnji pokazala je malobrojne statistički značajne korelacije između promatranih skupina spojeva (slika 112). Statistički značajna negativna korelacija utvrđena je između YTX-a i BbF-a ($\rho = -0,47$; $p = 1,78 \times 10^{-3}$), kao i između YTX-a i Fe-a ($\rho = -0,43$; $p = 1,72 \times 10^{-2}$). Za GYM A i SPX 1 nisu utvrđene statistički značajne korelacije s analiziranim PAH-ovima i metalima.



Slika 112. Spearmanova korelacijska matrica između utvrđenih biotoksina, PAH-ova i metala u dagnjama.

Kako bi se dodatno procijenile razlike u raspodjeli masenih udjela između promatranih skupina spojeva, proveden je Kruskal-Wallisov test. Rezultati testa pokazali su da nema statistički značajnih razlika između masenih udjela utvrđenih biotoksina i PAH-ova ($H = 7,61$; $p = 0,96$), kao ni između masenih udjela biotoksina i metala ($H = 1,00$; $p = 1,00$).

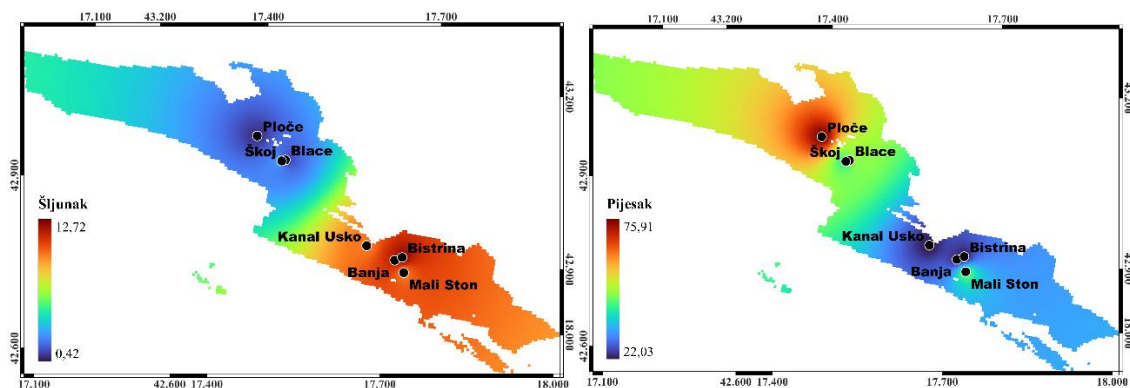
5. RASPRAVA

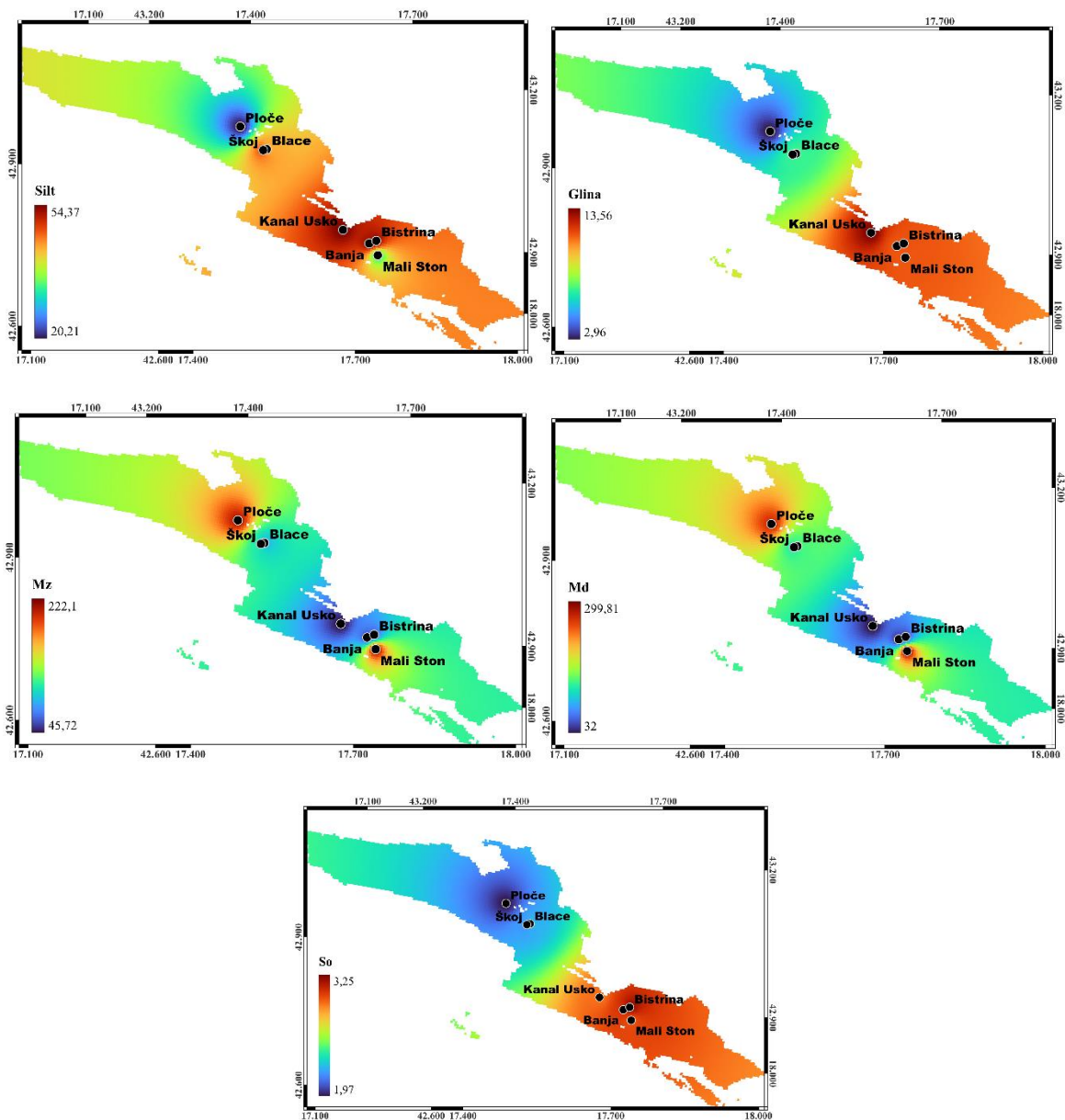
5.1. Fizikalno-kemijske značajke sedimenta

Fizikalna i kemijska svojstva sedimenta imaju važnu ulogu u raspodjeli, akumulaciji, mobilnosti i biodostupnosti onečišćujućih tvari. Fizikalni čimbenici ponajprije uključuju sastav sedimenta prema veličini zrna te površinska svojstva čestica, koja utječu na mogućnost vezanja onečišćujućih tvari. Uz njih, na ponašanje onečišćujućih tvari može utjecati i mineralni sastav sedimenta, kao i kemijski čimbenici, među kojima se ističu kapacitet izmjene kationa, pH-vrijednost, redoks-potencijal te procesi adsorpcije i vezanja za različite faze sedimenta, poput karbonata, organske tvari te oksida Fe i Mn (Eggleton i Thomas, 2004; Pavoni i sur., 2021; Vane i sur., 2020). Mobilnost metala dodatno ovisi o njihovom kemijskom obliku te uvjetima u sedimentu. U ovom istraživanju razmatrani su sastav sedimenta prema veličini zrna te udjeli organske tvari i karbonata, čime se omogućuje jasnije tumačenje raspodjele i akumulacije metala i PAH-ova u sedimentu i dagnjama.

5.1.1. Sastav sedimenta prema veličini zrna

Razlike u udjelima veličinskih frakcija između područja ušća rijeke Neretve i Malostonskog zaljeva (slika 113) upućuju na razlike u transportu i taloženju sedimenta, koje se mogu povezati s hidrodinamičkim uvjetima, intenzitetom riječnog donosa sedimenta i morfološkim značajkama područja (Giglio i sur., 2020; Molinaroli i sur., 2014). Raspodjela veličine zrna važan je čimbenik koji utječe na vezanje i akumulaciju onečišćujućih tvari u sedimentu te na njihovu prostornu raspodjelu u priobalnim sustavima (Birch i Olmos, 2008; Caeiro i sur., 2005; Pavoni i sur., 2021). Prostorne razlike potvrđene su PERMANOVA analizom, koja je pokazala statistički značajnu razliku u sastavu sedimenta prema veličini zrna između dvaju istraživanih područja.





Slika 113. Prostorna raspodjela prosječnih udjela veličinskih frakcija (šljunak, pijesak, prah i glina) te parametara Mz, Md i So u površinskim sedimentima.

Prema Folkovoj (1954.) klasifikaciji analizirani površinski sedimenti svrstani su u nekoliko tipova. U području ušća rijeke Neretve sedimenti su uglavnom klasificirani kao muljeviti pijesci, što znači da u njihovu sastavu prevladava pijesak, uz prisutnost sitnozrnatih frakcija, odnosno praha i gline. Iznimka je postaja Škoj, na kojoj se izmjenjuju muljeviti pijesak i pjeskoviti mulj. Za razliku od postaje Ploče, gdje u većini uzoraka prevladava pijesak, na postaji Škoj udio sitnozrnatih frakcija, osobito praha, povremeno postaje dovoljno visok da sediment prelazi iz muljevitog pijeska u

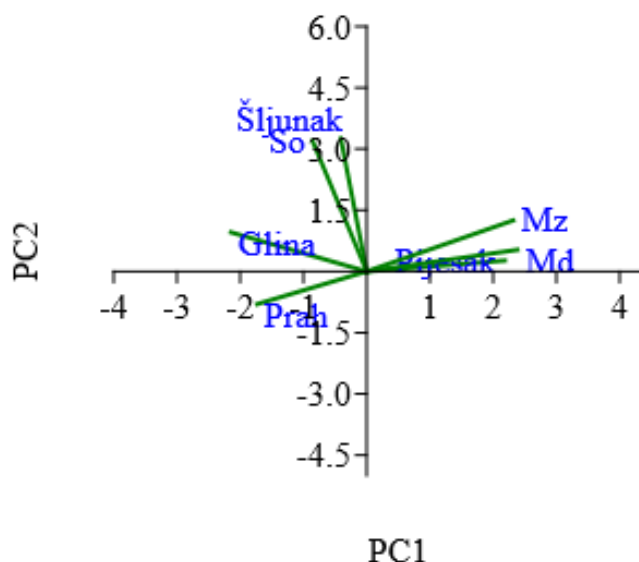
pjeskoviti mulj. Takve razlike među postajama mogu se povezati s transportom sedimenta i promjenama u udjelima veličinskih frakcija od ušća rijeke Neretve, kroz Neretvanski kanal, prema Jadranskom moru (Giglio i sur., 2020). U tom području važan je riječni, odnosno terigeni donos materijala, koji uz miješanje slatke i morske vode može utjecati na transport, flokulaciju i raspodjelu sitnozrnatog sedimenta u području ušća (Burchard i sur., 2017; Giglio i sur., 2020; Mhashhash i sur., 2018).

Nasuprot tome, sedimenti Malostonskog zaljeva pokazuju viši udio sitnozrnatih frakcija i slabiju sortiranost, što je u skladu s taloženjem sedimenta u mirnijim dijelovima poluzatvorenih obalnih sustava (Molinarioli i sur., 2014; Zonta i sur., 2018). U skladu s time, sedimenti na postajama Kanal Usko, Banja i Bistrina klasificirani su kao šljunkoviti muljevi, u kojima prevladavaju prah i glina, uz prisutnost šljunka. Prisutnost šljunka u ovim sedimentima ne treba tumačiti kao pokazatelj jačeg strujanja, nego ponajprije kao doprinos biogenog karbonatnog detritusa, odnosno ostataka ljuštura i kućica organizama koji žive u Malostonskom zaljevu. Prema ranijim istraživanjima istočnojadranskih sedimenata, krupnije frakcije često su povezane s biogenim karbonatnim ostatcima, dok sitnozrnata frakcija može sadržavati mješavinu karbonatnih i terigenih čestica (Pikelj i sur., 2016, 2022). Takav se biogeni materijal s vremenom može usitnjavati te pridonositi pješčanoj frakciji sedimenta. Stoga se šljunkovito-muljeviti pijesak na postaji Mali Ston može tumačiti kao posljedica istodobne prisutnosti biogenog krupnozrnatog materijala i sitnozrnatog sedimenta. Time se Malostonski zaljev razlikuje od područja ušća Neretve, gdje je veća uloga riječnog, odnosno terigenog donosa sedimenta. Šire promatrano, prostorna raspodjela sastava sedimenta prema veličini zrna u skladu je s istraživanjima koja ističu važnost položaja postaja, biogenog doprinosa i uvjeta taloženja u oblikovanju udjela pojedinih veličinskih frakcija sedimenta (Bogner i Matijević, 2016; Zonta i sur., 2018).

U skladu s navedenim razlikama među postajama, Spearmanova korelacijska analiza provedena na svim analiziranim uzorcima pokazala je povezanost veličinskih frakcija sedimenta s parametrima M_z , M_d i S_o . Pijesak je bio pozitivno povezan s parametrima M_z i M_d , dok su prah i glina s njima bili negativno povezani. Takav odnos upućuje na razlikovanje pjeskovitijih uzoraka od sitnozrnatijih, odnosno muljevitijih sedimenata. Viši udjeli šljunka i gline povezani su s višim S_o , što upućuje na slabiju sortiranost sedimenta i izraženije razlike u veličini zrna. Slabija sortiranost

posebno dolazi do izražaja na postaji Mali Ston, gdje se, kako je prethodno navedeno, miješaju krupniji biogeni materijal i sitnozrnati sediment.

Navedene odnose podupire PCA analiza (slika 114). Na komponenti PC1 pozitivna opterećenja imaju pijesak (0,44), Mz (0,47) i Md (0,48), dok prah (-0,35) i glina (-0,44) imaju negativna opterećenja. Time PC1 prikazuje glavnu razliku u sastavu sedimenta prema veličini zrna, od pjeskovitijih prema sitnozrnatijim sedimentima. Komponenta PC2 najviše je povezana sa šljunkom (0,66) i So (0,65), što upućuje na povezanost krupnije frakcije sa slabijom sortiranosti sedimenta. Prema modelu slomljene palice (slika 50), samo su prve dvije komponente imale svojstvene vrijednosti više od očekivanih te su zadržane za interpretaciju. One zajedno objašnjavaju 78,89 % ukupne varijabilnosti podataka.



Slika 114. Biplot analize glavnih komponenti koji prikazuje međusobne odnose između varijabli sastava površinskog sedimenta prema veličini zrna u području ušća rijeke Neretve i Malostonskog zaljeva: šljunak, pijesak, prah, glina, Md, Mz i So (PC1 – PC2).

Uočene sezonske razlike u udjelima veličinskih frakcija upućuju na promjenjivost sastava površinskog sedimenta, ali ih treba tumačiti zajedno s lokalnom prostornom neujednačenošću sedimenta na pojedinim postajama. U području ušća rijeke Neretve najveće razlike zabilježene su između zimskog i proljetnog razdoblja, pri čemu se u proljeće smanjuje udio pijeska, a povećava udio praha. Takve promjene mogu biti povezane s riječnim donosom, miješanjem slatke i morske vode te lokalnim uvjetima taloženja, koji utječu na raspodjelu sedimenta prema veličini zrna. U

uvjetima izraženijeg strujanja krupnije se čestice češće talože bliže ušću, dok se sitnozrnati materijal može prenositi dalje i taložiti u mirnijim dijelovima sustava (Burchard i sur., 2017; Giglio i sur., 2020). Ta se promjenjivost očituje i na pojedinim postajama. Na postaji Ploče pijesak prevladava tijekom zime, ljeta i jeseni, dok se u proljeće bilježi porast udjela praha. Na postaji Blace zimi i u jesen prevladava pijesak, u proljeće prah, a ljeti su udjeli pijeska i praha približno podjednaki, uz blagu prevlast praha. Na postaji Škoj u proljeće i tijekom većeg dijela ljeta prevladava prah, zimi su udjeli pijeska i praha približno podjednaki, dok jesenski uzorci pokazuju međugodišnje razlike, od pjeskovitog sedimenta do sedimenta u kojem prevladava prah.

U Malostonskom zaljevu sezonske su promjene slabije izražene nego u području ušća Neretve, što je u skladu s mirnijim uvjetima taloženja u poluzatvorenom zaljevu. Na postajama Kanal Usko i Bistrina tijekom cijele godine prevladavaju sitnozrnate frakcije, uz manje promjene u udjelima gline i pijeska. Na postaji Banja u većini sezona prevladava sitnozrnati sediment, dok se u proljeće bilježi povišen udio šljunka. Na postaji Mali Ston promjene u udjelima pijeska, praha i gline mogu se povezati s prethodno opisanim miješanjem biogenog karbonatnog detritusa i sitnozrnatog sedimenta. Iako sezonske razlike upućuju na određenu promjenjivost sastava sedimenta prema veličini zrna, PERMANOVA analiza nije pokazala statistički značajan učinak sezone. Stoga se sezona može smatrati čimbenikom koji pridonosi promjenama unutar pojedinih postaja, ali ne objašnjava glavne razlike u sastavu sedimenta. Izraženije razlike utvrđene su među postajama i između istraživanih područja, što upućuje na važniju ulogu položaja postaja, lokalnih uvjeta taloženja i hidrodinamičkih značajki pojedinog područja.

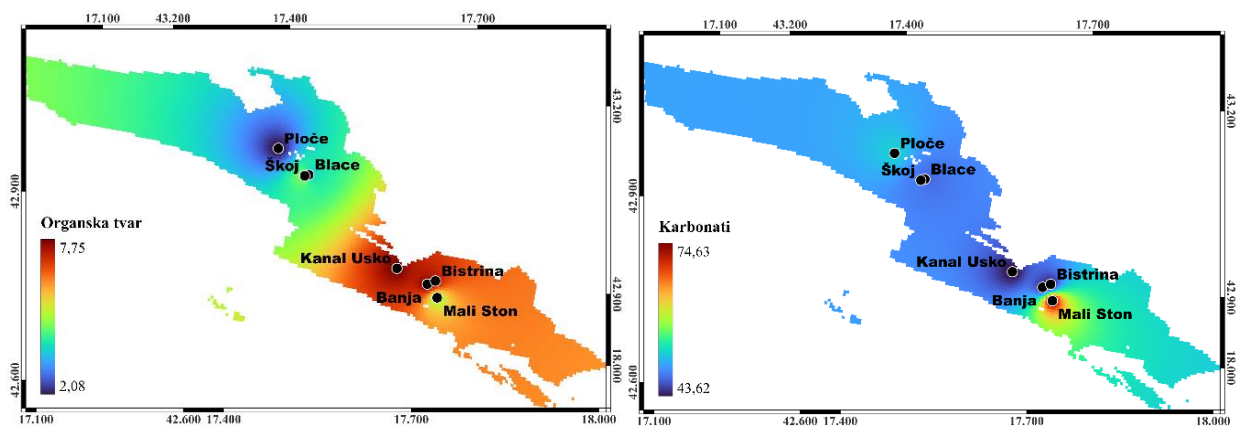
5.1.2. Udio organske tvari i karbonata u odnosu na veličinu zrna sedimenta

Sastav površinskog sedimenta statistički se značajno razlikuje između područja ušća rijeke Neretve i Malostonskog zaljeva, pri čemu su udjeli organske tvari u području ušća rijeke Neretve niži nego u Malostonskom zaljevu, dok su prosječni udjeli karbonata između područja usporedivi (slika 115). Niži udjeli organske tvari u području ušća rijeke Neretve mogu se povezati s izraženijim hidrodinamičkim utjecajem, odnosno djelovanjem struja i valova, koji mogu poticati resuspenziju sitnozrnatih čestica te otežavati njihovo taloženje i zadržavanje u sedimentu (Giglio i sur., 2020; Jurina i sur., 2015). U tom je području sediment velikim dijelom povezan s riječnim, odnosno terigenim donosom materijala s kopna i njegovom raspodjelom kroz Neretvanski kanal prema

Jadranskom moru (Giglio i sur., 2020; Jurina i sur., 2015). Nasuprot tome, u Malostonskom zaljevu viši udjeli praha i gline povezani su s većim zadržavanjem organske tvari, budući da sitnozrnate frakcije zbog veće specifične površine i sposobnosti adsorpcije pogoduju vezanju organske tvari u sedimentu (Pedrosa-Pàmies i sur., 2015; Xu i sur., 2021; Zhao i sur., 2023).

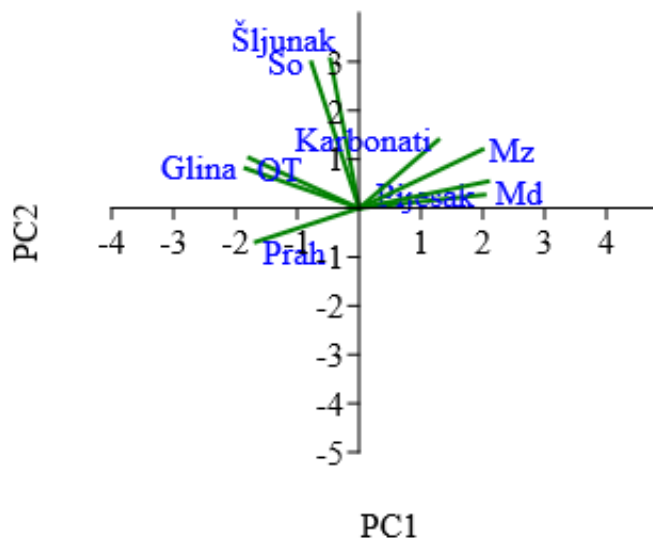
Raspodjela karbonata u analiziranim uzorcima povezana je sa sastavom sedimenta prema veličini zrna, ali i s podrijetlom pojedinih frakcija. Viši udjeli karbonata u krupnijim frakcijama mogu se povezati s prisutnošću ostataka ljuštura i kućica organizama, dok se u sitnozrnatiem, muljevitom sedimentu udio karbonata može smanjivati zbog višeg udjela drugih mineralnih, uključujući terigene čestice (Nait-Hammou i sur., 2025; Pikelj i sur., 2016, 2022). Zato usporedivi prosječni udjeli karbonata između dvaju područja ne upućuju nužno na jednako podrijetlo karbonatne frakcije: u području ušća rijeke Neretve važniji je litogeni, odnosno terigeni donos s kopna, dok je u Malostonskom zaljevu pijesak u većoj mjeri biogenog podrijetla, nastao usitnjavanjem karbonatnih ostataka organizama (Pikelj i sur., 2016, 2022).

Na postaji Ploče niži udjeli organske tvari i viši udjeli karbonata u skladu su s prevladavanjem pjeskovite frakcije sedimenta, dok su na postaji Škoj viši udjeli organske tvari i niži udjeli karbonata povezani s višim udjelom praha. Postaja Blace pokazuje prijelazna obilježja između postaja Ploče i Škoj. U Malostonskom zaljevu postaje Kanal Usko, Banja i Bistrina obilježene su višim udjelima organske tvari u sitnozrnatiem sedimentu, dok se postaja Mali Ston izdvaja višim udjelima karbonata, što se može povezati s većim doprinosom biogenog karbonatnog materijala u pješčanoj i šljunkovitoj frakciji sedimenta.



Slika 115. Prostorna raspodjela prosječnih udjela organske tvari i karbonata u površinskim sedimentima.

Povezanost udjela veličinskih frakcija s udjelima organske tvari i karbonata potvrđena je korelacijskom analizom, pri čemu su prah i glina povezani s organskom tvari, a pijesak s karbonatima. Navedene odnose dodatno prikazuje PCA analiza (slika 116).



Slika 116. Biplot analize glavnih komponenti koji prikazuje međusobne odnose između varijabli sastava površinskog sedimenta prema veličini zrna u području ušća rijeke Neretve i Malostonskog zaljeva: šljunak, pijesak, prah, glina, Md, Mz i So te udjela organske tvari i karbonata (PC1 – PC2).

Budući da su sezonske promjene u udjelima veličinskih frakcija opisane u prethodnom poglavlju, ovdje su razmatrane samo u odnosu na raspodjelu organske tvari i karbonata. Učinak sezone nije bio statistički značajan, ali su na pojedinim postajama uočene promjene u udjelima organske tvari i karbonata koje prate promjene sastava sedimenta prema veličini zrna. To je osobito vidljivo na postaji Škoj, gdje povećanje udjela sitnozrnatih frakcija prati porast udjela organske tvari i smanjenje udjela karbonata, te na postaji Mali Ston, gdje promjene udjela karbonata prate promjene u udjelima pješčane i šljunkovite frakcije bogate biogenim karbonatnim ostacima.

5.2. Prostorno-sezonska raspodjela metala

5.2.1. Školjkaši

U ovom istraživanju utvrđene su razlike u masenim udjelima analiziranih metala između prirodne populacije dagnji s područja ušća rijeke Neretve i uzgojnih populacija iz Malostonskog zaljeva, kao i među postajama unutar pojedinih područja. Najizraženija razlika između istraživanih područja utvrđena je za Cr, čiji su maseni udjeli bili viši u uzorcima s područja ušća rijeke Neretve.

Na tom se području posebno izdvaja postaja Ploče, na kojoj su utvrđeni viši maseni udjeli Cr nego na postajama Blace i Škoj.

Viši maseni udjeli Cr, Mn, Ni, Fe i Cu u dagnjama s područja ušća rijeke Neretve mogu se povezati s izraženijim riječnim donosom i višom koncentracijom suspendirane tvari u vodenom stupcu. U estuarijskim područjima promjene dotoka rijeke, saliniteta, flokulacija, taloženje i resuspenzija utječu na raspodjelu metala između otopljenih oblika, koloida i suspendiranih čestica (Mosley i Liss, 2020; Turner, 1996; Turner i Millward, 2002). Metali poput Cr, Mn, Ni, Fe i Cu često su povezani s mineralnim česticama te oksidima i hidroksidima Fe i Mn, koji imaju važnu ulogu u njihovu prijenosu kroz vodeni stupac (Marcinek i sur., 2022; Turner i Millward, 2002). Budući da se dagnje hrane filtriranjem vode, metali se u njihovu tkivu mogu akumulirati iz otopljenih oblika preko epitela škrge, ali i zadržavanjem suspendiranih čestica na koje su metali vezani (Casas i Bacher, 2006; Griscom i sur., 2004; Rainbow, 2002). Stoga se viši maseni udjeli Cr, Mn, Ni, Fe i Cu u prirodnim populacijama dagnji s područja ušća rijeke Neretve mogu povezati s većom izloženošću suspendiranoj tvari riječnog podrijetla i metalima vezanima za te čestice (Marcinek i sur., 2022; Turner i Millward, 2002).

Viši maseni udjeli Zn, Cd, Pb i Hg u uzorcima uzgojnih populacija dagnji iz Malostonskog zaljeva mogu se povezati s drukčijim okolišnim uvjetima, većim zadržavanjem sitnozrnatog materijala i organske tvari te razlikama u biodostupnosti metala. U poluzatvorenom obalnom sustavu, kao što je Malostonski zaljev, na raspodjelu metala mogu utjecati podmorski izvori slatke vode, izmjena vode s otvorenim morem, sastav suspendiranog materijala i udio organske tvari (Eggleton i Thomas, 2004). Osim okolišnih čimbenika, na akumulaciju metala u tkivu dagnji mogu utjecati rast, dostupnost hrane, filtracijska aktivnost i reproduktivni ciklus (Fattorini i sur., 2008; Regoli i Orlando, 1994; Rouane-Hacene i sur., 2015). U uzgojnim područjima veća dostupnost hrane može potaknuti filtracijsku aktivnost dagnji, čime se povećava njihov kontakt sa suspendiranim česticama, organskom tvari i otopljenim oblicima metala. Takvi uvjeti mogu pridonijeti razlikama u akumulaciji metala u tkivu dagnji.

Budući da su uspoređivane prirodne populacije s područja ušća rijeke Neretve i uzgojne populacije iz Malostonskog zaljeva, razlike u masenim udjelima metala ne mogu se pripisati isključivo okolišnim uvjetima ni isključivo načinu uzgoja, nego vjerojatno odražavaju njihov zajednički utjecaj.

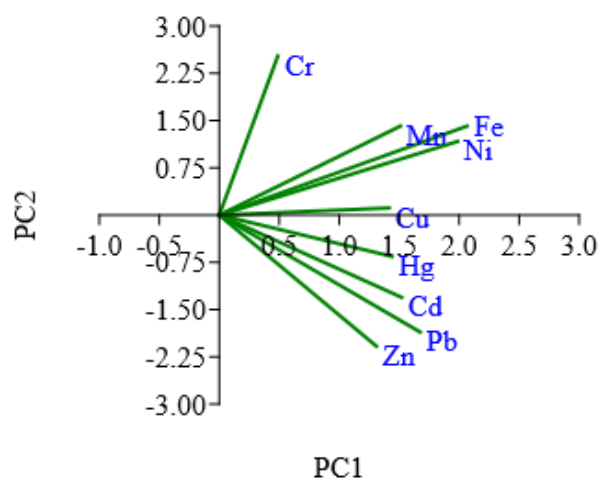
Statistički značajne razlike između prirodnih i uzgojnih populacija dagnji potvrđene su PERMANOVA analizom, dok je SIMPER analiza pokazala da razlikama između istraživanih skupina najviše doprinose Zn, Cd, Cr, Mn i Ni (slika 59). Navedeni rezultati pokazuju da se istraživane skupine ne razlikuju samo prema pojedinačnom metalu, nego prema ukupnom sastavu analiziranih metala u tkivu dagnji.

Sezonska raspodjela masenih udjela metala razlikovala se ovisno o metalu. Najviši srednji maseni udjeli Fe, Mn, Zn, Ni, Pb, Cd i Hg utvrđeni su zimi, dok su najviši srednji maseni udjeli Cr i Cu utvrđeni u jesen. Najniži srednji maseni udjeli Cr, Fe, Mn, Zn, Ni, Pb i Hg utvrđeni su ljeti, a najniži srednji maseni udjeli Cu i Cd u proljeće. Viši maseni udjeli metala tijekom hladnijeg dijela godine mogu biti povezani s intenzivnijim miješanjem vodenog stupca i resuspenzijom sedimenta, što povećava koncentraciju suspendirane tvari i dostupnost metala vezanih za čestice. Nasuprot tome, ljetna stratifikacija smanjuje vertikalnu izmjenu vode i prijenos suspendirane tvari iz dubljih slojeva, što može pridonijeti nižim masenim udjelima metala u tkivu dagnji (Harmesa i sur., 2024; Turner i Millward, 2002). U proljetnom razdoblju vodeni stupac prelazi iz zimskog dobro izmiješanog u stabilnije stratificirano stanje, pri čemu raspodjela metala može ovisiti o kombinaciji fizikalnih i bioloških čimbenika. Proljetno cvjetanje fitoplanktona povećava udjele organske tvari u vodenom stupcu i može potaknuti vezanje metala za čestice te njihovo uklanjanje iz vodene faze sedimentacijom. Istodobno, rast organizama i promjene povezane s reproduktivnim ciklusom mogu dovesti do razrjeđenja masenih udjela metala u tkivu dagnji. Ti procesi mogu pridonijeti nižim masenim udjelima Cu i Cd utvrđenima u proljetnom razdoblju (Fattorini i sur., 2008; Knopf i sur., 2020; Muñoz-Fariña i sur., 2025; Rainbow, 2002; Raspor i sur., 2004).

Analiza PERMANOVA potvrdila je statistički značajne sezonske razlike između zime i ljeta, proljeća i ljeta te ljeta i jeseni. Prema SIMPER analizi, razlikama između zime i ljeta najviše su doprinosili Fe, Hg, Mn, Pb i Ni, pri čemu su njihovi maseni udjeli bili viši zimi. Razlikama između proljeća i ljeta najviše su doprinosili Mn, Fe, Cr, Zn i Hg, s višim masenim udjelima u proljeće, dok su razlikama između ljeta i jeseni najviše doprinosili Cu, Cr, Pb, Fe i Cd, s višim masenim udjelima u jesen (slika 60).

Rezultati PCA analize dodatno prikazuju glavne smjerove varijabilnosti masenih udjela metala u dagnjama (slika 117). Najviša pozitivna opterećenja na PC1 utvrđena su za Fe, Ni, Pb, Mn i Cd. Budući da su maseni udjeli tih metala uglavnom bili viši tijekom hladnijeg dijela godine, osobito

zimi, a niži ljeti, PC1 se može povezati sa sezonskim promjenama masenih udjela metala. Samo je PC1 zadovoljila kriterij modela slomljene palice (slika 61), zbog čega predstavlja glavnu komponentu relevantnu za interpretaciju rezultata. Komponenta PC2 pokazala je pozitivno opterećenje za Cr te negativna opterećenja za Zn, Pb, Cd i Hg. Suprotan raspored Cr u odnosu na Zn, Pb, Cd i Hg odgovara razlikama između istraživanih skupina, pri čemu su maseni udjeli Cr bili viši u uzorcima s područja ušća rijeke Neretve, dok su maseni udjeli Zn, Pb, Cd i Hg bili viši u uzorcima iz Malostonskog zaljeva. Budući da PC2 nije zadovoljila kriterij modela slomljene palice (slika 61), njezine rezultate treba razmatrati samo kao dodatnu informaciju.



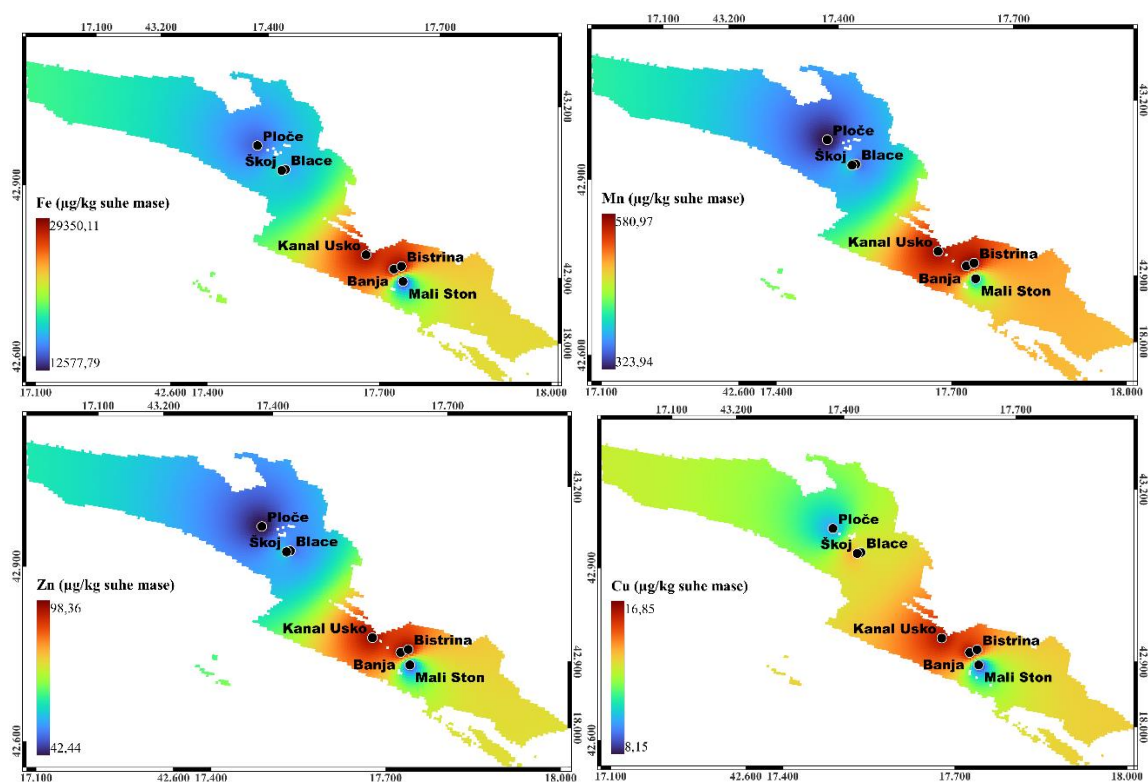
Slika 117. Biplot analize glavnih komponenti koji prikazuje međusobne odnose masenih udjela metala u mekom tkivu prirodnih populacija dagnji iz područja ušća rijeke Neretve i uzgojnih populacija dagnji iz Malostonskog zaljeva (PC1 – PC2).

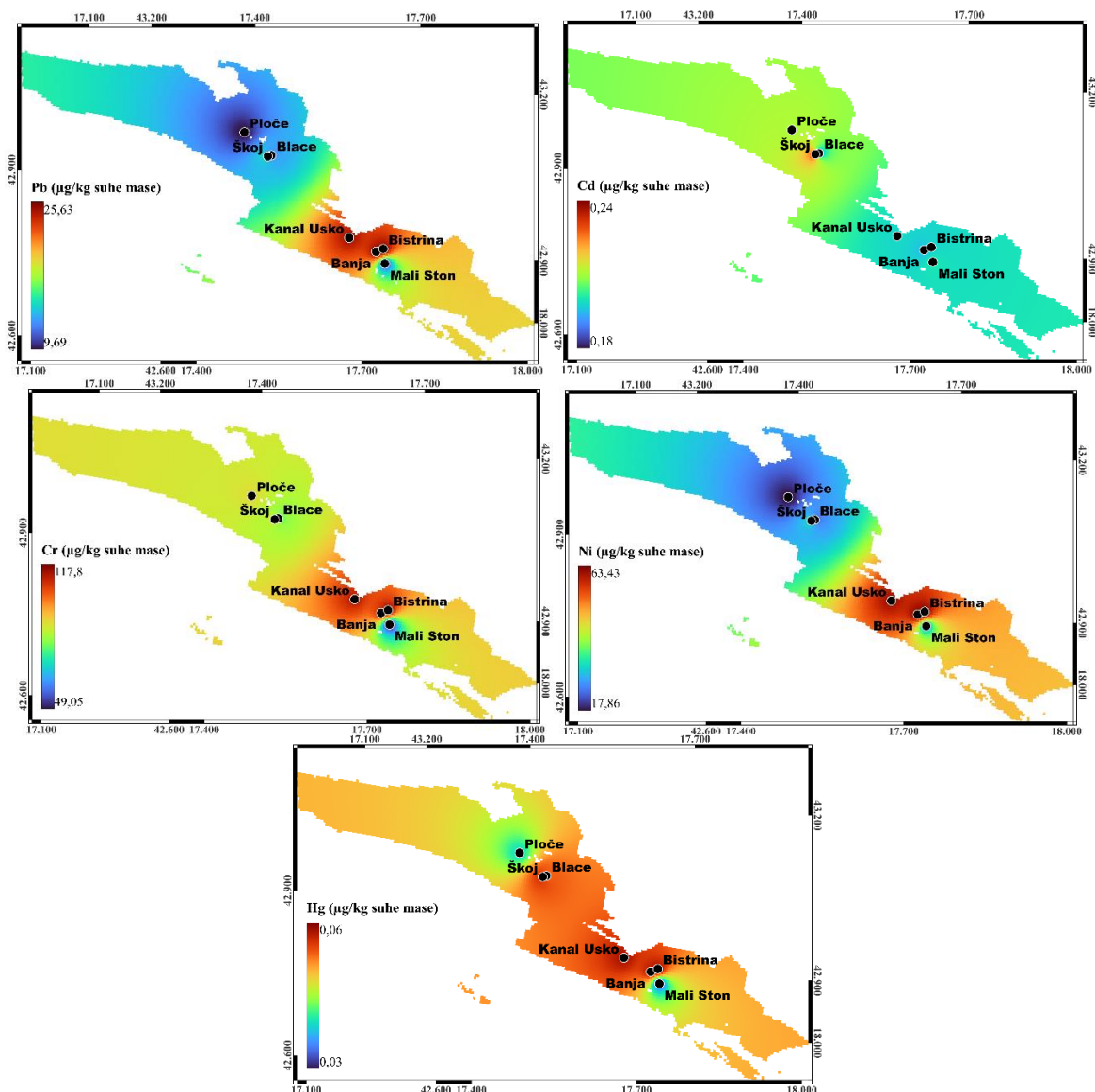
5.2.2. Sediment

U ovom istraživanju utvrđeni su viši maseni udjeli svih analiziranih metala u Malostonskom zaljevu, osim Cd-a, čiji su maseni udjeli bili neznatno viši u području ušća rijeke Neretve (slika 118). Neznatno viši maseni udjeli Cd-a u području ušća rijeke Neretve mogu se povezati s njegovim specifičnim geokemijskim ponašanjem. Kadmij se u sedimentu često pojavljuje u slabije vezanim oblicima, uključujući izmjenjivu i karbonatnu frakciju, zbog čega može biti pokretljiviji i osjetljiviji na promjene okolišnih uvjeta (Alloway, 2012; Du Laing i sur., 2008; Tessier i sur., 1979). Nasuprot tome, viši maseni udjeli ostalih analiziranih metala u Malostonskom zaljevu mogu se povezati s većom zastupljenošću sitnozrnatih frakcija, organskom tvari te prisutnošću Fe i Mn

oksida, koji povećavaju kapacitet vezanja metala u sedimentu (Alloway, 2012; Du Laing i sur., 2008; Mosalem i sur., 2024; Tessier i sur., 1979; Vodyanitskii i Vlasov, 2021).

Sitnozrnate čestice, zbog veće specifične površine i većeg broja reaktivnih adsorpcijskih mjesta, učinkovitije vežu metale od krupnijih frakcija sedimenta. Tomu dodatno mogu pridonijeti Fe i Mn oksidi te organska tvar, koji sudjeluju u vezanju metala i povećavaju reaktivnost površine čestica (Hu i sur., 2024; Klink i sur., 2019; Lion i sur., 1982; Varol, 2011; Wang i sur., 2025). Prostornoj raspodjeli metala pridonose i hidrodinamičke značajke okoliša. Zaštićeniji uvjeti u dijelovima Malostonskog zaljeva mogu pogodovati taloženju i zadržavanju sitnozrnatog materijala, što stvara povoljne uvjete za akumulaciju metala u sedimentu (Horowitz, 1991; Luoma i Rainbow, 2008). Nasuprot tome, krupnozrnatiji i bolje sortirani sediment, s višim udjelom pijeska i šljunka te karbonatnog biogenog materijala, ima manju površinu dostupnu za vezanje metala. Takvi uvjeti mogu pridonijeti nižim masenim udjelima metala na postajama s izraženijom pješčanom i šljunkovitom frakcijom (Horowitz, 1991; Marin i Vah, 2024; Pavoni i sur., 2021; Que i sur., 2024).





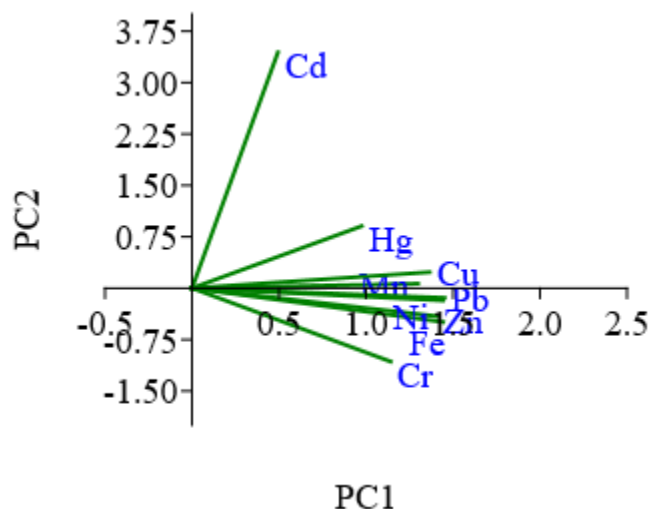
Slika 118. Prostorna raspodjela prosječnih masenih udjela metala Fe, Mn, Zn, Cu, Pb, Cd, Cr, Ni i Hg u površinskim sedimentima.

Razlike u masenim udjelima metala među postajama dodatno upućuju na povezanost njihove raspodjele sa sastavom sedimenta prema veličini zrna. U Malostonskom zaljevu viši maseni udjeli Cr, Cu, Fe, Mn, Zn, Ni, Pb i Hg utvrđeni su na postajama Kanal Usko, Banja i Bistrina, koje obilježava veća zastupljenost sitnozrnatih frakcija, dok se postaja Mali Ston izdvaja nižim masenim udjelima većine analiziranih metala. U području ušća rijeke Neretve postaja Škoj, koju obilježavaju prijelazna svojstva sedimenta i povremeno viši udio praha, izdvaja se višim masenim udjelima Ni i Pb. U zimskom razdoblju na toj su postaji utvrđeni i viši maseni udjeli Cu, Zn i Hg u odnosu na

postaje Ploče i Blace te viši maseni udjeli Cr, Fe i Cd u odnosu na postaju Ploče. U ljetnom razdoblju na postaji Škoj utvrđeni su viši maseni udjeli svih analiziranih metala u odnosu na postaju Ploče te viši maseni udjeli Cr, Cu, Fe, Zn, Ni, Pb i Cd u odnosu na postaju Blace (Horowitz, 1991; Pavoni i sur., 2021).

Iako sezonske razlike nisu bile statistički značajne, promjene srednjih masenih udjela metala tijekom godine mogu se povezati s promjenama u sastavu površinskog sedimenta prema veličini zrna. U hladnijem dijelu godine intenzivnije miješanje vodenog stupca i resuspenzija sedimenta mogu utjecati na preraspodjelu sitnozrnatog materijala, dok stabilniji uvjeti u toplijem dijelu godine mogu pogodovati njegovu taloženju i zadržavanju u površinskom sedimentu. Budući da su metali snažnije vezani uz prah i glinu nego uz pijesak, povećanje udjela sitnozrnatih frakcija može pridonijeti višim masenim udjelima metala, dok povećanje udjela pijeska može imati suprotan učinak (Horowitz, 1991; Oujidi i sur., 2021).

Rezultati multivarijatnih analiza potvrđuju prostorne razlike u raspodjeli metala, dok sezonske razlike nisu bile statistički značajne. To upućuje na to da su razlike u sastavu sedimenta prema veličini zrna i hidrodinamičkim uvjetima između istraživanih područja važnije za raspodjelu metala od sezonskih promjena tijekom godine. Analiza SIMPER pokazala je da razlikama između istraživanih područja najviše doprinose Mn, Ni, Pb, Zn, Cd i Cu. Svi analizirani metali pokazali su pozitivna opterećenja na komponenti PC1, pri čemu su najviša opterećenja utvrđena za Fe, Zn, Pb, Ni, Cu i Mn (slika 119). Takav raspored opterećenja u skladu je s prethodno opisanom prostornom raspodjelom metala, odnosno s višim masenim udjelima većine analiziranih metala u sedimentima Malostonskog zaljeva. Nisko opterećenje Cd-a na komponenti PC1 i vrlo visoko pozitivno opterećenje na komponenti PC2 upućuju na njegovo izdvajanje od ostalih metala, što se može povezati s drukčijim geokemijskim ponašanjem u sedimentu (Alloway, 2012; Du Laing i sur., 2008).



Slika 119. Biplot analize glavnih komponenti koji prikazuje međusobne odnose masenih udjela metala u površinskom sedimentu iz područja ušća rijeke Neretve i Malostonskog zaljeva (PC1 – PC2).

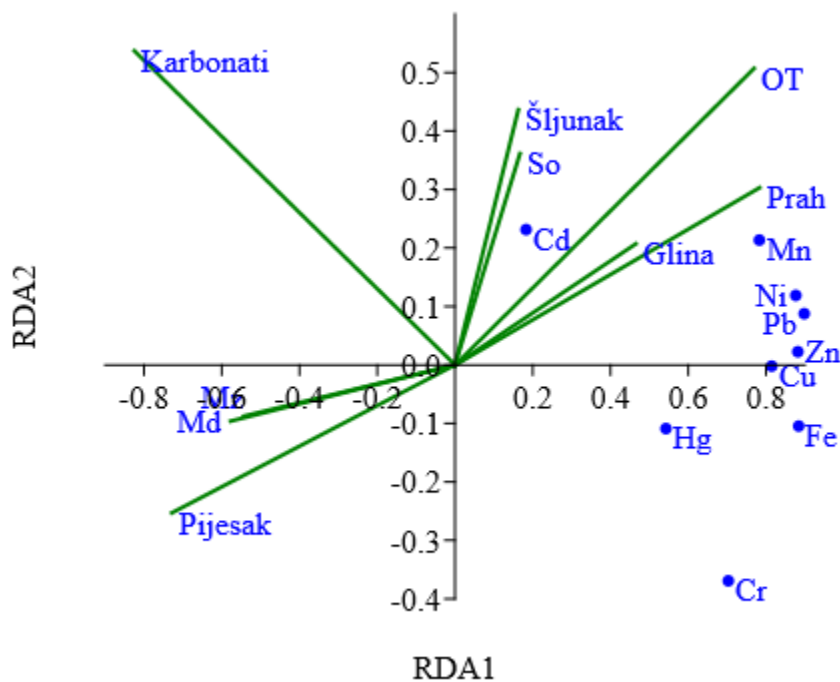
5.3. Utjecaj fizikalno-kemijskih značajki sedimenta na ukupni sadržaj metala u dagnjama i sedimentu

Rezultati Spearmanove korelacijske analize i multivarijantnih metoda upućuju na to da su maseni udjeli metala u površinskom sedimentu povezani sa sastavom sedimenta prema veličini zrna i udjelom organske tvari. To je u skladu s prostornom i sezonskom raspodjelom metala opisanom u poglavlju 4.2.2. Pozitivne korelacije s udjelima praha i organske tvari utvrđene su za sve analizirane metale osim Cd-a, dok su pozitivne korelacije s udjelom gline utvrđene za Fe, Mn, Zn, Ni, Pb, Cu i Hg. Snažne međusobne korelacije Fe, Mn, Zn, Ni i Pb dodatno upućuju na njihovu zajedničku akumulaciju u sedimentu bogatom sitnozrnatim česticama i organskom tvari (Kwasigroch i sur., 2023; Zhang i sur., 2014).

Za razliku od navedenih metala, Cd nije pokazao statistički značajne korelacije sa sitnozrnatim frakcijama, organskom tvari ni karbonatima, nego samo s Cu. To upućuje na njegovo drukčije geokemijsko ponašanje u sedimentu (El-Saadani i sur., 2022). Negativne korelacije analiziranih metala, osim Cd-a, s udjelima pijeska i karbonata upućuju na niže masene udjele metala u krupnozrnatim i karbonatnim sedimentima. Metali Fe, Mn, Zn, Ni, Pb, Cu i Hg bili su negativno korelirani s parametrima Mz i Md, dok je Cr pokazao statistički značajnu negativnu korelaciju

samo s parametrom Md. Izostanak statistički značajnih korelacija s parametrom So i frakcijom šljunka upućuje na njihov manji doprinos raspodjeli metala u sedimentu.

Rezultati PLS i RDA analize podupiru navedene odnose. Na osi RDA1 svi analizirani metali, frakcije praha i gline, organska tvar te parametar So imali su pozitivne projekcije, dok su pijesak, karbonati te parametri Mz i Md imali negativne projekcije. Budući da parametar So nije pokazao statistički značajne korelacije s metalima i imao je vrlo malo opterećenje u PLS analizi (slika 70), njegov je doprinos raspodjeli metala u sedimentu vjerojatno malen. Među metalima je Cd imao najkraću pozitivnu projekciju, što dodatno upućuje na njegovu slabiju povezanost sa sitnozrnatim frakcijama sedimenta i organskom tvari u odnosu na ostale analizirane metale (slika 120). Krom se izdvajao najizraženijom negativnom projekcijom na osi RDA2 (slika 120), što upućuje na drukčiji obrazac njegove raspodjele u odnosu na ostale analizirane metale. Takav položaj Cr pokazuje da njegova raspodjela nije bila usko povezana s organskom tvari, prahom i glinom, nego je vjerojatno bila određena drugim čimbenicima koji nisu bili obuhvaćeni prikazanim sedimentološkim parametrima.



Slika 120. Biplot redundancijske analize koji prikazuje povezanost metala s fizikalno-kemijskim značajkama površinskog sedimenta.

Za razliku od izraženih povezanosti utvrđenih u sedimentu, maseni udjeli metala u dagnjama bili su znatno slabije povezani sa sastavom sedimenta prema veličini zrna te udjelima organske tvari i karbonata. Takav rezultat upućuje na to da sastav površinskog sedimenta nije bio glavni čimbenik koji je određivao akumulaciju metala u dagnjama. Budući da dagnje metale ponajprije unose filtracijom suspendiranih čestica i otopljenih oblika iz vodenog stupca, njihovi maseni udjeli više odražavaju trenutačnu i biološki dostupnu frakciju metala u vodi nego ukupno opterećenje sedimenta. Stoga se povezanost između sedimenta i dagnji može očekivati samo u uvjetima u kojima metali iz sedimenta prelaze u vodeni stupac i postaju dostupni za unos filtracijom. Statistički značajne korelacije između masenih udjela metala u dagnjama i veličinskih frakcija sedimenta nisu utvrđene za većinu metala. Iznimke su bili Zn i Pb, koji su pokazali pozitivne korelacije s udjelom šljunka. Nijedan metal nije pokazao statistički značajnu korelaciju s udjelima organske tvari ili karbonata u sedimentu.

Redundancijska analiza pokazala je statistički značajan ukupni model, ali je objašnjeni udio varijance bio razmjerno malen, dok PLS analiza nije pokazala statističku značajnost. Ti rezultati potvrđuju da ukupni maseni udio metala u sedimentu ne odražava nužno bioraspoloživi udio metala za dagnje (Miranda i sur., 2021; Zhang i sur., 2014).

Međusobne korelacije metala u dagnjama upućuju na moguće sličnosti u njihovim izvorima, bioraspoloživosti i procesima akumulacije u tkivu. Posebno se izdvaja skupina Fe, Mn i Ni, čiji su maseni udjeli bili međusobno pozitivno povezani. Maseni udjeli Ni bili su pozitivno povezani i s masenim udjelima Cu, Pb i Cd. Pozitivne korelacije utvrđene su između Pb i Cu, Fe, Zn, Ni, Cd i Hg te između Cd i Zn, Ni i Pb. Za Cu su utvrđene pozitivne korelacije s Mn, Ni i Pb, za Cr samo s Fe, a za Hg s Fe i Pb. Takvi odnosi ne mogu se objasniti isključivo analiziranim značajkama sedimenta, nego vjerojatno ovise i o kemijskoj dostupnosti metala u okolišu te biološkim procesima akumulacije, raspodjele i regulacije u tkivu dagnji.

5.4. Omjeri metala normalizirani na Fe kao pokazatelji raspodjele metala i geokemijskih procesa u sedimentima

Omjeri metala normalizirani na Fe pokazali su razlike u relativnoj raspodjeli metala između Malostonskog zaljeva i područja ušća rijeke Neretve, koje upućuju na različite uvjete taloženja, zadržavanja i vezanja metala u površinskom sedimentu. Najveći doprinos razlikama između istraživanih područja imao je omjer Ni/Fe, koji je bio viši u Malostonskom zaljevu. Viši omjeri Pb/Fe i Zn/Fe također su utvrđeni u Malostonskom zaljevu, ali je njihov pojedinačni doprinos razlikama bio manji od doprinosa omjera Ni/Fe. Navedeni omjeri mogu se povezati s višim udjelom sitnozrnatih frakcija i organske tvari u sedimentu Malostonskog zaljeva. Dodatan izvor organske tvari i sitnijih čestica može biti taloženje materijala povezanog s uzgojem školjkaša. Školjkaši filtriraju suspendirane čestice iz vode, pri čemu se dio čestica probavlja i izlučuje kao fekalni peleti, dok se neprobavljene ili odbačene čestice izlučuju kao pseudofeces. Ti se materijali talože na morsko dno i mogu povećati udio organske tvari i sitnijih čestica u površinskom sedimentu. Organska tvar, Fe- i Mn-oksidi te sitnozrnate frakcije sedimenta važni su za vezanje metala, pa takvi uvjeti mogu pridonijeti zadržavanju Ni, Pb i Zn u sedimentu Malostonskog zaljeva (Chen i sur., 2024; Geng i sur., 2024).

U području ušća rijeke Neretve, u odnosu na Malostonski zaljev, utvrđeni su viši omjeri Cr/Fe, Cu/Fe i Hg/Fe. Ti se omjeri mogu povezati s riječnim donosom suspendirane tvari i razlikama u sastavu sedimenta prema veličini zrna. Viši omjer Cr/Fe na postaji Ploče može se povezati s donosom čestica s kopna koje sadrže Cr, a ne s izravnim vezanjem Cr-a za pješčanu frakciju. Viši omjeri Cu/Fe i Hg/Fe u području ušća rijeke Neretve upućuju na drukčije uvjete taloženja i zadržavanja suspendiranih čestica, osobito sitnijih frakcija i organske tvari koje mogu sudjelovati u vezanju Cu-a i Hg-a (Geng i sur., 2024; Lu i sur., 2025).

Slični srednji omjeri Fe/Mn između Malostonskog zaljeva i područja ušća rijeke Neretve pokazuju da se odnos Fe i Mn u površinskom sedimentu nije izrazito razlikovao između istraživanih područja. Budući da Fe- i Mn-oksidi mogu sudjelovati u vezanju metala, takav rezultat upućuje na to da omjer Fe/Mn nije bio glavni pokazatelj razlika između područja. Slični srednji omjeri Cd/Fe pokazuju da se relativna raspodjela Cd-a u odnosu na Fe nije izrazito razlikovala između Malostonskog zaljeva i područja ušća rijeke Neretve (Geng i sur., 2024; Homoky i sur., 2016).

Razlike između područja dodatno su se očitovale u razlikama među postajama, pri čemu su se izdvojeni omjeri mijenjali ovisno o sezoni. U području ušća rijeke Neretve zimi su najveće razlike utvrđene između postaja Ploče i Škoj. Na postaji Škoj bili su viši omjeri Ni/Fe, Cu/Fe i Pb/Fe, dok je na postaji Ploče bio viši omjer Cr/Fe. Takva zimska raspodjela može se povezati s riječnim donosom tijekom razdoblja izraženijih oborina, kada se u područje ušća pojačano prenosi suspendirana tvar s kopna. Zbog položaja bliže ušću, viši omjer Cr/Fe na postaji Ploče može upućivati na jači utjecaj donesenih čestica koje sadrže Cr. Suprotno tome, viši omjeri Ni/Fe, Cu/Fe i Pb/Fe na postaji Škoj mogu upućivati na zadržavanje sitnijih suspendiranih čestica i organske tvari uz koje se ti metali mogu vezati u površinskom sedimentu. U proljeće su najveće razlike za Cd/Fe i Cu/Fe utvrđene između postaja Blace i Škoj. Omjer Cd/Fe bio je viši na postaji Škoj, dok je omjer Cu/Fe bio viši na postaji Blace. Za Fe/Mn najveća razlika utvrđena je između postaja Ploče i Škoj, s višim omjerom na postaji Ploče. Takva proljetna raspodjela može se povezati s istodobnim donosom riječnog materijala i taloženjem sitnijih čestica, ali i s promjenama u udjelu organske tvari u površinskom sedimentu. Viši Cd/Fe na postaji Škoj može upućivati na lokalne uvjete koji pogoduju zadržavanju Cd-a u sedimentu, dok viši Cu/Fe na postaji Blace može odražavati drukčije uvjete taloženja sitnozrnatog i organskom tvari obogaćenog materijala. Viši omjer Fe/Mn na postaji Ploče upućuje na relativno veću zastupljenost Fe-a u odnosu na Mn u proljetnom sedimentu te postaje, što može odražavati lokalne razlike u donosima i taloženju suspendiranih čestica. Ljeti je omjer Hg/Fe bio viši na postaji Blace nego na postajama Ploče i Škoj, dok je omjer Cu/Fe bio viši na postaji Škoj nego na postaji Ploče. Ta raspodjela može se povezati s lokalnim zadržavanjem sitnozrnatog materijala i organske tvari na postajama Blace i Škoj, gdje uvjeti taloženja mogu pogodovati vezanju Hg-a i Cu-a u površinskom sedimentu. Budući da su omjeri Hg/Fe i Cu/Fe na postaji Ploče bili niži, ta se postaja ljeti nije izdvajala kao područje izraženijeg zadržavanja Hg-a i Cu-a u sedimentu. U jesen su između postaja Ploče i Blace najveće razlike utvrđene za Cd/Fe i Cr/Fe, pri čemu su oba omjera bila viša na postaji Ploče. Između postaja Blace i Škoj najveće razlike utvrđene su za Cd/Fe i Hg/Fe, s višim omjerima na postaji Škoj. Jesenska raspodjela pokazuje dva različita utjecaja: na postaji Ploče viši omjeri Cd/Fe i Cr/Fe mogu se povezati s riječnim donosom i položajem bliže ušću, dok na postaji Škoj viši omjeri Cd/Fe i Hg/Fe upućuju na zadržavanje sitnijih čestica i organske tvari, što može pogodovati vezanju Cd-a i Hg-a u površinskom sedimentu.

U Malostonskom zaljevu razlike među postajama bile su najizraženije na postaji Mali Ston, dok su postaje Kanal Usko, Banja i Bistrina pokazale međusobno sličnije omjere. Zimi su na postaji Mali Ston utvrđeni viši omjeri Cd/Fe, Hg/Fe i Cu/Fe te niži omjer Fe/Mn. Najveće razlike za Cd/Fe, Fe/Mn i Cu/Fe utvrđene su u odnosu na postaju Kanal Usko, dok je za Hg/Fe najveća razlika utvrđena u odnosu na postaju Banja. Takva zimska raspodjela može se povezati s položajem Malog Stona u unutarnjem dijelu zaljeva, gdje slabija izmjena vode i zadržavanje sitnijeg materijala mogu pogodovati nakupljanju organske tvari i vezanju Cd-a, Hg-a i Cu-a. Niži omjer Fe/Mn na postaji Mali Ston upućuje na relativno manju zastupljenost Fe-a u odnosu na Mn u površinskom sedimentu, što se može odraziti i na vezanje drugih metala. U proljeće se postaja Mali Ston izdvajala višim omjerima Cd/Fe, Hg/Fe, Cu/Fe i Zn/Fe te nižim omjerom Fe/Mn. Najveće razlike za Cd/Fe, Cu/Fe i Zn/Fe utvrđene su u odnosu na postaju Kanal Usko, a za Hg/Fe i Fe/Mn u odnosu na postaju Bistrina. Proljetno izdvajanje Malog Stona može se povezati s povećanim unosom organske tvari u sediment, uključujući taloženje fekalnih peleta i pseudofecesa iz uzgoja školjkaša, ali i s taloženjem sitnijih čestica tijekom razdoblja povećane biološke aktivnosti (Chen i sur., 2024). Takvi uvjeti mogu pogodovati vezanju Cd-a, Hg-a, Cu-a i Zn-a u površinskom sedimentu, pri čemu se Cd i Hg mogu zadržavati u slabije topljivim oblicima (Galasso i sur., 2025; Kumar i sur., 2022). Ljeti su razlike u Malostonskom zaljevu bile slabije izražene, a najveća je utvrđena za Cd/Fe. To upućuje na to da se tijekom ljeta omjeri većine metala među postajama ujednačavaju, dok Cd/Fe ostaje osjetljiv na lokalne uvjete u sedimentu. U jesen su na postaji Mali Ston zabilježeni viši omjeri Cd/Fe i Hg/Fe te niži omjer Fe/Mn u odnosu na ostale postaje zaljeva. Jesenska raspodjela može se povezati sa zadržavanjem organske tvari i sitnijih čestica u unutarnjem dijelu zaljeva nakon proljetno-ljetnog razdoblja biološke aktivnosti i taloženja. Zbog toga se Mali Ston izdvaja kao postaja na kojoj se lokalni uvjeti taloženja, udio organske tvari i odnos Fe i Mn najjasnije odražavaju u omjerima Cd/Fe, Hg/Fe i Cu/Fe (Galasso i sur., 2025; Geng i sur., 2024; Hsieh i Bugna, 2025).

Korelacijska analiza (slika 74) dodatno upućuje na razlike u geokemijskom ponašanju metala i njihovu povezanost sa svojstvima sedimenta. Pozitivna korelacija Ni/Fe sa Zn/Fe i Pb/Fe može upućivati na slične procese zadržavanja tih metala u sedimentu. Pozitivne korelacije Cd/Fe s Cu/Fe i Hg/Fe te negativna korelacija Cd/Fe s Fe/Mn mogu biti povezane s geokemijskim uvjetima koji utječu na vezanje Cd-a, Cu-a i Hg-a. Negativne korelacije omjera Cr/Fe s omjerima Ni/Fe i Pb/Fe upućuju na to da se Cr u sedimentu raspoređuje drukčije od Ni i Pb. Pozitivna korelacija omjera

Cr/Fe s omjerom Hg/Fe pokazuje da se dio prostorne varijabilnosti Cr-a i Hg-a preklapa. Pozitivna korelacija omjera Cu/Fe s omjerom Hg/Fe može upućivati na slične procese vezanja Cu-a i Hg-a u sedimentu. Pozitivna korelacija Cu/Fe s Hg/Fe može upućivati na sličnije procese njihova vezanja u sedimentu.

Multivarijatne analize potvrdile su statistički značajne razlike između Malostonskog zaljeva i područja ušća rijeke Neretve. Analiza SIMPER (slika 75) pokazala je da je najveći doprinos razlikama imao omjer Ni/Fe, dok je najmanji doprinos imao omjer Cd/Fe. Omjeri Ni/Fe, Pb/Fe, Cr/Fe, Zn/Fe, Cu/Fe i Hg/Fe zajedno su najviše pridonijeli razlikama između područja. Statistički značajne sezonske razlike nisu utvrđene, što upućuje na to da je raspodjela omjera metala normaliziranih na Fe bila snažnije povezana s lokalnim sedimentološkim i geokemijskim uvjetima nego sa sezonskim promjenama.

5.5. *Prostorno-sezonska raspodjela PAH-ova*

5.5.1. *Školjkaši*

Rezultati pokazuju da u ukupnoj raspodjeli masenih udjela PAH-ova u mekom tkivu dagnji prevladavaju Naph, Flt, Phe, DahA i Pyr. Veća zastupljenost Naph i Phe može se povezati s njihovom većom topljivošću u vodi u odnosu na PAH-ove s većim brojem aromatskih prstenova, a time i s većom dostupnošću u otopljenoj fazi. Spojevi Flt i Pyr imaju prijelazna svojstva te mogu biti dostupni dagnjama iz otopljene faze, ali i preko suspendirane i organske tvari koju dagnje zadržavaju tijekom filtracije. Izrazito hidrofoban spoj DahA slabije je topljiv u vodi te se lakše veže uz suspendiranu i organsku tvar u vodenom stupcu, što može objasniti njegovu zastupljenost u tkivu dagnji, osobito u uzorcima iz Malostonskog zaljeva, u kojima su za DahA utvrđeni veći maseni udjeli nego u uzorcima s područja ušća rijeke Neretve (De Giovanni i sur., 2022; Von Hellfeld i sur., 2022).

U uzorcima s područja ušća rijeke Neretve utvrđeni su viši maseni udjeli većine kvantificiranih PAH-ova, uključujući Naph, Flt, Phe, Pyr, Flu, Ant, BaA, Chr, BkF, BaP i BbF. Takva raspodjela može biti povezana s riječnim unosom u područje ušća. Rijeka u more donosi otopljene spojeve, suspendiranu tvar i organsku tvar, pa može utjecati na prostornu raspodjelu PAH-ova u vodenom stupcu i njihovu dostupnost dagnjama tijekom filtracije. U području miješanja slatke i morske vode

promjene saliniteta, taloženje suspendirane tvari i udio organske tvari dodatno utječu na prijenos PAH-ova i njihovo zadržavanje u obalnom sustavu (Baumard i sur., 1998; Guo i sur., 2007).

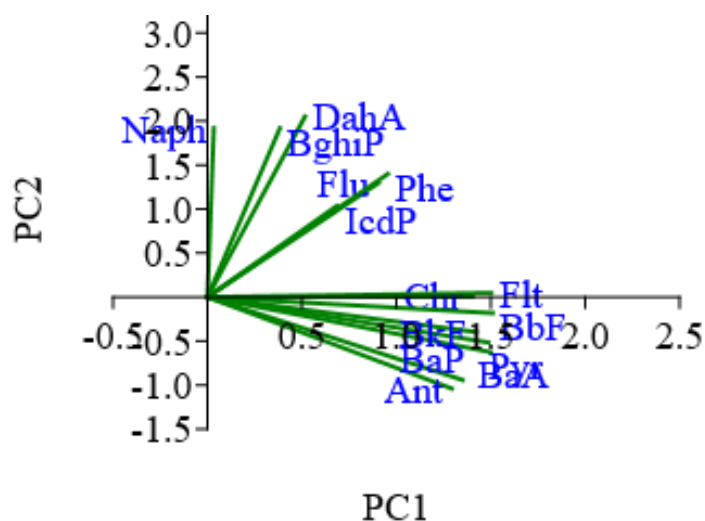
Nasuprot tome, u uzorcima iz Malostonskog zaljeva utvrđeni su viši maseni udjeli DahA, BghiP i IcdP. Njihova veća zastupljenost može se povezati s hidrografskim značajkama zaljeva, uključujući dotok slatke vode iz priobalnih i podmorskih izvora, izražene promjene i čestu stratifikaciju saliniteta te izmjenu vode između zaljeva i Neretvanskog kanala (Buljan i sur., 1973; Kršinić i sur., 2016). Takvi uvjeti mogu pogodovati zadržavanju suspendirane i organske tvari u vodenom stupcu te drukčijoj raspodjeli hidrofobnijih PAH-ova u odnosu na područje ušća rijeke Neretve.

Analiza PERMANOVA pokazala je statistički značajne razlike u raspodjeli masenih udjela PAH-ova između dagnji iz prirodnih populacija s područja ušća rijeke Neretve i uzgojnih populacija iz Malostonskog zaljeva. Analiza SIMPER pokazala je da razlikama između istraživanih skupina najviše doprinose Pyr, Flt, BaA, BaP, Ant, BbF, BkF i Chr, pri čemu su za navedene spojeve utvrđeni viši maseni udjeli u dagnjama iz prirodnih populacija s područja ušća rijeke Neretve (slika 77). Navedeni spojevi većinom imaju četiri ili pet aromatskih prstenova, zbog čega su slabije topljivi u vodi i skloniji vezanju uz organsku i suspendiranu tvar. Njihova veća zastupljenost u dagnjama s područja ušća upućuje na važnost riječnog unosa i prijenosa PAH-ova preko suspendirane i organske tvari.

Sezonska raspodjela pokazala je da je najviši srednji maseni udio Naph utvrđen u proljetnom razdoblju. Najviši srednji maseni udjeli Flu, Phe, DahA, BghiP i IcdP utvrđeni su zimi, dok su za Ant, Pyr, BaA, Chr, BkF, BaP, Flt i BbF najviši srednji maseni udjeli utvrđeni u jesenskom razdoblju. Iako su opisno utvrđene sezonske promjene pojedinih PAH-ova, analizom PERMANOVA nisu potvrđene statistički značajne razlike između sezona. Time se potvrđuje da je prostorna razlika između ušća rijeke Neretve i Malostonskog zaljeva izraženija od sezonske promjenjivosti.

Analiza glavnih komponenti provedena je radi dodatnog ispitivanja međusobnih odnosa i zajedničke promjenjivosti PAH-ova (slika 121). Izdvojene su dvije glavne komponente koje zajedno objašnjavaju 75,49 % ukupne varijance. Komponenta PC1 obilježena je visokim pozitivnim opterećenjima Ant, Pyr, BaA, Chr, BkF, BaP, BbF i Flt. Navedenu skupinu većinom čine PAH-ovi s četiri i pet aromatskih prstenova, uz Ant kao spoj s tri aromatska prstena. Njihovo zajedničko izdvajanje na PC1 pokazuje da se ti spojevi u uzorcima ponašaju slično: uzorci s višim

masenim udjelima jednoga od tih spojeva uglavnom imaju i više masene udjele ostalih spojeva iz iste skupine. Komponenta PC2 obilježena je pozitivnim opterećenjima Naph, Flu, Phe, DahA, BghiP i IcdP. Izdvajanje tih spojeva na PC2 pokazuje da se njihovi maseni udjeli ne mijenjaju na isti način kao maseni udjeli spojeva povezanih s PC1. Takva raspodjela može odražavati razlike u fizikalno-kemijskim svojstvima, topljivosti, hidrofobnosti i načinu prijenosa u vodenom stupcu.



Slika 121. Biplot analize glavnih komponenti koji prikazuje međusobne odnose masenih udjela kvantificiranih PAH-ova (Naph, Flu, Phe, Ant, Flt, Pyr, BaA, Chr, BbF, BkF, BaP, DahA, BghiP i IcdP) u mekom tkivu prirodnih populacija dagnji iz područja ušća rijeke Neretve i uzgojnih populacija dagnji iz Malostonskog zaljeva (PC1 – PC2).

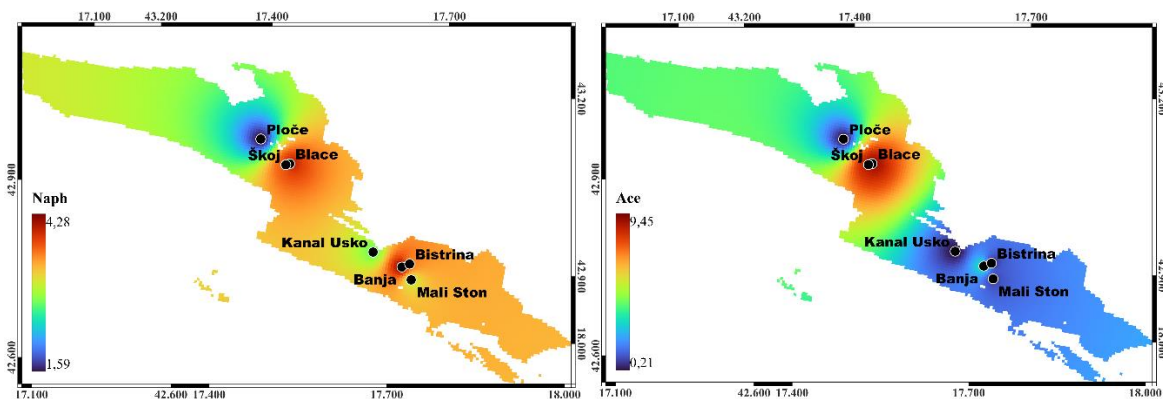
5.5.2. Sediment

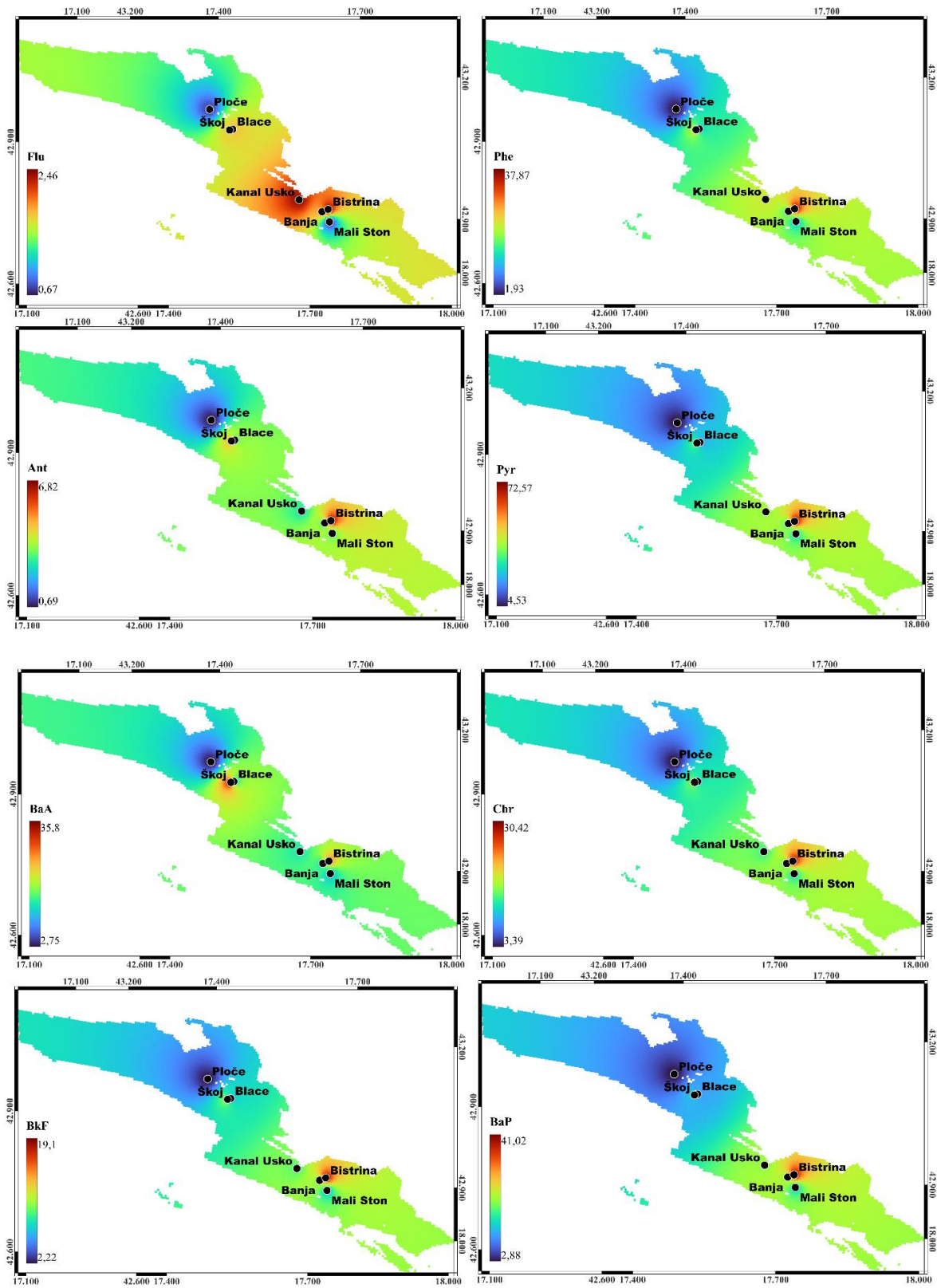
Prostorna raspodjela PAH-ova u sedimentu upućuje na razlike između Malostonskog zaljeva i područja ušća rijeke Neretve, pri čemu su maseni udjeli većine PAH-ova, osim Ace, bili viši u Malostonskom zaljevu (slika 122). U ukupnoj raspodjeli prevladavali su HMW PAH-ovi, među kojima su se izdvajali BbF, Flt, Pyr, IcdP i DahA, dok se među LMW PAH-ovima izdvajao Phe. U odnosu na LMW PAH-ove, HMW PAH-ovi imaju nižu topljivost u vodi, veću hidrofobnost i izraženiju sklonost vezanju uz organsku tvar, suspendiranu tvar i sediment s višim udjelom praha i gline. Takva svojstva pridonose njihovu nakupljanju i duljem zadržavanju u površinskom sloju sedimenta (Duran i Cravo-Laureau, 2016; Marini i Frapiccini, 2012; Frapiccini i sur., 2024; Skic i sur., 2023). Slični prostorni obrasci zabilježeni su i u drugim obalnim dijelovima Jadranskog i

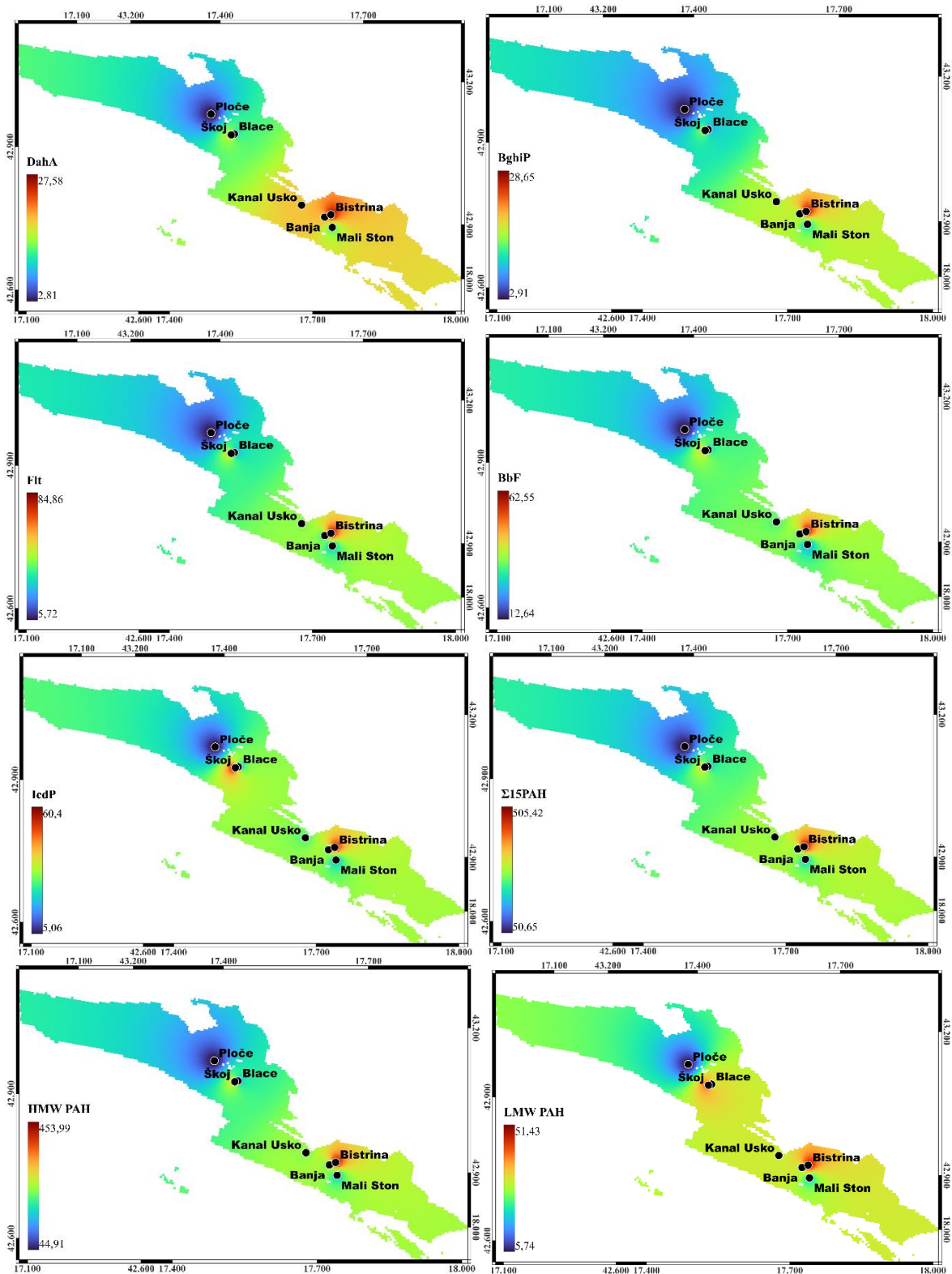
Sredozemnog mora (Acquavita i sur., 2014; Bajt, 2022; Mandić i Pavela Vrančić, 2017; Mandić i sur., 2018; Montuori i sur., 2016).

Viši maseni udjeli PAH-ova u Malostonskom zaljevu mogu se povezati s lokalnim hidrodinamičkim uvjetima, donosom suspendirane i organske tvari te sastavom veličine zrna sedimenta. Povezanost između sastava sedimenta i masenih udjela PAH-ova osobito je vidljiva na postaji Bistrina, gdje prevladava prah, a maseni udjeli većine PAH-ova, osobito Flt, Pyr, BaP, BbF, BkF i IcdP, bili su viši nego na ostalim postajama Malostonskog zaljeva. Nasuprot tome, na postaji Banja izdvojili su se Ace i Naph, što upućuje na drukčiju raspodjelu LMW PAH-ova u odnosu na HMW PAH-ove.

Na području ušća rijeke Neretve raspodjela PAH-ova također prati lokalne značajke sedimenta i hidrodinamičke uvjete. Postaja Škoj izdvojila se višim masenim udjelima većine PAH-ova, osobito BaA, Phe, Ant, IcdP, Flt, Pyr, DahA, BghiP, BkF, Chr, BaP i BbF, što je u skladu s većim udjelom praha na toj postaji. Na postaji Blace izdvojili su se Naph, Ace i Flu, dok na postaji Ploče prevladava pješčana veličinska frakcija, uz koju se hidrofobni organski spojevi slabije vežu. Takva raspodjela u skladu je s ranijim istraživanjima Neretvanskog kanala, prema kojima lokalni hidrološki uvjeti određuju prijenos i taloženje sedimenta. Sitnozrnati sediment nakuplja se u blizini ušća te u središnjem i sjeveroistočnom dijelu kanala, dok struje iz otvorenog Jadrana mogu odnositi sitniji sediment iz izloženijih dijelova akvatorija (Giglio i sur., 2020).





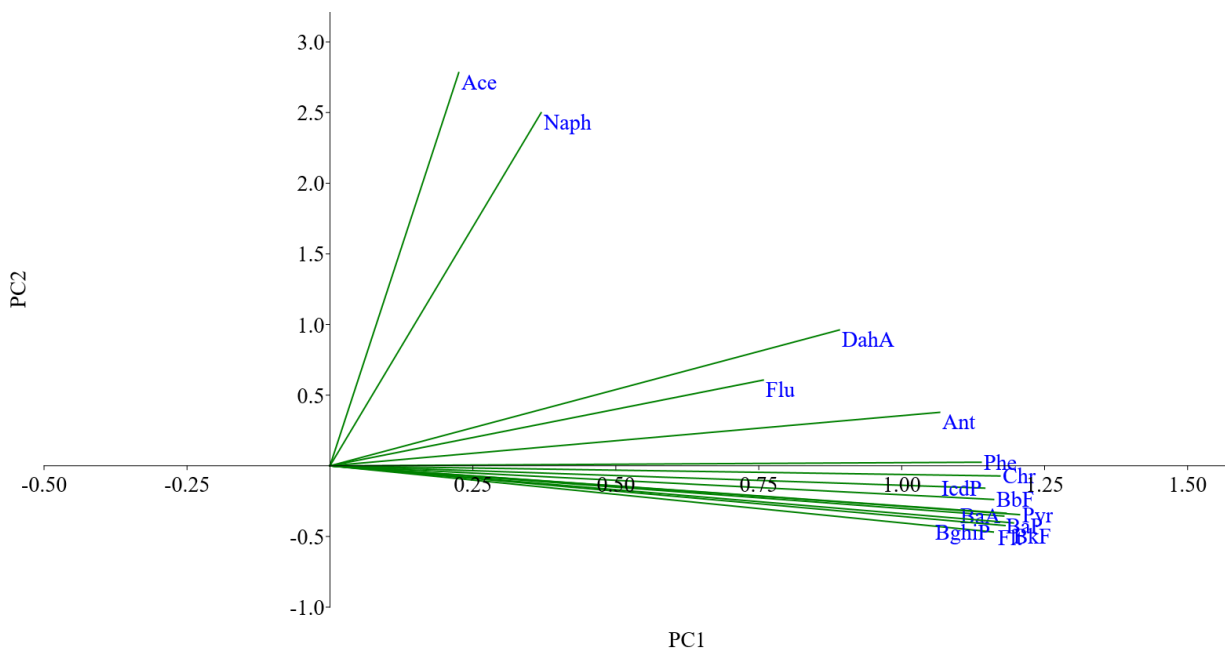


Slika 122. Prostorna raspodjela prosječnih masenih udjela PAH-ova – Naph, Ace, Flu, Phe, Ant, Flt, Pyr, BaA, Chr, BbF, BkF, BaP, DahA, BghiP, IcdP, Σ15PAH, ΣHMW PAH-ova i ΣLMW PAH-ova u sedimentu.

Sezonska raspodjela nije upućivala na jedinstven obrazac za sve PAH-ove, nego na različito ponašanje lakših i hidrofobnijih spojeva. Najviši srednji maseni udjeli Naph i Flu utvrđeni su zimi, što se može povezati s većom topljivošću LMW PAH-ova, većim zimskim donosom kopnenog materijala i slabijom razgradnjom pri nižoj temperaturi. Ljeti su najviši srednji maseni udjeli utvrđeni za Ace, Phe, Ant, Pyr, BaA, DahA, Flt i IcdP. Takva raspodjela upućuje na izraženiji utjecaj lokalnih izvora, pojačanog taloženja organske tvari i sezonskih promjena u vodenom stupcu, koje mogu utjecati na prijenos PAH-ova prema sedimentu. U proljetnom razdoblju najviši srednji maseni udjeli utvrđeni su za Chr, BkF, BaP, BghiP i BbF, odnosno za spojeve koji se snažnije vežu uz organsku tvar i sitnozrnati sediment. Najniži maseni udjeli većine kvantificiranih PAH-ova utvrđeni su u jesenskom i zimskom razdoblju, dok je za DahA najniži srednji maseni udio utvrđen u proljetnom razdoblju.

Multivarijatna analiza PERMANOVA potvrdila je statistički značajne razlike između područja Malostonskog zaljeva i ušća rijeke Neretve, dok sezonske razlike nisu bile statistički značajne. Time se potvrđuje da je prostorna razlika između istraživanih područja izraženija od sezonskih promjena u raspodjeli PAH-ova u sedimentu. Prema analizi SIMPER, prostornim razlikama najviše doprinose BghiP, BaP, Pyr, Flt, IcdP, BkF, Chr i BaA. Svi navedeni spojevi pripadaju skupini HMW PAH-ova, što je u skladu s njihovom većom zastupljenošću u sedimentu Malostonskog zaljeva i s prevlašću HMW PAH-ova u ukupnoj raspodjeli PAH-ova u sedimentu.

Analiza glavnih komponenti (slika 123) pokazala je da je prema kriteriju modela slomljene palice samo komponenta PC1 zadržana za interpretaciju. Na komponenti PC1 svi kvantificirani PAH-ovi imaju pozitivna opterećenja, pri čemu su najviša opterećenja utvrđena za HMW PAH-ove. Budući da su među spojevima s najvišim opterećenjima na PC1 bili isti HMW PAH-ovi koji su prema analizi SIMPER najviše doprinosili razlikama između područja, rezultati PCA podupiru zaključak da prostornu razliku u sedimentu ponajprije oblikuju HMW PAH-ovi. Komponenta PC2 nije zadovoljila kriterij modela slomljene palice za uključivanje u interpretaciju, ali se na njoj izdvajaju Ace i Naph, što upućuje na drukčiju raspodjelu LMW PAH-ova u odnosu na HMW PAH-ove.



Slika 123. Biplot analize glavnih komponenti koji prikazuje međusobne odnose masenih udjela kvantificiranih PAH-ova (Naph, Ace, Flu, Phe, Ant, Flt, Pyr, BaA, Chr, BbF, BkF, BaP, DahA, BghiP i IcdP) u površinskom sedimentu iz područja ušća rijeke Neretve i Malostonskog zaljeva (PC1 – PC2).

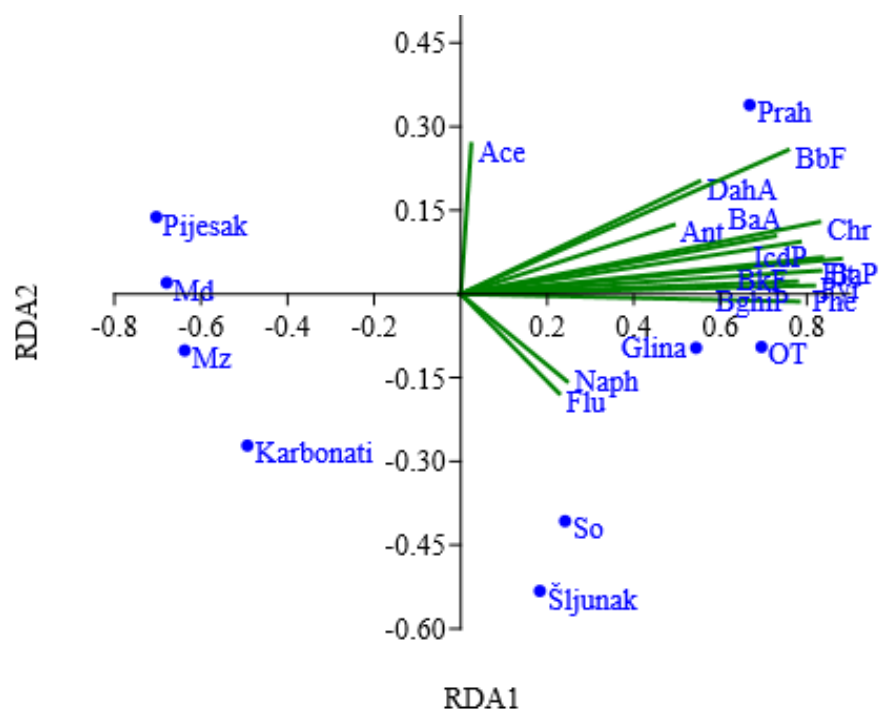
5.6. Utjecaj fizikalno-kemijskih značajki sedimenta na ukupni sadržaj PAH-ova u školjkašima i sedimentu

Rezultati statističkih analiza za sediment upućuju na značajnu povezanost fizikalno-kemijskih značajki sedimenta s raspodjelom PAH-ova u sedimentu južnog Jadrana. Sastav sedimenta prema veličini zrna i udio organske tvari izdvojili su se kao značajke sedimenta najsnažnije povezane s masenim udjelima PAH-ova, što je u skladu s ranijim istraživanjima provedenima u obalnim područjima Sredozemnog mora i drugim priobalnim sustavima (Baumard i sur., 1998; Hatzianestis i sur., 2020; Magi i sur., 2002; Vane i sur., 2020).

Spearmanova korelacijska analiza pokazala je statistički značajne pozitivne korelacije unutar skupine HMW PAH-ova. Značajne korelacije utvrđene su i između LMW PAH-ova Flu, Phe i Ant te HMW PAH-ova. Spoj DahA bio je pozitivno koreliran s Phe, Pyr, BaP i IcdP. Takva raspodjela može se povezati sa sličnim fizikalno-kemijskim svojstvima i sličnim ponašanjem tih spojeva u okolišu.

S obzirom na sastav sedimenta prema veličini zrna, BaP, Flt i Pyr bili su statistički značajno negativno korelirani s udjelom pijeska, dok su BaP i Pyr bili pozitivno korelirani s udjelom praha. Pozitivne korelacije s udjelom gline utvrđene su za Phe, Flt i DahA. Udio organske tvari bio je pozitivno koreliran s Phe, Pyr, BaP, BghiP i IcdP. Karbonati su pokazali negativne korelacije s Phe, Ant, Pyr, BaA, Chr, BkF, BaP, BghiP, Flt, BbF i IcdP. Parametar Mz bio je negativno koreliran s Phe, Pyr, BaP, Flt i DahA, a parametar Md s Phe, BaP, IcdP, Ant i DahA. Parametar So nije pokazao statistički značajne korelacije ni s jednim PAH-om. Ovakva raspodjela korelacija pokazuje da su viši maseni udjeli PAH-ova, osobito HMW PAH-ova, povezani sa sedimentom bogatijim prahom, glinom i organskom tvari. Prah i glina imaju veću dodirnu površinu i više mjesta za vezanje hidrofobnih aromatskih spojeva, pa mogu pridonijeti njihovu nakupljanju u sedimentu (Vane i sur., 2020). Važnu ulogu ima i organska tvar jer se hidrofobni spojevi lakše vežu uz organsku fazu sedimenta. Zadržavanju PAH-ova pridonosi vezanje uz huminske tvari i stabilnije sastavnice organskog ugljika, poput crnog ugljika prisutnog u sedimentu (Baran i sur., 2021; Ukalska-Jaruga i sur., 2019). Suprotno tome, negativna povezanost PAH-ova s udjelom pijeska i karbonata upućuje na slabije zadržavanje PAH-ova u sedimentu s višim udjelom pijeska i karbonatne komponente.

Analize PLS i RDA poduprle su nalaze Spearmanove korelacijske analize. Prva komponenta PLS analize bila je statistički značajna i objasnila je 98,2 % ukupne kovarijance. Ukupni model RDA analize također je bio statistički značajan. U objema analizama svi kvantificirani PAH-ovi bili su usmjereni prema prahu, glini i organskoj tvari, dok su pijesak, karbonati te parametri Mz i Md bili usmjereni suprotno (slika 124). Time se potvrđuje da su prah, glina i organska tvar u ovom skupu podataka značajke sedimenta najsnažnije povezane s raspodjelom PAH-ova.



Slika 124. Biplot prikaz redundancijske analize koji prikazuje odnos između PAH-ova, sastava sedimenta prema veličini zrna te udjela organske tvari i karbonata.

Iako su unutar skupine HMW PAH-ova u dagnjama utvrđene statistički značajne međusobne korelacije, Spearmanova analiza nije pokazala značajnu povezanost između PAH-ova u dagnjama i fizikalno-kemijskih značajki sedimenta. Multivarijatne analize RDA i PLS također nisu potvrdile značajnu povezanost između tih skupova podataka. To upućuje na to da se maseni udjeli PAH-ova u dagnjama ne mogu izravno objasniti značajkama sedimenta ni masenim udjelima PAH-ova u sedimentu. Njihova raspodjela ovisi i o bioraspoloživosti spojeva, fiziološkim procesima u školjkašima te dostupnosti PAH-ova u vodenom stupcu i suspendiranoj tvari (Baumard i sur., 1998; Meador i sur., 1995).

5.7. Odnos između metala i PAH-ova u sedimentu i školjkašima

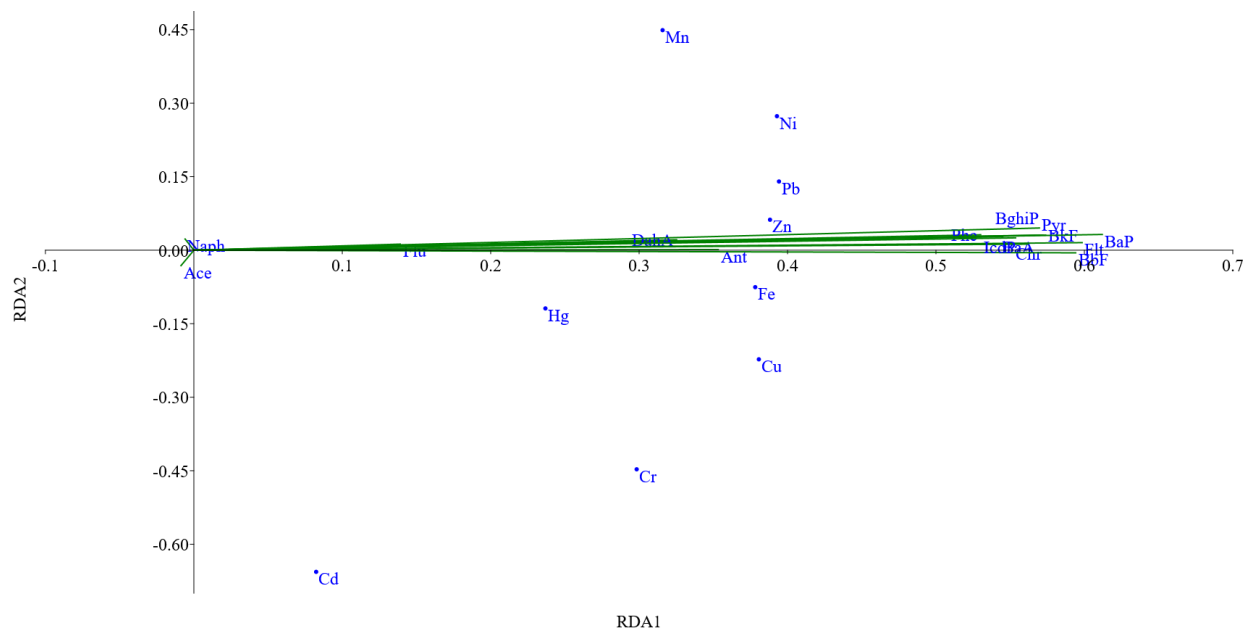
Odnosi između metala i PAH-ova u ovom istraživanju razlikovali su se između sedimenta i dagnji. U sedimentu su utvrđene statistički značajne pozitivne korelacije između metala i HMW PAH-ova, dok je povezanost LMW PAH-ova s metalima bila ograničena na Phe i Ant. U dagnjama je utvrđena samo jedna statistički značajna korelacija između PAH-ova i metala, i to između BbF i Mn. Takav nalaz pokazuje da sediment i tkivo dagnji ne odražavaju iste odnose između metala i

PAH-ova. U sedimentu na raspodjelu metala i PAH-ova ponajprije utječu taloženje i sorpcija te značajke sedimenta, osobito udio organske tvari i sastav prema veličini zrna, odnosno udjeli praha i gline. Na masene udjele u dagnjama utječu bioraspoloživost spojeva, unos iz otopljene faze te unos suspendirane tvari filtracijom. Pri filtraciji su važni dostupnost i sastav suspendiranog materijala, osobito fitoplanktona i organske tvari, jer se metali i PAH-ovi mogu unositi zajedno s tim materijalom (Luoma i Rainbow, 2008; Yakan i sur., 2017).

U sedimentu su statistički značajne korelacije između LMW PAH-ova i metala utvrđene za Phe i Ant. Spoj Phe bio je povezan s Fe, Mn, Zn, Cu, Pb, Ni i Hg, a spoj Ant s Fe, Zn, Cu, Pb i Ni. Spojevi Naph, Ace i Flu nisu pokazali statistički značajne korelacije ni s jednim analiziranim metalom. Takva raspodjela korelacija može se povezati s većom topljivošću i hlapljivošću LMW PAH-ova te njihovom slabijom sklonošću vezanju uz sediment u odnosu na HMW PAH-ove (Tobiszewski i Namieśnik, 2012; Yunker i sur., 2002). Izraženiju povezanost s metalima u sedimentu pokazali su HMW PAH-ovi. Spojevi Pyr i BaA bili su povezani s Fe, Mn, Zn, Cu, Pb, Ni i Hg, dok su Chr i BaP, uz navedene metale, bili povezani i s Cr. Spojevi BbF, BghiP, Flt i IcdP bili su povezani s Fe, Mn, Zn, Cu, Pb, Cr, Ni i Hg, a BkF s Fe, Mn, Zn, Cu, Pb, Ni i Hg. Spoj DahA izdvojio se povezanošću samo s Pb, dok Cd nije bio povezan ni s jednim analiziranim PAH-om. Takva raspodjela upućuje na to da se metali i HMW PAH-ovi u sedimentu nakupljaju u uzorcima bogatijima prahom, glinom i organskom tvari. To je u skladu s pozitivnim korelacijama PAH-ova s prahom, glinom i organskom tvari te s njihovim negativnim korelacijama s pijeskom i karbonatima. Metali se u takvim uzorcima mogu vezati na površine minerala gline, organsku tvar te okside i hidrokside Fe i Mn, dok se HMW PAH-ovi zbog veće hidrofobnosti lakše vežu uz organsku tvar i sediment s višim udjelom praha i gline (Eggleton i Thomas, 2004).

Multivarijatne analize potvrdile su rezultate Spearmanove korelacijske analize za sediment. Analiza PLS pokazala je da su HMW PAH-ovi i analizirani metali imali pozitivna opterećenja na prvoj komponenti, koja je obuhvatila 99,65 % ukupne kovarijance. Među LMW PAH-ovima Phe i Ant imali su umjerena pozitivna opterećenja, dok su Naph, Ace i Flu imali niska opterećenja. Analiza RDA pokazala je da metali objašnjavaju 57,35 % ukupne varijance PAH-ova u sedimentu, pri čemu su Pb, Ni i Zn imali najizraženiji doprinos na osi RDA1 (slika 125). Podudarnost rezultata Spearmanove korelacijske analize te PLS i RDA analiza upućuje na to da se metali i HMW PAH-ovi u sedimentu talože i zadržavaju na sličan način. Takva povezanost može nastati zbog

istodobnog unosa iz kopnenih, lučkih i urbanih izvora te izvora povezanih s izgaranjem, kao i zbog naknadnog vezanja metala i HMW PAH-ova uz organsku tvar, minerale gline te okside i hidrokside Fe i Mn u sedimentu (Birch i Olmos, 2008; Eggleton i Thomas, 2004).



Slika 125. Prikaz RDA analize odnosa između metala i PAH-ova u sedimentu.

U dagnjama je odnos između metala i PAH-ova bio znatno slabiji nego u sedimentu. Iako je ukupni model RDA analize za dagnje bio statistički značajan, prve dvije osi objasnile su male udjele ukupne varijance PAH-ova: prva os 15,60 %, a druga dodatnih 8,01 %. Analiza PLS nije potvrdila statistički značajnu povezanost između metala i PAH-ova u dagnjama jer nijedna komponenta nije bila statistički značajna. Stoga rezultati Spearmanove korelacijske analize te RDA i PLS analiza pokazuju da je povezanost metala i PAH-ova u dagnjama slabija nego u sedimentu.

Razlika između sedimenta i dagnji može se objasniti procesima koji određuju raspodjelu i zadržavanje onečišćujućih tvari u sedimentu i organizmu. U dagnjama se nakon unosa odvijaju fiziološki i biokemijski procesi koji mijenjaju odnose između metala i PAH-ova. Metali se mogu vezati na MT-e, osobito Cd, Cu, Ni i Zn, što utječe na njihovo zadržavanje i detoksikaciju u tkivima dagnji (Luoma i Rainbow, 2008; Mourgaud i sur., 2002). Policiklički aromatski ugljikovodici mogu prolaziti metaboličku pretvorbu djelovanjem enzima faze I i II. Enzimi faze I sudjeluju u oksidaciji PAH-ova, pri čemu nastaju reaktivniji metaboliti, a enzimi faze II u njihovoj konjugaciji,

čime se olakšava uklanjanje iz organizma (Trisciani i sur., 2012). Zbog toga istodobna prisutnost metala i PAH-ova u okolišu ne mora dovesti do njihove statistički značajne povezanosti u tkivu dagnji.

5.8. *Određivanje porijekla PAH-ova u sedimentu primjenom dijagnostičkih omjera*

Dijagnostički omjeri PAH-ova u površinskim sedimentima upućuju na dominantnu zastupljenost pirogenih pokazatelja, uz prisutnost petrogenog doprinosa. Pirogeno podrijetlo obuhvaća PAH-ove nastale nepotpunim izgaranjem nafte, naftnih derivata, ugljena i biomase, dok petrogeno podrijetlo obuhvaća PAH-ove iz sirove nafte i naftnih derivata, a može biti povezano i s prirodnim dijagenetskim procesima u sedimentu (Tobiszewski i Namieśnik, 2012; Yunker i sur., 2002). Omjeri $\text{Flt}/(\text{Flt}+\text{Pyr})$, $\text{BaA}/(\text{BaA}+\text{Chr})$, $\text{IcdP}/(\text{IcdP}+\text{BghiP})$, $\text{Ant}/(\text{Ant}+\text{Phe})$, Phe/Ant i $\Sigma\text{LMW}/\Sigma\text{HMW}$ korišteni su kao pokazatelji izvora PAH-ova. Omjeri $\text{Flt}/(\text{Flt}+\text{Pyr}) > 0,5$, $\text{BaA}/(\text{BaA}+\text{Chr}) > 0,35$, $\text{IcdP}/(\text{IcdP}+\text{BghiP}) > 0,5$, $\text{Ant}/(\text{Ant}+\text{Phe}) > 0,1$, $\text{Phe}/\text{Ant} < 10$ i $\Sigma\text{LMW}/\Sigma\text{HMW} < 1$ upućuju na pirogeni doprinos, dok omjeri koji odstupaju od tih pirogenih kriterija upućuju na petrogeni doprinos ili mješovite izvore (Budzinski i sur., 1997; Tobiszewski i Namieśnik, 2012; Yunker i sur., 2002). Rasponi svih dijagnostičkih omjera obuhvaćaju područja karakteristična za oba tipa izvora, što potvrđuje mješovito podrijetlo PAH-ova. Dijagnostički omjeri interpretirani su kao pokazatelji podrijetla PAH-ova, a ne kao jednoznačan dokaz izvora, jer na njih mogu utjecati razlike u podložnosti pojedinih PAH-ova razgradnji, prijenosu, vezanju za organsku tvar i čestice te taloženju u sedimentu (Yunker i sur., 2002; Tobiszewski i Namieśnik, 2012).

U Malostonskom zaljevu dijagnostički omjeri upućuju na izraženiji pirogeni signal na postajama Bistrina, Banja i Kanal Usko, što je u skladu s višim prosječnim pirogenim udjelima na tim postajama, osobito na postaji Bistrina. Sedimente tih postaja obilježavaju viši udjeli praškaste frakcije i organske tvari, što pogoduje zadržavanju HMW PAH-ova u sedimentu jer se oni zbog hidrofobnih svojstava vežu uz organsku tvar i čestice sedimenta. Na postaji Mali Ston viši omjeri Phe/Ant i $\Sigma\text{LMW}/\Sigma\text{HMW}$ u odnosu na ostale postaje Malostonskog zaljeva upućuju na lokalno izraženiji petrogeni doprinos, ali ne isključuju pirogeni izvor. Takva raspodjela može se povezati s većom heterogenošću sedimenta prema veličini zrna na toj postaji.

U području ušća rijeke Neretve dijagnostički omjeri također upućuju na mješovito podrijetlo PAH-ova. Na postaji Ploče utvrđen je najniži prosječni pirogeni udio među postajama ušća rijeke Neretve, što upućuje na relativno izraženiji petrogeni doprinos u odnosu na postaje Blace i Škoj. Takva raspodjela može se povezati s položajem postaje Ploče u području izraženijeg antropogenog utjecaja, osobito pomorskog prometa i lučkih aktivnosti, koji mogu pridonijeti unosu naftnih derivata i goriva u sediment. Na postajama Blace i Škoj viši udio pirogenih pokazatelja upućuje na izraženiji doprinos PAH-ova nastalih izgaranjem fosilnih goriva i biomase. S obzirom na estuarijsko obilježje područja, riječni unos suspendiranih čestica i njihovo taloženje također mogu pridonijeti akumulaciji PAH-ova u sedimentu.

Prostorne razlike između istraživanih područja potvrđene su PERMANOVA analizom. Rezultati SIMPER analize pokazuju da najveći doprinos tim razlikama imaju omjeri $\text{Ant}/(\text{Ant}+\text{Phe})$, $\text{BaA}/(\text{BaA}+\text{Chr})$ i $\text{Flt}/(\text{Flt}+\text{Pyr})$. U području ušća rijeke Neretve viši omjeri $\text{Ant}/(\text{Ant}+\text{Phe})$ i $\text{BaA}/(\text{BaA}+\text{Chr})$ upućuju na izraženije pirogeno podrijetlo PAH-ova, dok viši omjer $\Sigma\text{LMW}/\Sigma\text{HMW}$ upućuje na prisutnost petrogenog doprinosa. U Malostonskom zaljevu viši omjeri $\text{Flt}/(\text{Flt}+\text{Pyr})$ i $\text{IcdP}/(\text{IcdP}+\text{BghiP})$ potvrđuju pirogeno podrijetlo, dok viši omjeri Phe/Ant i $\Sigma\text{LMW}/\Sigma\text{HMW}$ upućuju na prisutnost petrogenih pokazatelja. Navedeni rezultati pokazuju da prostorne razlike proizlaze iz različite zastupljenosti pirogenih i petrogenih pokazatelja među područjima i postajama.

Sezonske promjene dijagnostičkih omjera PAH-ova upućuju na promjenjivost tijekom godine bez jasno izraženog sezonskog obrasca. Statistička obrada metodom PERMANOVA pokazala je statistički značajne razlike između ljetnog i jesenskog razdoblja, a SIMPER analiza izdvojila je omjere $\text{BaA}/(\text{BaA}+\text{Chr})$, $\text{IcdP}/(\text{IcdP}+\text{BghiP})$ i $\text{Flt}/(\text{Flt}+\text{Pyr})$ kao glavne doprinositelje tim razlikama. U oba područja tijekom cijele godine prevladavaju pirogeni pokazatelji, uz lokalno i sezonski promjenjiv petrogeni doprinos.

U Malostonskom zaljevu tijekom godine izraženije se mijenja odnos pirogenih i petrogenih pokazatelja. U zimskom razdoblju viši omjeri Phe/Ant i $\Sigma\text{LMW}/\Sigma\text{HMW}$ upućuju na izraženiji petrogeni doprinos, dok u ljetnom razdoblju na takav doprinos ponajprije upućuje omjer Phe/Ant . Takva raspodjela može se povezati s lokalnim antropogenim aktivnostima, uključujući pomorski promet, ali i s manjom izmjenom vodenih masa u zatvorenijim dijelovima zaljeva, što može pogodovati duljem zadržavanju PAH-ova u sedimentu. U proljetnom razdoblju viši omjeri

Ant/(Ant+Phe), Phe/Ant i Σ LMW/ Σ HMW upućuju na istodobnu prisutnost pirogenih i petrogenih izvora. To se može povezati s pojačanim unosom suspendiranog materijala, resuspenzijom sedimenta i promjenama u vezanju PAH-ova za čestice sitnozrnate frakcije i organsku tvar. U jesenskom razdoblju viši omjeri BaA/(BaA+Chr) i IcdP/(IcdP+BghiP) upućuju na izraženiji pirogeni doprinos, što je u skladu s mogućim većim utjecajem atmosferskog taloženja PAH-ova nastalih izgaranjem fosilnih goriva i biomase. Sezonske promjene u Malostonskom zaljevu stoga ne upućuju na jedinstven izvor PAH-ova, nego na izmjenu pirogenih i petrogenih doprinosa, pri čemu se petrogeni doprinos jače očituje na postaji Mali Ston, a pirogeni doprinos na postajama Bistrina, Banja i Kanal Usko.

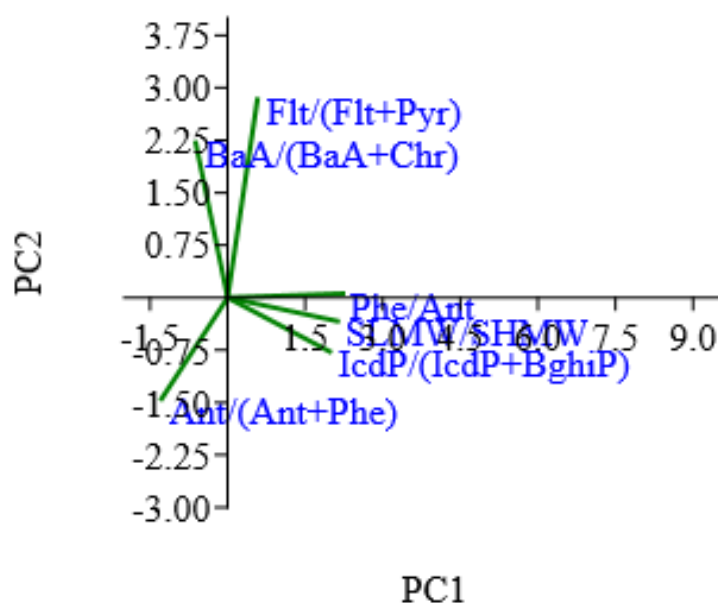
U području ušća rijeke Neretve sezonska raspodjela dijagnostičkih omjera također upućuje na mješovito podrijetlo PAH-ova, ali s ujednačenijom zastupljenošću pirogenih pokazatelja tijekom godine u odnosu na Malostonski zaljev. U zimskom razdoblju viši omjeri Ant/(Ant+Phe) i BaA/(BaA+Chr) upućuju na povećan pirogeni doprinos, što se može povezati s emisijama PAH-ova nastalih izgaranjem goriva za grijanje i prometom, uz riječni unos PAH-ova vezanih uz suspendirane čestice. U proljetnom i ljetnom razdoblju viši omjeri BaA/(BaA+Chr), IcdP/(IcdP+BghiP) i Flt/(Flt+Pyr) upućuju na povišen udio pirogenih PAH-ova, što se može povezati s riječnim donosom sitnozrnatog suspendiranog materijala, na koji se PAH-ovi vežu te s atmosferskim taloženjem produkata izgaranja. Petrogeni doprinos u području ušća rijeke Neretve nije jednako izražen u svim sezonama. Sezonski srednji omjeri Σ LMW/ Σ HMW manji su od 1, što upućuje na prevlast HMW PAH-ova, dok viši omjeri Phe/Ant pokazuju petrogeni doprinos u proljetnom i ljetnom razdoblju. Taj doprinos najizraženiji je na postaji Ploče. Na postajama Blace i Škoj veći udio pirogenih pokazatelja upućuje na izraženiji doprinos PAH-ova nastalih izgaranjem fosilnih goriva i biomase.

5.9. *Određivanje porijekla PAH-ova primjenom PCA analize*

Rezultati PCA analize dijagnostičkih omjera PAH-ova u površinskim sedimentima pokazuju da je prema modelu slomljene palice za daljnju interpretaciju zadržana samo komponenta PC1 (slika 97). Komponenta PC1 opisuje razlike u dijagnostičkim omjerima PAH-ova između analiziranih uzoraka. Pozitivna opterećenja omjera Phe/Ant i Σ LMW/ Σ HMW, uz negativna opterećenja omjera Ant/(Ant + Phe), BaA/(BaA + Chr) i Flt/(Flt + Pyr), upućuju na doprinos petrogenih izvora PAH-ova, odnosno na prisutnost nafte i naftnih derivate (slika 126). Istodobno, pozitivno opterećenje

omjera $IcdP/(IcdP + BghiP)$ upućuje na prisutnost PAH-ova nastalih procesima izgaranja (slika 126). Dobiveni rezultati stoga ukazuju na mješovito podrijetlo PAH-ova u sedimentu, uz doprinos petrogenih i pirogenih izvora (Saraga i sur., 2024; Yunker i sur., 2002).

Pirogeni PAH-ovi najčešće su povezani s česticama nastalima izgaranjem, osobito s česticama bogatim čađom, što pridonosi njihovom prijenosu kroz vodeni stupac, taloženju i zadržavanju u sedimentu. Petrogeni PAH-ovi potječu iz nafte i naftnih derivata te mogu dospjeti u morski okoliš izlivanjem nafte, pomorskim prometom i drugim antropogenim aktivnostima. Petrogeni PAH-ovi općenito su biorasploživiji od pirogenih PAH-ova, jer vezanje pirogenih PAH-ova uz čestice bogate čađom može smanjiti njihovu biorasploživost i pridonijeti njihovom duljem zadržavanju u sedimentu (Thorsen i sur., 2004; Yunker i sur., 2002).



Slika 126. Biplot analize glavnih komponenti koji prikazuje međusobne odnose dijagnostičkih omjera PAH-ova u površinskom sedimentu iz područja ušća rijeke Neretve i Malostonskog zaljeva (PC1 – PC2).

5.10. Procjena ekotoksikološkog rizika

Procjena ekotoksikološkog rizika u ovom istraživanju temeljila se na usporedbi izmjerenih masenih udjela onečišćujućih tvari s relevantnim referentnim i zakonskim pragovima definiranim u važećem zakonodavstvu i međunarodnim smjernicama. Takav pristup omogućuje procjenu potencijalnog utjecaja onečišćujućih tvari na sigurnost hrane te na ekološko stanje morskog

okoliša. U slučaju školjkaša procjena je provedena u odnosu na najviše dopuštene vrijednosti propisane zakonodavstvom EU, dok je za sedimente procjena temeljena na ekotoksikološkim pragovima koji definiraju razine pri kojima su biološki učinci rijetki, mogući ili vjerojatni. Usporedbom izmjerenih vrijednosti s navedenim pragovima omogućena je interpretacija stupnja onečišćenja te klasifikacija potencijalnog ekotoksikološkog rizika istraživanog područja.

5.10.1. Metali u školjkašima

Dobiveni rezultati pokazuju da je odstupanje od pozadinske razine bilo najčešće za Hg (59,52 % uzoraka), zatim za Cd (45,24 % uzoraka), a najrjeđe za Pb (9,52 % uzoraka). Budući da kriterij BAC ne označava prag štetnih bioloških učinaka, takvo odstupanje treba tumačiti kao pokazatelj opterećenja iznad pozadinske razine, a ne kao dokaz štetnoga učinka na dagnje. Izvori Hg, Cd i Pb mogu biti povezani s prirodnim geokemijskim značajkama područja te s antropogenim unosima iz naselja uz obalu, lučkih aktivnosti, prometa, oborinskoga otjecanja i resuspenzije sedimenta (ICES, 2023; OSPAR, 2009, 2023).

Udio uzoraka s masenim udjelima jednakima ili višima od kriterija BAC bio je viši u Malostonskom zaljevu nego u području ušća rijeke Neretve za sva tri analizirana metala. Takav odnos može se povezati s hidrodinamičkim i sedimentološkim značajkama Malostonskog zaljeva. Slabija izmjena vodenih masa, dulje zadržavanje vode i sitnozrnati sediment bogat organskom tvari pogoduju zadržavanju čestica na koje se metali vežu. Budući da se dagnje hrane filtracijom vode, dulje zadržavanje tih čestica može povećati dostupnost metala za unos u meko tkivo. U području ušća rijeke Neretve niži udio takvih uzoraka može se povezati s dotokom slatke vode, miješanjem vodenog stupca i prijenosom suspendirane tvari prema otvorenijem moru. Takvi uvjeti mogu skratiti vrijeme zadržavanja čestica u području dostupnom dagnjama te smanjiti zadržavanje metala u sedimentu i njihov unos u školjkaše (Eggleton i Thomas, 2004).

Maseni udjeli jednaki ili viši od kriterija BAC za Cd i Hg zabilježeni su na svim istraživanim postajama, dok su za Pb utvrđeni na postajama Ploče, Kanal Usko, Bistrina i Mali Ston. Razlike među metalima mogu se povezati s njihovim ponašanjem u morskom okolišu. Zbog veće pokretljivosti Cd se u manjoj mjeri zadržava u sedimentu nego Pb i Hg te može biti dostupniji dagnjama tijekom filtracije vode. Olovo se izraženije veže na čestice i sediment, pa se njegovi viši maseni udjeli u bioti češće povezuju s lokalnim izvorima unosa, uključujući lučke aktivnosti,

promet i oborinsko otjecanje. Metali isprani s prometnica, parkirališta i lučkih površina mogu se unositi u obalno more, vezati na suspendirane čestice i taložiti u sedimentu. Živa se također veže na organsku tvar, sitnozrnate čestice i sediment, a pri promjeni okolišnih uvjeta može dospjeti iz sedimenta u vodeni stupac i postati dostupna dagnjama (Miranda i sur., 2021; OSPAR, 2023; Spence i sur., 2023).

Sezonske razlike pokazuju da su maseni udjeli metala u dagnjama povezani s okolišnim i biološkim čimbenicima. Udio uzoraka s masenim udjelima jednakima ili višima od kriterija BAC bio je najviši zimi za Hg i Cd. Takva sezonska raspodjela može se povezati s intenzivnijim miješanjem vodenog stupca i ponovnim dospijevanjem sitnozrnate frakcije sedimenta u vodeni stupac, što može povećati dostupnost metala vezanih uz sitne čestice. Tijekom proljeća i ljeta niži maseni udjeli metala u tkivu mogu biti posljedica bržega rasta, promjena indeksa kondicije i reproduktivne aktivnosti školjkaša. U takvim uvjetima povećanje mase mekog tkiva može dovesti do biološkog razrjeđenja metala, odnosno do nižih masenih udjela u tkivu iako je unos metala i dalje moguć (Gómez-Delgado i sur., 2022).

Usporedba s drugim područjima Jadranskog i Sredozemnog mora pokazuje da se rezultati ovog istraživanja uklapaju u raspone zabilježene u obalnim područjima s niskim i umjerenim antropogenim opterećenjem. Ranija istraživanja u Malostonskom zaljevu i drugim dijelovima istočne obale Jadrana također su pokazala niske i umjerene masene udjele Cd, Pb i Hg u dagnjama, što potvrđuje prisutnost tih metala u obalnom okolišu, ali ne upućuje na visoko opterećenje istraživanih područja (Bilandžić i sur., 2010; Kljaković-Gašpić i sur., 2007). U usporedbi s antropogeno opterećenijim područjima Sredozemlja, u kojima su u dagnjama zabilježeni viši maseni udjeli metala, rezultati ovog istraživanja pokazuju odstupanje Hg, Cd i Pb od pozadinske razine u dijelu uzoraka, ali ne upućuju na onečišćenje usporedivo s opterećenijim sredozemnim područjima (Spada i sur., 2013; Stanković i sur., 2011).

5.10.2. Metali u sedimentu

Usporedba masenih udjela metala u sedimentima s donjim pragovima učinka (TEL i ERL) i gornjim pragovima učinka (PEL i ERM) pokazuje da su Cr i Ni metali s najizraženijim prekoračenjima donjih pragova učinka u istraživanim uzorcima. Prekoračenja TEL i ERL pragova za Cr i Ni upućuju na povećanu mogućnost pojave štetnih bioloških učinaka, osobito u uzorcima u

kojima su maseni udjeli prelazili ERL prag. Prekoračenje ERL praga za Cu utvrđeno je samo u jednom uzorku, dok za Zn, Pb, Cd i Hg nisu zabilježena prekoračenja ERL praga. Prekoračenja gornjih pragova učinka, odnosno PEL i ERM pragova, utvrđena su isključivo za Ni, što upućuje na to da se upravo ovaj metal izdvaja kao najvažniji pokazatelj potencijalnog ekotoksikološkog rizika u istraživanim sedimentima (Long i sur., 1995; MacDonald i sur., 1996).

U Malostonskom zaljevu utvrđena je veća učestalost prekoračenja TEL i ERL pragova za Cr i Ni u odnosu na područje ušća rijeke Neretve, što se može povezati s hidrodinamičkim i sedimentološkim obilježjima istraživanih područja. Slabija izmjena vode, izraženije taloženje sitnozrnatog materijala i dulje zadržavanje suspendiranih čestica mogu pridonijeti akumulaciji metala u sedimentu. Na postajama Kanal Usko, Banja i Bistrina zabilježena su učestala prekoračenja TEL i ERL pragova za Cr i Ni te PEL i ERM pragova za Ni, dok su na postaji Mali Ston prekoračenja bila manje učestala. U području ušća rijeke Neretve prekoračenja TEL i ERL pragova za Cr i Ni također su utvrđena na svim postajama, ali su prekoračenja PEL praga za Ni bila rjeđa, a prekoračenja ERM praga zabilježena su samo na postaji Škoj.

Za Cu, Zn, Pb i Hg prekoračenja su bila znatno rjeđa, a uglavnom su zabilježena samo za TEL prag. Prekoračenja TEL praga za Cu utvrđena su na postajama Kanal Usko i Banja te na svim postajama u području ušća rijeke Neretve, pri čemu je prekoračenje ERL praga za Cu zabilježeno samo u jednom uzorku, na postaji Ploče. Za Zn je prekoračenje TEL praga utvrđeno samo na postaji Kanal Usko, za Pb na postajama Kanal Usko i Bistrina, a za Hg na postaji Blace. Za Cd nisu utvrđena prekoračenja nijednog praga učinka. Dobiveni rezultati usporedivi su s istraživanjima obalnih i estuarijskih sedimenata Sredozemlja i Jadrana, prema kojima su povišeni maseni udjeli Cr-a i Ni-a često povezani s geokemijskim sastavom izvorišnog materijala, sitnozrnatim sedimentima i lokalnim hidrodinamičkim uvjetima, uz mogući doprinos lokalnih antropogenih izvora (Birch i Olmos, 2008; El Zrelli i sur., 2015; Spagnoli i sur., 2021; Stanković i Jović, 2011; Thabet i sur., 2024).

Sezonska raspodjela pokazuje da su prekoračenja TEL praga za Cr, Cu i Ni utvrđena tijekom svih sezona, dok su prekoračenja ERL praga za Cr i Ni također zabilježena tijekom cijelog istraživanog razdoblja. Prekoračenje ERL praga za Cu utvrđeno je samo u proljetnom razdoblju. Za Zn su prekoračenja TEL praga zabilježena samo u proljeće, za Pb u proljeće i jesen, a za Hg tijekom ljeta. Prekoračenja PEL i ERM pragova bila su vezana isključivo uz Ni, pri čemu je najveća učestalost

prekoračenja PEL praga utvrđena u proljeće, a ERM praga u jesen. Budući da se prekoračenja za Cr i Ni javljaju tijekom svih sezona, rezultati upućuju na to da su maseni udjeli tih metala vjerojatnije povezani s dugoročnijim procesima taloženja, zadržavanja i akumulacije u sedimentu nego s kratkotrajnim sezonskim promjenama.

5.10.3. PAH-ovi u školjkašima

Usporedba masenih udjela PAH-ova u dagnjama s OSPAR-ovim kriterijima BAC i EAC pokazuje različit stupanj opterećenja PAH-ovima u istraživanim područjima. Prekoračenja kriterija BAC utvrđena su za Phe, Flt, Pyr, BaA, Chr, BaP, BghiP i IcdP, što pokazuje da su ti PAH-ovi u dagnjama bili prisutni iznad pozadinskih razina. Takav rezultat upućuje na antropogeni doprinos opterećenju PAH-ovima u oba istraživana područja. Za Flt, Pyr, BaA i BghiP utvrđena su i prekoračenja kriterija EAC, što pokazuje da su maseni udjeli tih spojeva dosegli razinu pri kojoj se, prema OSPAR-ovim kriterijima, ne može isključiti mogućnost kroničnih štetnih učinaka na morske organizme.

U Malostonskom zaljevu prekoračenja kriterija BAC utvrđena su na svim istraživanim postajama za sve PAH-ove za koje je taj kriterij dostupan. Postaje Bistrina i Kanal Usko izdvojile su se najčešćim prekoračenjima kriterija BAC, dok su prekoračenja kriterija EAC bila najizraženija na postaji Bistrina. Na postaji Mali Ston prekoračenja kriterija BAC i EAC zabilježena su u najmanjem broju uzoraka u odnosu na ostale postaje Malostonskog zaljeva, što upućuje na niže opterećenje PAH-ovima na toj postaji. U području ušća rijeke Neretve prekoračenja kriterija BAC također su utvrđena na svim postajama, ali su bila manje učestala nego u Malostonskom zaljevu. Na postajama Blace i Škoj prekoračenja su bila prisutna u većem broju uzoraka nego na postaji Ploče, što upućuje na izraženije nakupljanje PAH-ova u dagnjama na tim postajama. Prekoračenja kriterija EAC u području ušća rijeke Neretve utvrđena su na svim postajama za Flt, Pyr i BaA, dok su za BghiP zabilježena samo na postaji Škoj.

Prostorne razlike u prekoračenjima kriterija BAC i EAC mogu se povezati s lokalnim hidrodinamičkim uvjetima, koji utječu na zadržavanje suspendiranih čestica i dostupnost PAH-ova dagnjama tijekom filtracije vode. U područjima sa slabijom izmjenom vode i duljim zadržavanjem čestica povećava se mogućnost unosa PAH-ova vezanih na organsku tvar. To je osobito važno za HMW PAH-ove, poput Flt i Pyr, koji se zbog izraženije hidrofobnosti jače vežu na čestice i

organsku tvar. Budući da su dagnje filtratorski organizmi, takav način vezanja može pridonijeti nakupljanju tih spojeva u tkivu školjkaša. Na ukupne masene udjele PAH-ova u dagnjama dodatno mogu utjecati brzina filtracije i fiziološko stanje jedinki (Hatzianestis i sur., 2020; Ranjbar Jafarabadi i sur., 2017; Vane i sur., 2020).

Sezonska raspodjela prekoračenja pokazuje da su kriteriji BAC za Phe, Flt, Pyr, BaA, Chr, BaP, BghiP i IcdP prekoračeni tijekom svih sezona, što upućuje na prisutnost PAH-ova iznad pozadinskih razina tijekom cijeloga istraživanog razdoblja. Prekoračenja kriterija EAC za Flt, Pyr, BaA i BghiP zabilježena su u svim sezonama, što dodatno upućuje na mogući ekološki rizik povezan s tim PAH-ovima tijekom istraživanog razdoblja.

5.10.4. PAH-ovi u sedimentu

Usporedba masenih udjela PAH-ova u sedimentima s ekotoksikološkim pragovima pokazuje da su sedimenti Malostonskog zaljeva i područja ušća rijeke Neretve pod antropogenim utjecajem, ali bez dosezanja razina povezanih s učestalom pojavom štetnih učinaka na bentičke organizme. Prekoračenja BAC pragova utvrđena su za Naph, Phe, Ant, Flt, Pyr, BaA, Chr, BaP i IcdP u oba istraživana područja, što potvrđuje odstupanje od pozadinskog stanja. Prekoračenje BAC praga za BghiP zabilježeno je samo u području ušća rijeke Neretve. Budući da BAC pragovi služe za procjenu odstupanja od pozadinskih razina, njihovo prekoračenje potvrđuje antropogeni doprinos, ali ne znači nužno prisutnost ekotoksikološkog rizika. Nasuprot tome, izostanak prekoračenja PEL i ERM pragova pokazuje da maseni udjeli PAH-ova nisu dosegli razine pri kojima se očekuje učestala pojava štetnih bioloških učinaka (CCME, 2002; Long i sur., 1995; OSPAR Commission, 2023; Webster i Fryer, 2022).

Prostorna raspodjela prekoračenja BAC pragova pokazuje jače opterećenje sedimenta u Malostonskom zaljevu nego u području ušća rijeke Neretve, osobito za HMW PAH-ove, uključujući Flt, Pyr, BaA, Chr i BaP. Takav rezultat proizlazi iz razlika u sastavu sedimenta prema veličini zrna, udjelu organske tvari i hidrodinamičkim uvjetima. Policiklički aromatski ugljikovodici su hidrofobni organski spojevi, a njihova sklonost vezanju na suspendirane čestice, prah, glinu i organsku tvar raste s porastom molekulske mase. Zbog toga se HMW PAH-ovi u manjoj mjeri zadržavaju u otopljenom obliku u vodenom stupcu, a u većoj se mjeri prenose prema sedimentu zajedno sa sitnim česticama i organskom tvari. Sedimenti bogatiji prahom, glinom i

organskom tvari imaju veću sposobnost vezanja i zadržavanja PAH-ova, dok pješčani sedimenti slabije zadržavaju hidrofobne organske spojeve (Baran i sur., 2021; Eldos i sur., 2022; Lloyd i sur., 2024).

Malostonski zaljev, kao zatvoreniji sustav s povoljnijim uvjetima taloženja sitnih čestica, omogućuje nakupljanje PAH-ova u sedimentu jer se ti spojevi vežu na sitne čestice i organsku tvar. Unutar zaljeva postaja Bistrina izdvojila se najvećim brojem prekoračenja BAC pragova za HMW PAH-ove, što pokazuje da su na toj postaji najizraženiji uvjeti za taloženje i zadržavanje čestica bogatih organskom tvari i hidrofobnim organskim spojevima. Takav raspored upućuje i na lokalni unos PAH-ova povezan s obalnim aktivnostima, prometom plovila, izgaranjem goriva i donosom čestica iz okolnog područja. Kao glavne putove unosa PAH-ova u morski okoliš OSPAR navodi atmosfersko taloženje, oborinsko ispiranje s kopna, industrijske ispuste i izlivanja nafte, dok istraživanja obalnih sustava potvrđuju da organski ugljik, sitne čestice i resuspenzija određuju raspodjelu PAH-ova u sedimentu (Lloyd i sur., 2024; OSPAR Commission, 2023; Webster i Fryer, 2022). Nasuprot Bistrini, postaja Mali Ston imala je rjeđa prekoračenja BAC pragova, što pokazuje slabije nakupljanje PAH-ova u sedimentu u tom dijelu zaljeva.

U području ušća rijeke Neretve prekoračenja BAC pragova bila su rjeđa i prostorno neujednačena. Postaje Blace i Škoj izdvojile su se većim brojem prekoračenja od postaje Ploče, što pokazuje da raspodjela PAH-ova ovisi o lokalnom taloženju suspendiranog materijala i položaju postaje u odnosu na izvore PAH-ova i donos čestica na koje se ti spojevi vežu. Ušće rijeke Neretve obilježeno je jačom hidrodinamikom i višim udjelom pijeska, pa se PAH-ovi slabije zadržavaju u sedimentu i lakše raspršuju unutar sustava. Zato manji broj prekoračenja u ovom području ne znači izostanak unosa PAH-ova, nego slabiju sposobnost sedimenta da ih veže i dugotrajnije zadrži. Takav obrazac odgovara nalazima za obalne i estuarijske sustave u kojima sastav sedimenta prema veličini zrna, organska tvar, resuspenzija i hidrodinamika određuju prostornu raspodjelu PAH-ova u sedimentu (Grmasha i sur., 2024; Lloyd i sur., 2024).

Prekoračenja TEL pragova potvrđuju da se povećana izloženost PAH-ovima pojavljuje lokalno. U oba područja utvrđena su TEL prekoračenja za Ace, Phe, Flt, Pyr, BaA i DahA, dok je BaP prekoračio TEL prag samo u Malostonskom zaljevu. U Malostonskom zaljevu TEL prekoračenja bila su najizraženija za DahA i Flt, osobito na postaji Bistrina. U području ušća rijeke Neretve TEL prekoračenja bila su najizraženija na postaji Škoj, gdje su utvrđena za Ace, Phe, Flt, Pyr, BaA i

DahA. Na postaji Blace prekoračenja su utvrđena za Ace i DahA, a na postaji Ploče samo za DahA. Takva raspodjela upućuje na lokalne razlike u taloženju sitnog suspendiranog materijala i organske tvari, jer se na takve čestice PAH-ovi vežu i zajedno s njima prelaze u površinski sediment.

Prekoračenja ERL pragova utvrđena su samo za Ace, BaA i DahA. U Malostonskom zaljevu zabilježena su za Ace na postaji Banja i za DahA na postaji Mali Ston, dok su u području ušća rijeke Neretve utvrđena za Ace na postajama Blace i Škoj te za BaA i DahA na postaji Škoj. Budući da ERL prag označava razinu iznad koje se kod bentičkih organizama mogu pojaviti štetni učinci, utvrđena prekoračenja upućuju na lokalno povišen ekološki rizik, ali ne i na opterećenje koje zahvaća cijelo istraživano područje. Izostanak prekoračenja PEL i ERM pragova dodatno potvrđuje da maseni udjeli PAH-ova nisu dosegli razine povezane s čestom pojavom štetnih učinaka (Long i sur., 1995; OSPAR Commission, 2023; Webster i Fryer, 2022).

Sezonska raspodjela prekoračenja pokazuje da su PAH-ovi prisutni u sedimentu tijekom cijele godine. Za Phe, Ant, Flt, Pyr, BaA, Chr i BaP BAC pragovi bili su prekoračeni u svim sezonama, što upućuje na trajan unos i zadržavanje tih spojeva u površinskom sedimentu. Najizraženija prekoračenja utvrđena su za Pyr, Flt i BaA, osobito u proljetnom i ljetnom razdoblju. Navedeni spojevi imaju izraženu sklonost vezanju na suspendirane čestice i organsku tvar, pa se njihov prijenos prema sedimentu pojačava kada su koncentracije suspendiranog materijala i udio organske tvari viši. Nakon taloženja sitnih čestica, PAH-ovi se zadržavaju u površinskom sedimentu, osobito na postajama na kojima hidrodinamički uvjeti pogoduju taloženju, a ne ponovnom podizanju čestica u vodeni stupac. Takav proces objašnjava češća prekoračenja BAC pragova u proljetnom i ljetnom razdoblju (Baran i sur., 2021; Grmasha i sur., 2024; Lloyd i sur., 2024).

Za razliku od Phe, Ant, Flt, Pyr, BaA, Chr i BaP, koji su prelazili BAC prag tijekom svih sezona, Naph je prelazio BAC prag zimi, u proljeće i ljeti, IcdP u proljeće i ljeti, a BghiP samo ljeti. Takav obrazac povezan je s razlikama u njihovim fizikalno-kemijskim svojstvima. Naftalen pripada LMW PAH-ovima, pa je topljiviji, hlapljiviji i slabije vezan za čestice sedimenta. Zbog toga se slabije zadržava u sedimentu, što može objasniti izostanak prekoračenja BAC praga u jesenskom razdoblju. Nasuprot tome, IcdP i BghiP pripadaju HMW PAH-ovima, koji imaju nižu topljivost, veću hidrofobnost i jaču sklonost vezanju na organsku tvar i čestice sedimenta. Njihova prekoračenja zato ovise o sezonama u kojima su izraženiji donos suspendiranog materijala i taloženje čestica na koje su PAH-ovi vezani. Prekoračenja za IcdP utvrđena su u proljeće i ljeto, a

za BghiP samo ljeti, što pokazuje da se ti spojevi u sedimentu pojavljuju iznad BAC praga kada sezonski uvjeti pogoduju njihovom prijenosu iz vodenog stupca i zadržavanju u površinskom sedimentu (Castillo-Ilabaca i sur., 2024; Eldos i sur., 2022; Grmasha i sur., 2024).

Sezonska raspodjela pokazuje da su prekoračenja TEL i ERL pragova bila najizraženija ljeti. Prekoračenja TEL pragova za Ace, Flt i DahA utvrđena su tijekom svih sezona, što upućuje na njihovo zadržavanje u sedimentu tijekom cijele godine. Među njima se izdvojio DahA, čija uzastopna prekoračenja upućuju na sporije uklanjanje iz površinskog sedimenta. Prekoračenja TEL pragova za Phe i Pyr zabilježena su ljeti i u jesen, dok su za BaA i BaP utvrđena samo ljeti. Prekoračenja ERL pragova za Ace zabilježena su tijekom svih sezona, dok su za BaA i DahA utvrđena samo ljeti. Takav sezonski obrazac pokazuje da se najizraženija prekoračenja ne mogu objasniti samo unosom PAH-ova, nego i uvjetima koji pogoduju njihovu zadržavanju u površinskom sedimentu. Ljeti viši udio organske tvari i viša koncentracija suspendiranog materijala mogu povećati vezanje hidrofobnih PAH-ova na čestice. Njihovim taloženjem rastu maseni udjeli PAH-ova u sedimentu, osobito HMW PAH-ova, pa se upravo u tom razdoblju pojavljuju i prekoračenja TEL i ERL pragova za BaA, BaP i DahA.

5.11. Stupanj onečišćenja sedimenta PAH-ovima

Prosječni maseni udjeli PAH-ova u sedimentu pokazuju da se sediment na području ušća rijeke Neretve i Malostonskog zaljeva, prema kriterijima navedenima u poglavlju 3.11., može svrstati u nisko do umjereno onečišćen sediment. Na postajama je prosječni maseni udio $\Sigma 15\text{PAH}$ pripadao klasi I na postaji Ploče, dok su prosječni maseni udjeli na postajama Blace, Škoj, Kanal Usko, Banja, Bistrina i Mali Ston pripadali klasi II, odnosno umjerenom stupnju onečišćenja. Po sezonama je prosječni maseni udio za jesensko razdoblje na području ušća rijeke Neretve pripadao klasi I, dok su prosječni maseni udjeli za preostale sezone i područja pripadali klasi II.

Pojedinačni izmjereni maseni udjeli $\Sigma 15\text{PAH}$ koji odgovaraju klasi III, odnosno visokom stupnju onečišćenja, utvrđeni su na postaji Škoj tijekom ljeta, na postaji Mali Ston tijekom ljeta i na postaji Bistrina tijekom jeseni. Ti su maseni udjeli bili viši od 1000 $\mu\text{g/kg}$ suhe mase, ali niži od 5000 $\mu\text{g/kg}$ suhe mase, pa se mogu tumačiti kao povremena lokalna povećanja onečišćenja PAH-ovima, a ne kao opće stanje sedimenta na istraživanim područjima.

Razlike u masenim udjelima PAH-ova u sedimentu istraživanih područja mogu se povezati sa sastavom sedimenta prema veličini zrna, udjelima organske tvari i karbonata te hidrodinamičkim uvjetima koji određuju donos i taloženje suspendirane tvari. Zbog hidrofobnih svojstava PAH-ovi se u vodenom stupcu vežu uz suspendiranu tvar, a njihovo je nakupljanje izraženije u sedimentu s višim udjelom praha, gline i organske tvari (Marini i Frapiccini, 2012; Wang i sur., 2017; Frapiccini i sur., 2024). Na postaji Škoj viši maseni udjeli PAH-ova mogu se povezati s taloženjem sitnozrnatog sedimenta dopremljenog riječnim tokovima. Nasuprot tome, niži prosječni maseni udio $\Sigma 15\text{PAH}$ na postaji Ploče može se povezati s višim udjelom pijeska, koji slabije zadržava hidrofobne organske spojeve. U Malostonskom zaljevu povišeni maseni udjeli na postaji Bistrina mogu se povezati s višim udjelom praha i organske tvari.

Pojedinačna povećanja masenih udjela PAH-ova tijekom ljeta mogu se povezati s pojačanim antropogenim aktivnostima, osobito pomorskim i cestovnim prometom tijekom turističke sezone (Mandić i sur., 2023). Povećanje utvrđeno tijekom jeseni na postaji Bistrina može se povezati s donosom suspendirane tvari nakon oborina i njezinim taloženjem u sediment (Zoboli i sur., 2024). Stoga se razlike u stupnju onečišćenja sedimenta PAH-ovima trebaju tumačiti u odnosu na prostorne i sezonske značajke istraživanih postaja.

5.12. Toksikološki profil i prostorno-vremenska raspodjela morskih biotoksina

Rezultati ovog istraživanja pokazali su da profil biotoksina u dagnjama iz južnog Jadrana obilježava česta pojavnost YTX-a te cikličkih imina, među kojima su najzastupljeniji bili GYM A i SPX 1. Uz navedene spojeve, u manjem broju uzoraka i pri nižim masenim udjelima u odnosu na GYM A i SPX 1 utvrđeni su PnTX G i 13-desmetil SPX D, kao i spoj koji odgovara izomeru GYM A. Ostale skupine lipofilnih toksina (OA/DTX, PTX i AZA), kao i hidrofilni toksini (PSP i DA), nisu utvrđene ni u jednom uzorku. Prisutnost YTX-a te najzastupljenijih cikličkih imina, GYM A i SPX 1, u skladu je s rezultatima istraživanja provedenih u Jadranskom i Sredozemnom moru (Hassoun i sur., 2020; Rambla-Alegre i sur., 2017). Toksini PnTX G i 13-desmetil SPX D prethodno su zabilježeni u školjkašima iz različitih obalnih sustava, uključujući norveška, francuska, tuniska, talijanska, katalonska i novozelandska područja (Finch i sur., 2024; García-Altare i sur., 2014; Hess i sur., 2013; Rambla-Alegre i sur., 2017; Rundberget i sur., 2011). Njihov nalaz u dagnjama iz istraživanog područja proširuje podatke o pojavnosti tih spojeva u južnom Jadranu. U usporedbi s nalazima opisanima u drugim obalnim sustavima, PnTX G i 13-desmetil

SPX D u ovom su istraživanju bili manje zastupljeni i utvrđeni pri nižim masenim udjelima. Takav nalaz može se povezati s oligotrofnim obilježjima jadranskog priobalja, ograničenom dostupnošću hranjivih tvari i manjom primarnom proizvodnjom, što može smanjiti učestalost intenzivnih cvjetanja toksičnih dinoflagelata i time ograničiti akumulaciju biotoksina u školjkašima (Hassoun i sur., 2020; Rambla-Alegre i sur., 2017).

U prirodnim i uzgojnim populacijama dagnji potvrđena je prisutnost istih skupina toksina, ali su se njihovi maseni udjeli razlikovali, što je potvrđeno primjenom metode PERMANOVA, kojom su utvrđene statistički značajne razlike između tih populacija. Viši maseni udjeli GYM A i YTX-a češće su zabilježeni u uzgojnim populacijama Malostonskog zaljeva, dok je SPX 1 pokazao više masene udjele u prirodnim populacijama dagnji. Viši maseni udjeli GYM A i YTX-a u uzgojnim populacijama mogu se povezati s uvjetima u uzgajalištima, poput veće gustoće jedinki i stabilnijih okolišnih uvjeta u vodenom stupcu, koji mogu pogodovati većem unosu i zadržavanju toksina u tkivu dagnji tijekom filtracije (Duinker i sur., 2006; Liu i sur., 2022; Mafra i sur., 2008). Dodatno, uzgojne jedinice često imaju veću tjelesnu masu i dulje razdoblje rasta u odnosu na prirodne populacije, što može omogućiti dulju izloženost toksinima i njihovu veću akumulaciju (Mafra i sur., 2008). Viši maseni udjeli SPX 1 u prirodnim populacijama dagnji mogu se povezati s lokalnim razlikama u sastavu i sezonskoj dinamici toksičnih dinoflagelata te hidrodinamičkim uvjetima koji utječu na raspodjelu fitoplanktonske biomase u obalnom području. Međutim, prisutnost istih spojeva u prirodnim i uzgojnim populacijama dagnji pokazuje da su toksični dinoflagelati prisutni u cijelom istraživanom području te da kretanje vodenih masa i prijenos fitoplanktonske biomase omogućuju njihovu dostupnost dagnjama neovisno o tipu populacije.

Statistički potvrđena sezonska raspodjela morskih biotoksina upućuje na pojačanu akumulaciju cikličkih imina i YTX-a tijekom proljetnog i ljetnog razdoblja, što se može povezati s povišenim temperaturama mora i stabilnijim uvjetima u vodenom stupcu koji pogoduju razvoju toksičnih dinoflagelata (Aubry i sur., 2003; Bacchiocchi i sur., 2020; Barreiro-Crespo i sur., 2023; Feki i sur., 2012; Finch i sur., 2024; Hassoun i sur., 2020; Rundberget i sur., 2011).

5.13. *Odnosi između cikličkih imina, PAH-ova i metala u tkivu dagnji*

Korelacijska analiza masenih udjela biotoksina u tkivu dagnji (GYM A, SPX 1 i YTX) s masenim udjelima PAH-ova i metala provedena je radi ispitivanja mogućih veza između pojave morskih biotoksina i prisutnosti kemijskih onečišćivala u okolišu. Polazište takve analize bila je pretpostavka da povišeni maseni udjeli metala i PAH-ova mogu odražavati okolišno opterećenje te djelovati kao stresni čimbenici koji potencijalno utječu na uvjete akumulacije biotoksina u dagnjama. Takav pristup temelji se na činjenici da su proizvođači analiziranih biotoksina dinoflagelati, čiji rast, metabolička aktivnost i stvaranje toksina mogu biti pod utjecajem okolišnih čimbenika, uključujući dostupnost hranjivih tvari i metala. Prethodne ekološke i eksperimentalne studije pokazale su da metali poput Fe-a i Cu-a mogu utjecati na rast, fiziološko stanje i toksični potencijal dinoflagelata, pri čemu intenzitet učinka ovisi o kombinaciji fizikalno-kemijskih i bioloških čimbenika u vodenom stupcu (Manic i sur., 2024; Ochoa-Esteso i sur., 2024; Walha i sur., 2021). Slijedom toga, ispitivanje mogućih povezanosti između biotoksina, metala i PAH-ova u tkivu dagnji provedeno je kako bi se procijenilo odražavaju li se ti procesi na razini njihove akumulacije u dagnjama te mogu li se prepoznati zajednički okolišni obrasci.

Spearmanova korelacijska analiza pokazala je mali broj statistički značajnih korelacija između biotoksina i analiziranih PAH-ova te metala. Statistički značajne negativne korelacije utvrđene su samo za YTX, i to s BbF-om i Fe-om. Za GYM A i SPX 1 nisu utvrđene statistički značajne korelacije s analiziranim PAH-ovima i metalima. Dodatno je proveden Kruskal-Wallisov test radi procjene razlikuju li se raspodjele masenih udjela između promatranih skupina spojeva. Rezultati testa pokazali su da nema statistički značajnih razlika između biotoksina i PAH-ova, kao ni između biotoksina i metala. Dobiveni rezultati upućuju na to da se varijabilnost masenih udjela biotoksina u dagnjama ne može jasno povezati s varijabilnošću masenih udjela PAH-ova i metala u analiziranim uzorcima.

6. ZAKLJUČAK

H1. Sedimentološke i geokemijske značajke površinskih sedimenata razlikuju se između područja ušća rijeke Neretve i Malostonskog zaljeva.

- Sedimenti područja ušća rijeke Neretve obilježeni su višim udjelom pijeska i nižim udjelom organske tvari, dok sedimente Malostonskog zaljeva obilježavaju viši udjeli praha i organske tvari.
- Prosječni udjeli karbonata bili su ujednačeni između istraživanih područja. Postaja Mali Ston izdvojila se najvišim prosječnim udjelom karbonata, a postaja Banja najvišim prosječnim udjelom organske tvari.

H2. Prostorne i sezonske razlike u fizikalno-kemijskim značajkama sedimenta (raspodjela veličine zrna, udio karbonata i organske tvari) utječu na raspodjelu i zadržavanje metala i PAH-ova.

- Površinski sedimenti Malostonskog zaljeva izdvojili su se višim masenim udjelima Cr, Cu, Fe, Mn, Zn, Ni, Pb i Hg, dok je sediment područja ušća rijeke Neretve imao neznatno viši maseni udio Cd. Takva raspodjela potvrđuje prostornu razliku u akumulaciji analiziranih metala između istraživanih područja.
- Raspodjela Cr, Cu, Fe, Mn, Zn, Ni, Pb i Hg bila je povezana sa sastavom sedimenta. Viši maseni udjeli navedenih metala bili su povezani s višim udjelima praha i organske tvari te s nižim udjelima pijeska i karbonata. Statistički značajna povezanost s glinom te parametrima Mz i Md utvrđena je za Fe, Mn, Zn, Ni, Pb, Cu i Hg, dok se Cd izdvojio izostankom statistički značajne povezanosti s analiziranim fizikalno-kemijskim značajkama sedimenta.
- Unutar Malostonskog zaljeva postaja Mali Ston izdvojila se nižim masenim udjelima Cr, Cu, Fe, Mn, Zn, Ni, Pb i Hg u odnosu na postaje Kanal Usko, Banja i Bistrina. U području ušća rijeke Neretve postaja Škoj izdvojila se višim masenim udjelima Ni i Pb u odnosu na postaje Ploče i Blace.
- Površinski sediment Malostonskog zaljeva imao je više masene udjele PAH-ova Naph, Flu, Phe, Ant, Flt, Pyr, BaA, Chr, BbF, BkF, BaP, DahA, BghiP i IcdP u odnosu na sediment

područja ušća rijeke Neretve, dok je Ace bio viši u sedimentu područja ušća rijeke Neretve. Takva raspodjela potvrđuje prostornu razliku u akumulaciji PAH-ova između istraživanih područja.

- U sedimentu su HMW PAH-ovi imali najizraženiji doprinos ukupnoj raspodjeli PAH-ova, osobito BbF, Flt, Pyr i IcdP. Viši maseni udjeli PAH-ova u sedimentu bili su povezani s višim udjelima praha, gline i organske tvari te s nižim udjelima pijeska i karbonata, što potvrđuje važnost sitnozrnatih frakcija i organske tvari u zadržavanju PAH-ova.
- Povezanost između metala i PAH-ova bila je izražena u sedimentu. Maseni udjeli Fe, Mn, Zn, Ni i Pb bili su međusobno snažno pozitivno povezani, a HMW PAH-ovi pokazali su pozitivne povezanosti s Fe, Mn, Zn, Cu, Pb, Cr, Ni i Hg. Maseni udio Cd nije bio statistički značajno povezan ni s jednim analiziranim PAH-om.
- Sezonske razlike u raspodjeli analiziranih metala i PAH-ova nisu bile statistički značajne. Raspodjelu metala i PAH-ova u sedimentu više određuju prostorne sedimentološke i geokemijske značajke nego sezonske promjene.
- Fizikalno-kemijske značajke sedimenta bile su važne za raspodjelu metala i PAH-ova u sedimentu, ali nisu izravno objasnile akumulaciju onečišćujućih tvari u dagnjama. Maseni udjeli PAH-ova u dagnjama nisu bili statistički značajno povezani sa značajkama sedimenta, dok su kod metala u dagnjama značajne povezanosti sa sedimentom utvrđene samo za Zn i Pb. Odnos između metala i PAH-ova u dagnjama bio je znatno manje izražen nego u sedimentu.

H3. Profil masenih udjela analiziranih metala i PAH-ova razlikuje se između prirodnih i uzgojnih populacija dagnji.

- U uzgojnim populacijama dagnji iz Malostonskog zaljeva utvrđeni su viši maseni udjeli Zn, Cd, Pb, Hg, DahA, BghiP i IcdP, dok su u prirodnim populacijama s područja ušća rijeke Neretve utvrđeni viši maseni udjeli Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Naph, Flu, Phe, Ant, Pyr, BaA, Chr, BkF, BaP, Flt i BbF.
- U Malostonskom zaljevu postaja Kanal Usko izdvojila se višim masenim udjelom Cr te višim masenim udjelima PAH-ova Ant, Pyr, BaA, Chr, BkF i BbF, dok se postaja Mali Ston izdvojila višim masenim udjelima DahA, BghiP i IcdP.

- U području ušća rijeke Neretve postaja Ploče izdvojila se višim masenim udjelom Cr, dok se postaja Škoj izdvojila višim masenim udjelima PAH-ova Pyr, BaA, Chr, BkF, BaP, Flt, BbF i IcdP.
- Sezonska raspodjela metala u dagnjama pokazala je najviše srednje masene udjele Fe, Mn, Zn, Ni, Pb, Cd i Hg u zimskom razdoblju, a najviše srednje masene udjele Cr i Cu u jesenskom razdoblju. Najniži srednji maseni udjeli Cr, Fe, Mn, Zn, Ni, Pb i Hg utvrđeni su ljeti, dok su najniži srednji maseni udjeli Cu i Cd utvrđeni u proljeće. Sezonska raspodjela PAH-ova pokazala je promjene masenih udjela pojedinačnih spojeva, ali sezonske razlike za PAH-ove nisu bile statistički značajne.
- Multivarijatne analize potvrdile su statistički značajne razlike između prirodnih i uzgojnih populacija dagnji za metale i PAH-ove, dok su statistički značajne sezonske razlike potvrđene samo za metale.

H4. Stupanj onečišćenja sedimenta PAH-ovima, podrijetlo PAH-ova i geokemijska raspodjela metala razlikuju se među istraživanim područjima, postajama i sezonama.

- Sedimenti istraživanih postaja pripadali su niskom do umjerenom stupnju onečišćenja PAH-ovima, dok su na postajama Škoj, Bistrina i Mali Ston pojedinačni maseni udjeli PAH-ova prelazili prag visokog stupnja onečišćenja.
- Dijagnostički omjeri PAH-ova upućuju na mješovito podrijetlo PAH-ova u površinskim sedimentima obaju istraživanih područja, pri čemu su pirogeni pokazatelji bili izraženiji od petrogenih pokazatelja.
- Prostorne razlike u dijagnostičkim omjerima PAH-ova pokazale su različitu relativnu zastupljenost pojedinih pirogenih i petrogenih pokazatelja. Omjeri Flt/(Flt+Pyr), IcdP/(IcdP+BghiP) i Phe/Ant bili su viši u Malostonskom zaljevu, dok su omjeri Ant/(Ant+Phe), BaA/(BaA+Chr) i Σ LMW/ Σ HMW bili viši u području ušća rijeke Neretve.
- Omjeri metala normalizirani na Fe upućuju na prostorne geokemijske razlike između istraživanih područja. Omjeri Ni/Fe, Zn/Fe i Pb/Fe bili su viši u Malostonskom zaljevu, dok su omjeri Cr/Fe, Cu/Fe i Hg/Fe bili viši u području ušća rijeke Neretve. Omjeri Cd/Fe i Fe/Mn bili su ujednačeni između istraživanih područja.

- Unutar Malostonskog zaljeva postaja Mali Ston izdvojila se višim omjerima Cd/Fe, Cu/Fe i Hg/Fe u odnosu na postaje Kanal Usko, Banja i Bistrina. U području ušća rijeke Neretve postaja Škoj izdvojila se višim omjerima Ni/Fe i Pb/Fe, dok se postaja Ploče izdvojila višim omjerom Cr/Fe.
- Sezonske razlike u masenim udjelima PAH-ova nisu bile statistički značajne, dok su dijagnostički omjeri PAH-ova pokazali statistički značajnu razliku između ljetnog i jesenskog razdoblja. Tu su razliku najviše određivali omjeri BaA/(BaA+Chr), IcdP/(IcdP+BghiP) i Flt/(Flt+Pyr).

H5. Maseni udjeli metala i PAH-ova u sedimentima i školjkašima pokazuju prostorno-vremensku varijabilnost koja je povezana s prirodnim i antropogenim utjecajima u istraživanim područjima.

H6. Maseni udjeli PAH-ova i metala u sedimentima istraživanog područja niži su od graničnih vrijednosti koji se primjenjuju za procjenu rizika od štetnih učinaka onečišćujućih tvari na morske organizme.

- U dagnjama iz Malostonskog zaljeva utvrđen je viši udio uzoraka s masenim udjelima Cd, Pb i Hg jednakima ili višima od kriterija BAC nego u području ušća rijeke Neretve. To upućuje na izraženije odstupanje masenih udjela tih metala od pozadinske razine u dagnjama iz Malostonskog zaljeva. Prekoračenja kriterija BAC za Phe, Flt, Pyr, BaA, Chr, BaP, BghiP i IcdP u oba istraživana područja upućuju na odstupanje masenih udjela tih PAH-ova od pozadinskih razina i na njihovu dostupnost dagnjama tijekom filtracije vode.
- Na postajama Kanal Usko, Bistrina, Mali Ston i Ploče utvrđeni su maseni udjeli Pb jednaki ili viši od kriterija BAC, što upućuje na lokalno izraženije odstupanje Pb od pozadinske razine.
- U dagnjama iz Malostonskog zaljeva utvrđen je viši udio uzoraka s prekoračenjem kriterija BAC i EAC za PAH-ove nego u području ušća rijeke Neretve. Postaja Bistrina izdvojila se najčešćim prekoračenjima kriterija EAC, dok je postaja Mali Ston pokazala niže opterećenje PAH-ovima u odnosu na ostale postaje Malostonskog zaljeva.

- Prekoračenja kriterija BAC za Cd i Hg u dagnjama bila su najizraženija tijekom zimskog razdoblja, što upućuje na sezonski izraženije odstupanje tih metala od pozadinske razine. Prekoračenja kriterija BAC i EAC za PAH-ove utvrđena su tijekom svih sezona, što upućuje na prisutnost PAH-ova iznad pozadinskih razina tijekom cijeloga istraživanog razdoblja.
- Prekoračenja kriterija EAC za Flt, Pyr, BaA i BghiP upućuju na mogući ekološki rizik povezan s tim PAH-ovima.
- U sedimentima istraživanih područja Cr i Ni izdvojili su se najčešćim prekoračenjima kriterija TEL i ERL, dok je Ni bio jedini metal s prekoračenjima kriterija PEL i ERM. Budući da su prekoračenja kriterija PEL i ERM utvrđena samo za Ni, najviši potencijalni ekotoksikološki rizik za bentičke organizme povezan je s tim metalom, osobito u sedimentima Malostonskog zaljeva.
- Sezonska raspodjela prekoračenja kriterija za metale u sedimentu pokazala je da su kriteriji TEL za Cr, Cu i Ni prekoračeni tijekom svih sezona, dok su prekoračenja kriterija TEL za Zn utvrđena samo u proljeće, za Pb u proljeće i jesen, a za Hg u ljeto. Prekoračenja kriterija ERL za Cr i Ni utvrđena su tijekom svih sezona, dok je prekoračenje kriterija ERL za Cu utvrđeno samo u proljeće. Prekoračenja kriterija PEL i ERM bila su vezana samo uz Ni i zabilježena su tijekom svih sezona.
- U sedimentima su prekoračenja kriterija BAC utvrđena za Naph, Phe, Ant, Flt, Pyr, BaA, Chr, BaP, BghiP i IcdP, što upućuje na odstupanje masenih udjela tih PAH-ova od pozadinskih razina. Malostonski zaljev pokazao je izraženije opterećenje sedimenta PAH-ovima od područja ušća rijeke Neretve, pri čemu se postaja Bistrina izdvojila najizraženijim opterećenjem, a Mali Ston najnižim opterećenjem među postajama Malostonskog zaljeva.
- Najizraženija prekoračenja kriterija BAC u sedimentu utvrđena su za Pyr, Flt i BaA, osobito tijekom proljetnog i ljetnog razdoblja.
- Prekoračenja TEL pragova u sedimentu utvrđena su za Ace, Phe, Flt, Pyr, BaA, BaP i DahA, dok su prekoračenja ERL pragova utvrđena za Ace, BaA i DahA. Prekoračenja PEL i ERM pragova za PAH-ove nisu utvrđena, što upućuje na nizak rizik od štetnih učinaka PAH-ova na bentičke organizme.

H7. Specifičan profil morskih biotoksina i njihovih metabolita u školjkašima južnog Jadrana odražava lokalne ekološke uvjete te pokazuje značajne sezonske razlike u pojavnosti i masenim udjelima.

- U dagnjama istraživanih područja utvrđena je prisutnost cikličkih imina i YTX-a, dok OA/DTX, PTX, AZA, PSP i DA nisu detektirani ni u jednom analiziranom uzorku.
- Toksikološki profil dagnji karakterizirali su GYM A, SPX 1 i YTX-a koji su bili prisutni u najvišim masenim udjelima među analiziranim toksinima. Uz navedene toksine potvrđena je i prisutnost PnTX G, 13-desmetil SPX D te spoja koji odgovara izomeru GYM A.
- Razlike između prirodnih i uzgojnih populacija dagnji najviše su bile povezane s višim masenim udjelima SPX 1 u prirodnim populacijama dagnji.
- Sezonska raspodjela pokazala je više masene udjele GYM A i YTX-a tijekom proljetnog i ljetnog razdoblja, dok su niži maseni udjeli uglavnom utvrđeni tijekom zime. Za SPX 1 nije utvrđena jasno izražena sezonska raspodjela, dok su PnTX G i 13-desmetil SPX D pokazali više masene udjele tijekom toplijeg dijela godine.
- Multivarijantne analize potvrdile su statistički značajne sezonske razlike u profilu GYM A, SPX 1 i YTX-a te statistički značajne razlike između prirodnih i uzgojnih populacija dagnji. Za ostale utvrđene analoge broj pozitivnih uzoraka nije bio dostatan za potvrdu statističke značajnosti prostornih i sezonskih razlika.

H8. Povišeni maseni udjeli metala i PAH-ova u morskom okolišu u korelaciji su s povišenim masenim udjelima biotoksina i njihovih metabolita u školjkašima.

- Za GYM A i SPX 1 nisu utvrđene statistički značajne korelacije s analiziranim PAH-ovima i metalima, dok su za YTX utvrđene negativne korelacije s BbF-om i Fe-om.
- Budući da nije potvrđena pozitivna povezanost između biotoksina, metala i PAH-ova, raspodjelu biotoksina potrebno je tumačiti odvojeno od onečišćenja metalima i PAH-ovima, ponajprije kroz sezonsku pojavu toksičnih fitoplanktonskih vrsta i okolišne uvjete u vodenom stupcu.

7. LITERATURA

Abderrahmani, K. (2024). Assessment of Essential Trace Elements Cu, Zn, Mn, and Ni in Mediterranean Mussels (*Mytilus galloprovincialis*) from the Algerian Coast. *Biological Trace Element Research*, 203(6), 3335–3350. <https://doi.org/10.1007/s12011-024-04380-5>

Abdou, M., Tercier-Waeber, M., Dutruch, L., Bossy, C., Pougnet, F., Coynel, A., Bakker, E., Blanc, G., & Schäfer, J. (2021). Estuarine dissolved speciation and partitioning of trace metals: a novel approach to study biogeochemical processes. *Environmental Research*, 208, 112596. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.112596>

Achterberg, E. P., & Van Den Berg, C.M.G. (1997). Chemical speciation of chromium and nickel in the western Mediterranean. 44(3-4), 693–720. [https://doi.org/10.1016/s0967-0645\(96\)00086-0](https://doi.org/10.1016/s0967-0645(96)00086-0)

Accoroni, S., Cangini, M., Angeletti, R., Losasso, C., Bacchiocchi, S., Costa, A., Di Taranto, A., Escalera, L., Fedrizzi, G., Garzia, A., Longo, F., Macaluso, A., Melchiorre, N., Milandri, A., Milandri, S., Montesor, M., Neri, F., Piersanti, A., Rubini, S., Suraci, C., Susini, F., Vadrucci, M.R., Mudadu, A.G., Vivaldi, B., Soro, B., Totti, C., & Zingone, A. (2023). Marine phycotoxin levels in shellfish—14 years of data gathered along the Italian coast. *Harmful Algae*, 131, 102560. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2023.102560>

Acquavita, A., Falomo, J., Predonzani, S., Tamberlich, F., Bettoso, N., & Mattassi, G. (2014). The PAH level, distribution and composition in surface sediments from a Mediterranean Lagoon: The Marano and Grado Lagoon (Northern Adriatic Sea, Italy). *Marine Pollution Bulletin*, 81(1), 234–241. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.01.041>

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). (1995). *Toxicological Profile for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs)*. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Atlanta, GA. Dostupno na <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp69.pdf>

Agoro, M. A., Adeniji, A. O., Adefisoye, M. A., & Okoh, O. O. (2020). Heavy Metals in Wastewater and Sewage Sludge from Selected Municipal Treatment Plants in Eastern Cape Province, South Africa. *Water*, 12(10), 2746. <https://doi.org/10.3390/w12102746>

Al-Hashem, A. A., Beck, A. J., Krisch, S., Menzel Barraqueta, J., Steffens, T., & Achterberg, E. P. (2022). Particulate Trace Metal Sources, Cycling, and Distributions on the Southwest African Shelf. *Global Biogeochemical Cycles*, 36(11). <https://doi.org/10.1029/2022gb007453>

Alfonso, A., Vieytes, M., & Botana, L. (2016). Yessotoxin, a Promising Therapeutic Tool. *Marine Drugs*, 14(2), 30. <https://doi.org/10.3390/md14020030>

Alloway, B. J. (2012). Heavy metals in soils. In *Environmental pollution*. <https://doi.org/10.1007/978-94-007-4470-7>

Amiard, J., Amiard-Triquet, C., Barka, S., Pellerin, J., & Rainbow, P. (2005). Metallothioneins in aquatic invertebrates: Their role in metal detoxification and their use as biomarkers. *Aquatic Toxicology*, 76(2), 160–202. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2005.08.015>

Anderson, M. J. (2001). A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecology*, 26(1), 32–46. <https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.2001.01070.pp.x>

Anderson, D. M., Cembella, A. D., & Hallegraeff, G. M. (2011). Progress in understanding harmful algal blooms: paradigm shifts and new technologies for research, monitoring, and management. *Annual Review of Marine Science*, 4(1), 143–176. <https://doi.org/10.1146/annurev-marine-120308-081121>

French Agency for Food, Environmental and Occupational Health & Safety (ANSES). (2016). *Surveillance of phycotoxins in shellfish: 2014 results*. Dostupno na https://mag.anses.fr/sites/default/files/2018-03-12_SSA06-2016-GB.pdf

AOAC International. (2016). Appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements (SMPR®). In Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL. AOAC International. Dostupno na https://www.aoac.org/wp-content/uploads/2019/08/app_f.pdf

AOAC INTERNATIONAL. (2019). *AOAC Official Method 2005.06: Standard Operating Procedure (SOP)*. Dostupno na https://www.aesan.gob.es/en/CRLMB/docs/docs/metodos_analiticos_de_desarrollo/SOP_AOAC_2005_06_semi.pdf

Araújo, D. F., Boaventura, G. R., Machado, W., Viers, J., Weiss, D., Patchineelam, S. R., Ruiz, I., Rodrigues, A. P. C., Babinski, M., & Dantas, E. (2017). Tracing of anthropogenic zinc sources in

coastal environments using stable isotope composition. *Chemical Geology*, 449, 226–235. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2016.12.004>

Aráoz, R., Barnes, P., Séchet, V., Delepierre, M., Zinn-Justin, S., Molgó, J., Zakarian, A., Hess, P., & Servent, D. (2020). Cyclic imine toxins survey in coastal European shellfish samples: Bioaccumulation and mode of action of 28-O-palmitoyl ester of pinnatoxin-G. first report of portimine-A bioaccumulation. *Harmful Algae*, 98, 101887. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2020.101887>

Arnich, N., Abadie, E., Delcourt, N., Fessard, V., Fremy, J., Hort, V., Lagrange, E., Maignien, T., Molgó, J., Peyrat, M., Vernoux, J., & Mattei, C. (2020). Health risk assessment related to pinnatoxins in French shellfish. *Toxicon*, 180, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2020.03.007>

Artegiani, A., Bregant, D., Paschini, E., Pinardi, N., Raicich, F., & Russo, A. (1997). The Adriatic Sea general circulation. Part I: Air–sea interactions and water mass structure. *Journal of Physical Oceanography*, 27, 1492–1514. [https://doi.org/10.1175/1520-0485\(1997\)027<1492:TASGCP>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1175/1520-0485(1997)027<1492:TASGCP>2.0.CO;2)

Aubry, F., Berton, A., Bastianini, M., Socal, G., & Acri, F. (2003). Phytoplankton succession in a coastal area of the NW Adriatic, over a 10-year sampling period (1990–1999). *Continental Shelf Research*, 24(1), 97–115. <https://doi.org/10.1016/j.csr.2003.09.007>

Bacchiocchi, S., Siracusa, M., Campacci, D., Ciriaci, M., Dubbini, A., Tavoloni, T., Stramenga, A., Gorbi, S., & Piersanti, A. (2020). Cyclic Imines (CIs) in Mussels from North-Central Adriatic Sea: First Evidence of Gymnodimine A in Italy. *Toxins*, 12(6), 370. <https://doi.org/10.3390/toxins12060370>

Bajc, Z., & Kirbiš, A. (2019). Trace Element Concentrations in Mussels (*Mytilus galloprovincialis*) from the Gulf of Trieste, Slovenia. *Journal of Food Protection*, 82(3), 429–434. <https://doi.org/10.4315/0362-028x.jfp-18-378>

Bajt, O. (2022). Sedimentary record of polycyclic aromatic hydrocarbons in the Gulf of Trieste (Northern Adriatic Sea) – distribution, origin and temporal trends. *Frontiers in Marine Science*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.946618>

Balmer, J. E., Hung, H., Yu, Y., Letcher, R. J., & Muir, D. C. (2019). Sources and environmental fate of pyrogenic polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the Arctic. *Emerging Contaminants*, 5, 128–142. <https://doi.org/10.1016/j.emcon.2019.04.002>

Banerjee, S., & Mazumdar, S. (2012). Electrospray Ionization Mass Spectrometry: A Technique to Access the Information beyond the Molecular Weight of the Analyte. *International Journal of Analytical Chemistry*, 2012, 1–40. <https://doi.org/10.1155/2012/282574>

Baran, A., Klimkiewicz-Pawlas, A., Ukalska-Jaruga, A., Mierzwa-Hersztek, M., Gondek, K., Szara-Bąk, M., Tarnawski, M., & Spalek, I. (2021). Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the bottom sediments of a dam reservoir, their interaction with organic matter and risk to benthic fauna. *Journal of Soils and Sediments*, 21(6), 2418–2431. <https://doi.org/10.1007/s11368-021-02968-1>

Barber-Lluch, E., Nieto-Cid, M., Santos-Echeandía, J., & Sánchez-Marín, P. (2023). Effect of dissolved organic matter on copper bioavailability to a coastal dinoflagellate at environmentally relevant concentrations. *The Science of the Total Environment*, 901, 165989. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.165989>

Barnouin, G., Hourany, R. E., Record, N. R., Bajc, Z., Kennedy, J., Lafitte, A., & Bottein, M. D. (2025). Marine biotoxins in Mediterranean seafood: Environmental occurrence and food safety concerns. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 303, 119032. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2025.119032>

Barreiro-Crespo, L., Fernández-Tejedor, M., Diogène, J., & Rambla-Alegre, M. (2023). The temporal distribution of cyclic imines in shellfish in the bays of Fangar and Alfacs, northwestern Mediterranean region. *Toxins*, 16(1), 10. <https://doi.org/10.3390/toxins16010010>

Bates, S. S., Bird, C. J., De Freitas, A. S. W., Foxall, R., Gilgan, M., Hanic, L. A., Johnson, G. R., McCulloch, A. W., Odense, P., Pocklington, R., Quilliam, M. A., Sim, P. G., Smith, J. C., Rao, D. V. S., Todd, E. C. D., Walter, J. A., & Wright, J. L. C. (1989). Pennate Diatom *Nitzschia pungens* as the Primary Source of Domoic Acid, a Toxin in Shellfish from Eastern Prince Edward Island, Canada. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 46(7), 1203–1215. <https://doi.org/10.1139/f89-156>

- Bates, S. S., Hubbard, K. A., Lundholm, N., Montresor, M., & Leaw, C. P. (2018). Pseudo-nitzschia, Nitzschia, and domoic acid: New research since 2011. *Harmful Algae*, 79, 3–43. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2018.06.001>
- Bates, E. H., Alma, L., Ugrai, T., Gagnon, A., Maher, M., McElhany, P., & Padilla-Gamiño, J. L. (2021). Evaluation of the effect of local water chemistry on trace metal accumulation in puget sound shellfish shows that concentration varies with species, size, and location. *Frontiers in Marine Science*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmars.2021.636170>
- Baumard, P., Budzinski, H., Garrigues, P., Sorbe, J., Burgeot, T., & Bellocq, J. (1998). Concentrations of PAHs (polycyclic aromatic hydrocarbons) in various marine organisms in relation to those in sediments and to trophic level. *Marine Pollution Bulletin*, 36(12), 951–960. [https://doi.org/10.1016/s0025-326x\(98\)00088-5](https://doi.org/10.1016/s0025-326x(98)00088-5)
- Baumard, P., Budzinski, H., & Garrigues, P. (1998). Polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments and mussels of the western Mediterranean Sea. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 17(5), 765–776. <https://doi.org/10.1002/etc.5620170501>
- Bazzoni, A. M., Mudadu, A. G., Lorenzoni, G., Arras, I., Lugliè, A., Vivaldi, B., Cicotelli, V., Sanna, G., Tedde, G., Ledda, S., Alesso, E., Marongiu, E., & Virgilio, S. (2016). Occurrence of harmful algal species and shellfish toxicity in Sardinia (Italy). *Italian Journal of Food Safety*, 5(4), 6095. <https://doi.org/10.4081/ijfs.2016.6095>
- Beckers, F., & Rinklebe, J. (2017). Cycling of mercury in the environment: Sources, fate, and human health implications: A review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 47(9), 693–794. <https://doi.org/10.1080/10643389.2017.1326277>
- Bielicka, A., Bojanowska, I., & Wiśniewski, A. (2005). Two faces of chromium—pollutant and bioelement. *Polish Journal of Environmental Studies*, 14(1), 5–10.
- Bilandžić, N., Đokić, M., & Sedak, M. (2010). Metal content determination in four fish species from the Adriatic Sea. *Food Chemistry*, 124(3), 1005–1010. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.07.060>
- Bings, N. H., Bogaerts, A., & Broekaert, J. a. C. (2010). Atomic Spectroscopy: a review. *Analytical Chemistry*, 82(12), 4653–4681. <https://doi.org/10.1021/ac1010469>

- Birch, G. F., & Olmos, M. A. (2008). Sediment-bound heavy metals as indicators of human influence and biological risk in coastal water bodies. *ICES Journal of Marine Science*, 65(8), 1407–1413. <https://doi.org/10.1093/icesjms/fsn139>
- Blanco, J., Moroño, Á., Arévalo, F., Correa, J., Salgado, C., Rossignoli, A. E., & Lamas, J. P. (2021). Twenty-Five years of Domoic acid Monitoring in Galicia (NW Spain): spatial, temporal and interspecific variations. *Toxins*, 13(11), 756. <https://doi.org/10.3390/toxins13110756>
- Boening, D. W. (2000). Ecological effects, transport, and fate of mercury: a general review. *Chemosphere*, 40(12), 1335–1351. [https://doi.org/10.1016/s0045-6535\(99\)00283-0](https://doi.org/10.1016/s0045-6535(99)00283-0)
- Bogner, D., Odžak, N., Juračić, M., Barić, A., & Tibljaš, D. (1997). Heavy metals in sediments of the Kaštela Bay. *WIT Transactions on Ecology and the Environment*, 20, 87–94. <https://doi.org/10.2495/WP970091>
- Bogner, D., & Matijević, S. (2016). Variety of physical-chemical characteristics of Holocene sediments from the Middle Adriatic Sea (Croatia). *Acta Adriatica*, 57(1), 3–16. <https://acta.izor.hr/ojs/index.php/acta/article/view/441>
- Bolan, S., Seshadri, B., Grainge, I., Talley, N. J., & Naidu, R. (2020). Gut microbes modulate bioaccessibility of lead in soil. *Chemosphere*, 270, 128657. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128657>
- Borja, Á., Elliott, M., Carstensen, J., Heiskanen, A., & Van De Bund, W. (2010). Marine management – Towards an integrated implementation of the European Marine Strategy Framework and the Water Framework Directives. *Marine Pollution Bulletin*, 60(12), 2175–2186. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2010.09.026>
- Borja, Á., Dauer, D. M., & Grémare, A. (2011). The importance of setting targets and reference conditions in assessing marine ecosystem quality. *Ecological Indicators*, 12(1), 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2011.06.018>
- Bošković, N., Joksimović, D., & Bajt, O. (2023). Content of Trace Elements and Human Health Risk Assessment via Consumption of Commercially Important Fishes from Montenegrin Coast. *Foods*, 12(4), 762. <https://doi.org/10.3390/foods12040762>

- Botté, A., Seguin, C., Nahrgang, J., Zaidi, M., Guery, J., & Leignel, V. (2022). Lead in the marine environment: concentrations and effects on invertebrates. *Ecotoxicology*, 31(2), 194–207. <https://doi.org/10.1007/s10646-021-02504-4>
- Boudammoussi, M. E., Hammoudani, Y. E., Haboubi, K., Bourjila, A., Achoukhi, I., Bouhaj, S., Kasmi, A. E., Farissi, H. E., & Dimane, F. (2025). Heavy metal bioaccumulation in sediments and mussels along the moroccan mediterranean coast: A spatial assessment. *Environmental Challenges*, 20, 101195. <https://doi.org/10.1016/j.envc.2025.101195>
- Boyd, P. W., & Ellwood, M. J. (2010). The biogeochemical cycle of iron in the ocean. *Nature Geoscience*, 3(10), 675–682. <https://doi.org/10.1038/ngeo964>
- Brenckman, C. M., Jayalakshamma, M. P., Pennock, W. H., Ashraf, F., & Borgaonkar, A. D. (2025). A review of Harmful algal blooms: causes, effects, monitoring, and prevention methods. *Water*, 17(13), 1980. <https://doi.org/10.3390/w17131980>
- Bricelj, V. M., & Shumway, S. E. (1998). Paralytic shellfish toxins in bivalve molluscs: occurrence, transfer kinetics, and biotransformation. *Reviews in Fisheries Science*, 6(4), 315–383. <https://doi.org/10.1080/10641269891314294>
- Brown, P. L., & Markich, S. J. (2024). An evaluation of metal binding constants to cell surface receptors in freshwater organisms, and their application in biotic ligand models to predict metal toxicity. *Water*, 16(20), 2999. <https://doi.org/10.3390/w16202999>
- Browning, T. J., Achterberg, E. P., Engel, A., & Mawji, E. (2021). Manganese co-limitation of phytoplankton growth and major nutrient drawdown in the Southern Ocean. *Nature Communications*, 12(1), 884. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21122-6>
- Bruland, K. W., R. Middag, & Lohan, M. C. (2013). Controls of Trace Metals in Seawater. *Elsevier EBooks*, 19–51. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-095975-7.00602-1>
- Bryan, G. W., & Darracott, A. (1979). Bioaccumulation of marine pollutants. Philosophical Transactions of the Royal Society of London. *Series B, Biological Sciences*, 286(1015), 483–505. <https://doi.org/10.1098/rstb.1979.0042>

- Budzinski, H., Jones, I., Bellocq, J., Piérard, C., & Garrigues, P. (1997). Evaluation of sediment contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons in the Gironde estuary. *Marine Chemistry*, 58(1–2), 85–97. [https://doi.org/10.1016/s0304-4203\(97\)00028-5](https://doi.org/10.1016/s0304-4203(97)00028-5)
- Bulić, A., Pezelj, I., Ujević, I., Bogdanović, T., & Orhanović, S. (2025). AZA Toxin Profiles by LC-HRMS in Shellfish from Šibenik Bay: AZA-2 Predominant Analog. *Molecules*, 31(1), 60. <https://doi.org/10.3390/molecules31010060>
- Bulić, A., Orhanović, S., Pezelj, I., & Ujević, I. (2025). First detection of the gymnodimine A isomer, 13-desmethylspirolide D and pinnatoxin G in mussels from Croatia's southern Adriatic Sea. *Marine Pollution Bulletin*, 215, 117888. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2025.117888>
- Buljan, M., Hure, J. i Pucher-Petković, T. (1973). Hydrographic and productivity conditions in the Bay of Mali Ston: Report on the work made during the dam construction of the Trebišnjica hydroelectric power plant. *Acta Adriatica*, 15, 1–63.
- Burchard, H., Schuttelaars, H. M., & Ralston, D. K. (2017). Sediment trapping in estuaries. *Annual Review of Marine Science*, 10(1), 371–395. <https://doi.org/10.1146/annurev-marine-010816-060535>
- Bussan, D. D., Sessums, R. F., & Cizdziel, J. V. (2015). Direct mercury analysis in environmental solids by ICP-MS with on-line sample ashing and mercury pre-concentration using a direct mercury analyzer. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 30(7), 1668–1672. <https://doi.org/10.1039/c5ja00087d>
- Bužančić, M., Gladan, Ž. N., Marasović, I., Kušpilić, G., & Grbec, B. (2016). Eutrophication influence on phytoplankton community composition in three bays on the eastern Adriatic coast. *Oceanologia*, 58(4), 302–316. <https://doi.org/10.1016/j.oceano.2016.05.003>
- Byrne, R. H. (2002). Inorganic speciation of dissolved elements in seawater: the influence of pH on concentration ratios. *Geochemical Transactions*, 2(2), 11. <https://doi.org/10.1039/b109732f>
- Caeiro, S., Costa, M., Ramos, T., Fernandes, F., Silveira, N., Coimbra, A., Medeiros, G., & Painho, M. (2005). Assessing heavy metal contamination in Sado Estuary sediment: An index analysis approach. *Ecological Indicators*, 5(2), 151–169. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2005.02.001>

Calmano, W., Hong, J., & Förstner, U. (1993). Binding and mobilization of heavy metals in contaminated sediments affected by pH and redox potential. *Water Science & Technology*, 28(8–9), 223–235. <https://doi.org/10.2166/wst.1993.0622>

Cao, W., Yuan, J., Geng, S., Zou, J., Dou, J., & Fan, F. (2022). Oxygenated and Nitrated Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Sources, Quantification, Incidence, Toxicity, and Fate in Soil – A Review study. *Processes*, 11(1), 52. <https://doi.org/10.3390/pr11010052>

Casas, S., & Bacher, C. (2006). Modelling trace metal (Hg and Pb) bioaccumulation in the Mediterranean mussel, *Mytilus galloprovincialis*, applied to environmental monitoring. *Journal of Sea Research*, 56(2), 168–181. <https://doi.org/10.1016/j.seares.2006.03.006>

Castillo-Ilabaca, C., Gutiérrez, M. H., Aranda, M., Henríquez-Aedo, K., Pereira, A., Salamanca, M., Galand, P. E., Jessen, G. L., & Pantoja-Gutiérrez, S. (2024). PAH contamination in coastal surface sediments and associated bacterial communities. *Scientific Reports*, 14(1), 29053. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-78905-2>

Canadian Council of Ministers of the Environment (CCME). (2002). *Canadian Sediment Quality Guidelines for the Protection of Aquatic Life: Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)*. In *Canadian Environmental Quality Guidelines, 1999*. Ottawa, Canada: Canadian Council of Ministers of the Environment. Dostupno na <https://ccme.ca/en/res/polycyclic-aromatic-hydrocarbons-pahs-canadian-sediment-quality-guidelines-for-the-protection-of-aquatic-life-en.pdf>

Çayır, A., Coşkun, M., & Coşkun, M. (2012). Evaluation of Metal Concentrations in Mussel *M. galloprovincialis* in the Dardanelles Strait, Turkey in Regard of Safe Human Consumption. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 89(1), 91–95. <https://doi.org/10.1007/s00128-012-0658-z>

Cerrano, C., Bakran-Petricioli, T., Bastari, A., Frascchetti, S., Huete-Stauffer, C., Ferretti, F., Micheli, F., Ponti, M., Pusceddu, A. & Valisano, L. (2015). *Adriatic Sea: Description of the Ecology and Identification of the Areas that May Deserve to be Protected*. Edited by D. Cebrian & S. Requena. UNEP/MAP-RAC/SPA, Tunis, 92 pp.

- Cestèle, S. (2000). Molecular mechanisms of neurotoxin action on voltage-gated sodium channels. *Biochimie*, 82(9–10), 883–892. [https://doi.org/10.1016/s0300-9084\(00\)01174-3](https://doi.org/10.1016/s0300-9084(00)01174-3)
- Cetinić, A. B. (2024). Shellfisheries in Croatia: From manual collection to contemporary practices. *Naše More*, 71(3), 149–160. <https://doi.org/10.17818/nm/2024/3.8>
- Chen, S., Chen, S., Tao, Z., Li, Y., Magni, P., Zhang, L., Zheng, X., & Pan, K. (2024). The importance of organic matter in controlling the metal variability and mobility in seagrass sediments. *Environmental Pollution*, 366, 125542. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2024.125542>
- Chimjarn, S., Delhomme, O., & Millet, M. (2021). Temporal distribution and Gas/Particle partitioning of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the atmosphere of Strasbourg, France. *Atmosphere*, 12(3), 337. <https://doi.org/10.3390/atmos12030337>
- Chizhova, T., Koudryashova, Y., Patrushev, M., & Kaplunenko, D. (2025). Polycyclic aromatic hydrocarbon level, origin and ecological risk assessment in sediments with different grain size properties in Peter the Great Bay (the Sea of Japan). *Marine Pollution Bulletin*, 219, 118235. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2025.118235>
- Ciminiello, P., Dell'Aversano, C., Fattorusso, E., Forino, M., Magno, G. S., Tartaglione, L., Quilliam, M. A., Tubaro, A., & Poletti, R. (2005). Hydrophilic interaction liquid chromatography/mass spectrometry for determination of domoic acid in Adriatic shellfish. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 19(14), 2030–2038. <https://doi.org/10.1002/rcm.2021>
- Cincinelli, A., Stortini, A., Perugini, M., Checchini, L., & Lepri, L. (2001). Organic pollutants in sea-surface microlayer and aerosol in the coastal environment of Leghorn – (Tyrrhenian Sea). *Marine Chemistry*, 76(1–2), 77–98. [https://doi.org/10.1016/s0304-4203\(01\)00049-4](https://doi.org/10.1016/s0304-4203(01)00049-4)
- Cincinelli, A., Stortini, A. M., Checchini, L., Martellini, T., Bubba, M. D., & Lepri, L. (2005). Enrichment of organic pollutants in the sea surface microlayer (SML) at Terra Nova Bay, Antarctica: influence of SML on superficial snow composition. *Journal of Environmental Monitoring*, 7(12), 1305. <https://doi.org/10.1039/b507321a>
- Comber, S., Deviller, G., Wilson, I., Peters, A., Merrington, G., Borrelli, P., & Baken, S. (2022). Sources of copper into the European aquatic environment. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 19(4), 1031–1047. <https://doi.org/10.1002/ieam.4700>

- Covelli, S., Faganeli, J., Horvat, M., & Brambati, A. (2001). Mercury contamination of coastal sediments as the result of long-term cinnabar mining activity (Gulf of Trieste, northern Adriatic sea). *Applied Geochemistry*, 16(5), 541–558. [https://doi.org/10.1016/s0883-2927\(00\)00042-1](https://doi.org/10.1016/s0883-2927(00)00042-1)
- Cranston, R. E., & Murray, J. W. (1980). Chromium species in the Columbia River and estuary1. *Limnology and Oceanography*, 25(6), 1104–1112. <https://doi.org/10.4319/lo.1980.25.6.1104>
- Cukrov, N., Frančičković-Bilinski, S., Hlača, B., & Barišić, D. (2011). A recent history of metal accumulation in the sediments of Rijeka harbor, Adriatic Sea, Croatia. *Marine Pollution Bulletin*, 62(1), 154–167. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2010.08.020>
- Cukrov, N., Cindrić, A., Omanović, D., & Cukrov, N. (2024). Spatial distribution, ecological risk assessment, and source identification of metals in sediments of the Krka River Estuary (Croatia). *Sustainability*, 16(5), 1800. <https://doi.org/10.3390/su16051800>
- Cukrov, N., Cukrov, N., & Omanović, D. (2024). Early diagenetic processes in the sediments of the Krka River estuary. *Journal of Marine Science and Engineering*, 12(3), 466. <https://doi.org/10.3390/jmse12030466>
- Cullen, J. T., & Maldonado, M. T. (2012). Biogeochemistry of cadmium and its release to the environment. *Metal Ions in Life Sciences*, 11, 31–62. https://doi.org/10.1007/978-94-007-5179-8_2
- Cullen, J.T., & McAlister, J. (2017). 2. Biogeochemistry of Lead. Its Release to the Environment and Chemical Speciation. *Lead – Its Effects on Environment and Health*, pp.21–48. <https://doi.org/10.1515/9783110434330-002>
- Cushman-Roisin, B., Gačić, M., Poulain, P.-M., & Artegiani, A. (2001). Physical oceanography of the Adriatic Sea: Past, present and future. *Kluwer Academic Publishers*.
- Čalić, M., Carić, M., Kršinić, F., Jasprica, N., & Pećarević, M. (2013). Controlling factors of phytoplankton seasonal succession in oligotrophic Mali Ston Bay (south-eastern Adriatic). *Environmental Monitoring and Assessment*, 185(9), 7543–7563. <https://doi.org/10.1007/s10661-013-3118-2>
- D'Amore, T., Lo Magro, S., Vita, V., & Di Taranto, A. (2022). Optimization and validation of a high throughput UHPLC-MS/MS method for determination of the EU regulated lipophilic marine

toxins and occurrence in fresh and processed shellfish. *Marine Drugs*, 20(3), 173. <https://doi.org/10.3390/md20030173>

Dai, R., Wen, Z., Hong, H., Browning, T. J., Hu, X., Chen, Z., Liu, X., Dai, M., Morel, F. M. M., & Shi, D. (2025). Eukaryotic phytoplankton drive a decrease in primary production in response to elevated CO₂ in the tropical and subtropical oceans. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 122(11), e2423680122. <https://doi.org/10.1073/pnas.2423680122>

Dale, A. W., Nickelsen, L., Scholz, F., Hensen, C., Oschlies, A., & Wallmann, K. (2015). A revised global estimate of dissolved iron fluxes from marine sediments. *Global Biogeochemical Cycles*, 29(5), 691–707. <https://doi.org/10.1002/2014gb005017>

De Giovanni, A., Abondio, P., Frapiccini, E., Luiselli, D., & Marini, M. (2022). Meta-Analysis of a new georeferenced database on polycyclic aromatic hydrocarbons in Western and Central Mediterranean seafood. *Applied Sciences*, 12(6), 2776. <https://doi.org/10.3390/app12062776>

De Hoffmann, E., & Stroobant, V. (2007). *Mass spectrometry: Principles and applications* (3rd ed.). John Wiley & Sons.

De Vos, J., Stoll, D., Buckenmaier, S., Eeltink, S., & Grinias, J. P. (2021). Advances in ultra-high-pressure and multi-dimensional liquid chromatography instrumentation and workflows. *Analytical Science Advances*, 2(3–4), 171–192. <https://doi.org/10.1002/ansa.202100007>

Diaz, R. J., & Rosenberg, R. (2008). Spreading dead zones and consequences for marine ecosystems. *Science*, 321(5891), 926–929. <https://doi.org/10.1126/science.1156401>

Dolenec, T., Faganeli, J., & Pirc, S. (1998). Major, minor and trace elements in surficial sediments from the open Adriatic Sea: a regional geochemical study. *Geologia Croatica*, 51(1), 59–73.

Doney, S. C., Busch, D. S., Cooley, S. R., & Kroeker, K. J. (2020). The impacts of ocean acidification on marine ecosystems and reliant human communities. *Annual Review of Environment and Resources*, 45(1), 83–112. <https://doi.org/10.1146/annurev-environ-012320-083019>

Driscoll, C. T., Mason, R. P., Chan, H. M., Jacob, D. J., & Pirrone, N. (2013). Mercury as a global pollutant: sources, pathways, and effects. *Environmental Science & Technology*, 47(10), 4967–4983. <https://doi.org/10.1021/es305071v>

- Droghini, E., Annibaldi, A., Prezioso, E., Tramontana, M., Frapiccini, E., De Marco, R., Illuminati, S., Truzzi, C., & Spagnoli, F. (2019). Mercury content in central and southern Adriatic sea sediments in relation to seafloor geochemistry and sedimentology. *Molecules*, 24(24), 4467. <https://doi.org/10.3390/molecules24244467>
- Du Laing, G., Rinklebe, J., Vandecasteele, B., Meers, E., & Tack, F. (2008). Trace metal behaviour in estuarine and riverine floodplain soils and sediments: A review. *The Science of the Total Environment*, 407(13), 3972–3985. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.07.025>
- Duan, Y., Wang, Z., Gou, W., Wang, Z., Li, Q., & Li, W. (2025). Stable zinc isotopes as tracers in environmental geochemistry. *Earth-Science Reviews*, 269, 105185. <https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2025.105185>
- Duinker, A., Bergslien, M., Strand, Ø., Olseng, C., & Svardal, A. (2006). The effect of size and age on depuration rates of diarrhetic shellfish toxins (DST) in mussels (*Mytilus edulis* L.). *Harmful Algae*, 6(2), 288–300. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2006.10.003>
- Duran, R., & Cravo-Laureau, C. (2016). Role of environmental factors and microorganisms in determining the fate of polycyclic aromatic hydrocarbons in the marine environment. *FEMS Microbiology Reviews*, 40(6), 814–830. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuw031>
- Eggleton, J., & Thomas, K. V. (2004). A review of factors affecting the release and bioavailability of contaminants during sediment disturbance events. *Environment International*, 30(7), 973–980. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2004.03.001>
- El-Saadani, Z., Mingqi, W., He, Z., Hamukwaya, S., Wahed, M. A., & Khatita, A. A. (2022). Environmental geochemistry and fractionation of cadmium metal in surficial bottom sediments and water of the Nile River, Egypt. *Toxics*, 10(5), 221. <https://doi.org/10.3390/toxics10050221>
- El-Sharkawy, M., Alotaibi, M. O., Li, J., Du, D., & Mahmoud, E. (2025). Heavy metal pollution in Coastal Environments: Ecological Implications and Management Strategies: A review. *Sustainability*, 17(2), 701. <https://doi.org/10.3390/su17020701>
- Eldos, H. I., Zouari, N., Saeed, S., & Al-Ghouti, M. A. (2022). Recent advances in the treatment of PAHs in the environment: Application of nanomaterial-based technologies. *Arabian Journal of Chemistry*, 15(7), 103918. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2022.103918>

Estudillo, R. A. (1984). Red tides and paralytic shellfish poisoning in the Philippines. Dostupno na <https://docslib.org/doc/3895154/red-tides-and-paralytic-shellfish-poisoning-in-the-philippines>

European Environment Agency (EEA). (2023). *From source to sea — The untold story of marine litter: Human needs — the drivers of marine litter*. European Environment Agency. Dostupno na <https://www.eea.europa.eu/en/analysis/publications/from-source-to-sea-the-untold-story-of-marine-litter/human-needs-the-drivers-of-marine-litter>

European Environment Agency (EEA). (2025). *Pollution of ecosystems (The Europe's Environment 2025 thematic briefing)*. European Environment Agency. Dostupno na <https://www.eea.europa.eu/en/europe-environment-2025/thematic-briefings/biodiversity-and-ecosystems/pollution-of-ecosystems>

European Food Safety Authority (EFSA). (2008). Marine biotoxins in shellfish – Okadaic acid and analogues. *EFSA Journal*, 6(9), 589. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2008.589>

European Food Safety Authority. (2009). Marine biotoxins in shellfish – Saxitoxin group. Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain. *EFSA Journal*, 7(4), 1019. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2009.1019>

European Food Safety Authority (EFSA). (2009). Marine biotoxins in shellfish – Domoic acid. *EFSA Journal*, 7(7), 1181. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2009.1181>

European Food Safety Authority (EFSA). (2010). Scientific Opinion on marine biotoxins in shellfish – Cyclic imines (spirolides, gymnodimines, pinnatoxins and pteriatoxins). *EFSA Journal*, 8(6), 1628. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2010.1628>

European Food Safety Authority (EFSA). (2014). Scientific opinion on the risks to public health related to the presence of chromium in food and drinking water. *EFSA Journal*, 12(3), 3595. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2014.3595>

European Food Safety Authority Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). (2009). Marine biotoxins in shellfish – Pectenotoxin group. *EFSA Journal*, 7(6), 1109. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2009.1109>

European Food Safety Authority Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). (2009). Scientific opinion on marine biotoxins in shellfish – Summary on regulated marine biotoxins. *EFSA Journal*, 7(9), 1306. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2009.1306>

European Food Safety Authority Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). (2015). *Scientific opinion on the risks to public health related to the presence of nickel in food and drinking water*. *EFSA Journal*, 13(2), 4002. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2015.4002>

Europska komisija. (2017). Direktiva Komisije (EU) 2017/845 od 17. svibnja 2017. o izmjeni Direktive 2008/56/EZ Europskog parlamenta i Vijeća u pogledu okvirnog popisa elemenata koje treba uzeti u obzir pri pripremi pomorskih strategija. Dostupno na <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/?uri=CELEX:32017L0845>

Europska komisija. (2017). Odluka Komisije (EU) 2017/848 od 17. svibnja 2017. o utvrđivanju kriterija i metodoloških standarda za dobro stanje okoliša morskih voda, kao i specifikacija i standardiziranih metoda za praćenje i procjenu te o stavljanju izvan snage Odluke 2010/477/EU. *Službeni list Europske unije*, L125, 43–74. Dostupno na <https://eur-lex.europa.eu/eli/dec/2017/848/oj>

Europska komisija. (2017). Odluka Komisije (EU) 2017/848 od 17. svibnja 2017. o utvrđivanju kriterija i metodoloških standarda za dobro stanje okoliša morskih voda te specifikacija i standardiziranih metoda za praćenje i procjenu te o stavljanju izvan snage Odluke 2010/477/EU. *Službeni list Europske unije*, L 125, 43–74. Dostupno na <https://eur-lex.europa.eu/eli/dec/2017/848/oj?locale=hr>

Europska komisija. (2019). Provedbena uredba Komisije (EU) 2019/627 od 15. ožujka 2019. o utvrđivanju ujednačenog praktičnog uređenja za provedbu službenih kontrola proizvoda životinjskog podrijetla namijenjenih prehrani ljudi u skladu s Uredbom (EU) 2017/625 Europskog parlamenta i Vijeća i o izmjeni Uredbe Komisije (EZ) br. 2074/2005 u pogledu službenih kontrola. *Službeni list Europske unije*, L 131, 51–100. Dostupno na https://eur-lex.europa.eu/eli/reg_impl/2019/627/oj?locale=hr

Europska komisija. (2021). Delegirana uredba Komisije (EU) 2021/1374 od 12. travnja 2021. o izmjeni Priloga III. Uredbi (EZ) br. 853/2004 Europskog parlamenta i Vijeća o posebnim

higijenskim zahtjevima za hranu životinjskog podrijetla. *Službeni list Europske unije*, L 297, 1–15. Dostupno na <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/?uri=CELEX:32021R1374>

Europska komisija. (2021). Provedbena uredba Komisije (EU) 2021/1709 od 23. rujna 2021. o izmjeni Provedbene uredbe (EU) 2019/627 u pogledu metoda analize morskih biotoksina i pravila za rad laboratorija koji provode službene kontrole živih školjkaša. *Službeni list Europske unije*, L 339, 84–88. Dostupno na <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32021R1709>

Europska komisija. (2023). Uredba Komisije (EU) 2023/915 od 25. travnja 2023. o utvrđivanju najvećih dopuštenih količina određenih onečišćujućih tvari u hrani i stavljanju izvan snage Uredbe (EZ) br. 1881/2006. *Službeni list Europske Unije*. Dostupno na <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/?uri=CELEX:32023R0915>

Europska komisija. (2024). Uredba Komisije (EU) 2024/1756 of 25. lipnja 2024 o izmjeni i ispravku Uredbe (EU) 2023/915 o najvećim dopuštenim količinama određenih kontaminanata u hrani. *Službeni list Europske unije*. Dostupno na <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/?uri=CELEX:32024R1756>

Europski parlament i Vijeće Europske unije. (2000). Direktiva 2000/60/EZ Europskog parlamenta i Vijeća od 23. listopada 2000. o uspostavi okvira za djelovanje Zajednice u području vodne politike. *Službeni list Europskih zajednica*. Dostupno na <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32000L0060>

Europski parlament i Vijeće Europske unije. (2004). Uredba (EZ) br. 853/2004 Europskog parlamenta i Vijeća od 29. travnja 2004. o utvrđivanju posebnih higijenskih pravila za hranu životinjskog podrijetla (pročišćeni tekst od 18. studenoga 2025.). *Službeni list Europske unije*, L 139, 55–205. EUR-Lex. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/ALL/?uri=celex:32004R0853>

Europski parlament i Vijeće Europske unije. (2008). Direktiva 2008/105/EZ Europskog parlamenta i Vijeća od 16. prosinca 2008. o standardima kvalitete okoliša u području vodne politike i o izmjeni i kasnijem stavljanju izvan snage Direktiva Vijeća 82/176/EEZ, 83/513/EEZ, 84/156/EEZ, 84/491/EEZ, 86/280/EEZ i izmjeni Direktive 2000/60/EZ Europskog parlamenta i Vijeća. *Službeni list Europske Unije*. Dostupno na <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32008L0105>

Europski parlament i Vijeće Europske unije. (2008). Direktiva 2008/56/EZ Europskog parlamenta i Vijeća od 17. lipnja 2008. o uspostavi okvira za djelovanje Zajednice u području politike morskog okoliša (Okvirna direktiva o morskoj strategiji). *Službeni list Europske Unije*. Dostupno na <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/?uri=CELEX:32008L0056>

Europski parlament i Vijeće Europske unije. (2013). Direktiva 2013/39/EU Europskog parlamenta i Vijeća od 12. kolovoza 2013. o izmjeni Direktiva 2000/60/EZ i 2008/105/EZ u pogledu prioritetnih tvari u području vodne politike. *Službeni list Europske Unije*. Dostupno na <https://eur-lex.europa.eu/eli/dir/2013/39/oj>

Europski parlament i Vijeće Europske unije. (2026). Direktiva (EU) 2026/805 Europskog parlamenta i Vijeća od 30. ožujka 2026. o izmjeni Direktive 2000/60/EZ o uspostavi okvira za djelovanje Zajednice u području vodne politike, Direktive 2006/118/EZ o zaštiti podzemnih voda od onečišćenja i pogoršanja stanja i Direktive 2008/105/EZ o standardima kvalitete okoliša u području vodne politike. *Službeni list Europske unije, L, 2026/805*. Dostupno na <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/?uri=CELEX:32026L0805>

European Union Reference Laboratory for Marine Biotoxins. (2015). *EU-harmonised standard operating procedure for determination of lipophilic marine biotoxins in molluscs by LC-MS/MS* (Version 5). Spanish Agency for Consumer Affairs, Food Safety and Nutrition (AESAN). Dostupno na https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/laboratorios/LNRBM/ARCHIVO2EU-Harmonised-SOP-LIPO-LCMSMS_Version5.pdf

European Union Reference Laboratory for Monitoring of Marine Biotoxins (EURLMB). (2020). *EURLMB SOP for the analysis of Paralytic shellfish toxins (PST) by precolumn HPLC-FLD according to OMA AOAC 2005.06 (Version 1, June 2020)*. Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN). Dostupno na https://www.aesan.gob.es/en/CRLMB/docs/docs/metodos_analiticos_de_desarrollo/PST_OMA-AOAC2005-06_HPLC-FLD_EURLMB.pdf

FAO, IOC-UNESCO, & IAEA. (2023). Joint FAO-IOC-IAEA technical guidance for the implementation of early warning systems for harmful algal blooms. (Fisheries and Aquaculture Technical Paper No. 690). Rome: FAO. Dostupno na

<https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/11c3329e-ee26-4d05-9bf7-f8998c58dd7f/content>

Farrington, J., & Takada, H. (2014). Persistent organic pollutants (POPs), polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), and plastics: examples of the status, trend, and cycling of organic chemicals of environmental concern in the ocean. *Oceanography*, 27(1), 196–213. <https://doi.org/10.5670/oceanog.2014.23>

Fattorini, D., Notti, A., Di Mento, R., Cicero, A. M., Gabellini, M., Russo, A., & Regoli, F. (2008). Seasonal, spatial and inter–annual variations of trace metals in mussels from the Adriatic sea: A regional gradient for arsenic and implications for monitoring the impact of off–shore activities. *Chemosphere*, 72(10), 1524–1533. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.04.071>

Fattorini, D. (2025). Bioaccumulation of trace elements in mussels as sentinels of environmental pollution in the Mediterranean Sea: A review. *Explora Environment and Resource*, 2(2), 8078. <https://doi.org/10.36922/eer.8078>

Feki, W., Hamza, A., Frossard, V., Abdennadher, M., Hannachi, I., Jacquot, M., Belhassen, M., & Aleya, L. (2012). What are the potential drivers of blooms of the toxic dinoflagellate *Karenia selliformis*? A 10-year study in the Gulf of Gabes, Tunisia, southwestern Mediterranean Sea. *Harmful Algae*, 23, 8–18. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2012.12.001>

Femi-Oloye, O. P., Sutton, R. T., Gordon, H. D., Das, A. A., Morenikeji, G. O., Odorisio, M. K., Francestscu, O. D., Myers, R. L., & Oloye, F. F. (2024). An assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons using estimation programs. *Toxics*, 12(8), 592. <https://doi.org/10.3390/toxics12080592>

Finch, S. C., Harwood, D. T., Boundy, M. J., & Selwood, A. I. (2024). A review of cyclic imines in shellfish: Worldwide occurrence, toxicity and assessment of the risk to consumers. *Marine Drugs*, 22(3), 129. <https://doi.org/10.3390/md22030129>

Folk, R. L., & Ward, W. C. (1957). Brazos River bar [Texas]; a study in the significance of grain size parameters. *Journal of Sedimentary Research*, 27(1), 3–26. <https://doi.org/10.1306/74d70646-2b21-11d7-8648000102c1865d>

- Folk, R. L. (1954). The Distinction between Grain Size and Mineral Composition in Sedimentary–Rock Nomenclature. *The Journal of Geology*, 62(4), 344–359. <https://doi.org/10.1086/626171>
- Förstner, U., & Wittmann, G. T. W. (1981). Metal Pollution in the Aquatic Environment (2nd ed.). Springer-Verlag, Berlin. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-69385-4>
- Frapiccini, E., De Marco, R., Grilli, F., Marini, M., Annibaldi, A., Prezioso, E., Tramontana, M., & Spagnoli, F. (2024). Anthropogenic contribution, transport, and accumulation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in sediments of the continental shelf and slope in the Mediterranean Sea. *Chemosphere*, 352, 141285. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2024.141285>
- Fujiki, H., Sueoka, E., Watanabe, T., Komori, A., & Suganuma, M. (2023). Cancer progression by the okadaic acid class of tumor promoters and endogenous protein inhibitors of PP2A, SET and CIP2A. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 149(11), 9425–9433. <https://doi.org/10.1007/s00432-023-04800-4>
- Furdek Turk, M., Vrana, I., Milačić, R., Ščančar, J., Dautović, J., Ciglencečki, I., & Mikac, N. (2024). Spatial and temporal distribution of tributyltin in the coastal environment of the Croatian Adriatic (2016-2023): TBT remains a cause for concern. *Frontiers in Marine Science*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmars.2024.1422057>
- Galasso, F., Frank, A. B., & Foster, W. J. (2025). Heavy metal toxicity and its role as a major driver of past biodiversity crises. *Communications Earth & Environment*, 6(1). <https://doi.org/10.1038/s43247-025-02781-5>
- Gan, N., Martin, L., & Xu, W. (2021). Impact of polycyclic aromatic hydrocarbon accumulation on oyster health. *Frontiers in Physiology*, 12, 734463. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.734463>
- García-Altare, M., Casanova, A., Bane, V., Diogène, J., Furey, A., & De La Iglesia, P. (2014). Confirmation of Pinnatoxins and Spirolides in Shellfish and Passive Samplers from Catalonia (Spain) by Liquid Chromatography Coupled with Triple Quadrupole and High-Resolution Hybrid Tandem Mass Spectrometry. *Marine Drugs*, 12(6), 3706–3732. <https://doi.org/10.3390/md12063706>

García-Juan, A., Armenta, S., Herreros, R., & Pardo, O. (2025). A two-step LC-HRMS strategy for targeted and suspect screening of lipophilic marine biotoxins in bivalve molluscs. *Journal of Food Composition and Analysis*, 149, 108684. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2025.108684>

Genchi, G., Carocci, A., Lauria, G., Sinicropi, M.S. and Catalano, A. (2020). Nickel: Human Health and Environmental Toxicology. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(3). <https://doi.org/10.3390/ijerph17030679>.

Genchi, G., Lauria, G., Catalano, A., Carocci, A., & Sinicropi, M. S. (2022). Arsenic: a review on a great health issue worldwide. *Applied Sciences*, 12(12), 6184. <https://doi.org/10.3390/app12126184>

Geng, N., Xia, Y., Li, D., Bai, F., & Xu, C. (2024). Migration and Transformation of Heavy metal and its fate in intertidal sediments: a review. *Processes*, 12(2), 311. <https://doi.org/10.3390/pr12020311>

George, S. E., & Wan, Y. (2023). Microbial functionalities and immobilization of environmental lead: Biogeochemical and molecular mechanisms and implications for bioremediation. *Journal of Hazardous Materials*, 457, 131738. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.131738>

German, C. R., Casciotti, K. A., Dutay, J., Heimbürger, L. E., Jenkins, W. J., Measures, C. I., Mills, R. A., Obata, H., Schlitzer, R., Tagliabue, A., Turner, D. R., & Whitby, H. (2016). Hydrothermal impacts on trace element and isotope ocean biogeochemistry. *Philosophical Transactions of the Royal Society a Mathematical Physical and Engineering Sciences*, 374(2081), 20160035. <https://doi.org/10.1098/rsta.2016.0035>

Gerssen, A., Klijnstra, M. D., & Cubbon, S. (2013). *UPLC-MS/MS method for the routine quantification of regulated and non-regulated lipophilic marine biotoxins in shellfish (Application note No. 720004601)*. Waters Corporation. Dostupno na <https://www.waters.com/nextgen/us/en/library/application-notes/2013/uplc-ms-ms-method-for-routine-quantification-of-lipophilic-marine-biotoxins-in-shellfish.html>

Ghorab, M. A. (2018). Environmental pollution by heavy metals in the aquatic ecosystems of Egypt. *Open Access Journal of Toxicology*, 3(1). <https://doi.org/10.19080/oajt.2018.03.555603>

- Giglio, F., Romano, S., Albertazzi, S., Chiarini, F., Ravaioli, M., Ligi, M., & Capotondi, L. (2020). Sediment dynamics of the Neretva Channel (Croatia Coast) inferred by chemical and physical proxies. *Applied Sciences*, 10(3), 807. <https://doi.org/10.3390/app10030807>
- Gil, E. P. (2014). Water. In *Nanostructure science and technology* (pp. 63–92). https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0676-5_3
- Gledhill, M. (2012). The organic complexation of iron in the marine environment: a review. *Frontiers in Microbiology*, 3. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00069>
- Goldberg, E. D. (1975). The mussel watch – A first step in global marine monitoring. *Marine Pollution Bulletin*, 6(7), 111. [https://doi.org/10.1016/0025-326x\(75\)90271-4](https://doi.org/10.1016/0025-326x(75)90271-4)
- Gómez -Delgado, A. I., Tibon, J., Silva, M. S., Lundebye, A., Agüera, A., Rasinger, J. D., Strohmeier, T., & Sele, V. (2022). Seasonal variations in mercury, cadmium, lead and arsenic species in Norwegian blue mussels (*Mytilus edulis* L.) – Assessing the influence of biological and environmental factors. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 76, 127110. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2022.127110>
- Griscom, S. B., & Fisher, N. S. (2004). Bioavailability of sediment-bound metals to marine bivalve molluscs: An overview. *Estuaries*, 27(5), 826–838. <https://doi.org/10.1007/bf02912044>
- Grmasha, R. A., Stenger-Kovács, C., Al-Sareji, O. J., Al-Juboori, R. A., Meiczinger, M., Andredaki, M., Idowu, I. A., Majdi, H. S., Hashim, K., & Al-Ansari, N. (2024). Temporal and spatial distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the Danube River in Hungary. *Scientific Reports*, 14(1), 8318. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-58793-2>
- Gross, J. H. (2017). *Mass spectrometry: A textbook* (3rd ed.). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-54398-7>
- Guo, W., He, M., Yang, Z., Lin, C., Quan, X., & Wang, H. (2007). Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in water, suspended particulate matter and sediment from Daliao River watershed, China. *Chemosphere*, 68(1), 93–104. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.12.072>

Hallegraeff, G. M. (2010). Ocean climate change, phytoplankton community responses, and harmful algal blooms: a formidable predictive challenge. *Journal of Phycology*, 46(2), 220–235. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2010.00815.x>

Hallegraeff, G., Enevoldsen, H., & Zingone, A. (2021). Global harmful algal bloom status reporting. *Harmful Algae*, 102, 101992. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2021.101992>

Harmesa, H., Wahyudi, A. J., Wong, K. H., & Ikhsani, I. Y. (2024). The behaviour of particulate trace metals in marine systems: A review. *Marine Environmental Research*, 202, 106729. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2024.106729>

Harris, C. K., Sherwood, C. R., Signell, R. P., Bever, A. J., & Warner, J. C. (2008). Sediment dispersal in the northwestern Adriatic Sea. *Journal of Geophysical Research Atmospheres*, 113(C11). <https://doi.org/10.1029/2006jc003868>

Hassoun, A. E. R., Ujević, I., Mahfouz, C., Fakhri, M., Roje-Busatto, R., Jemaa, S., & Nazlić, N. (2020). Occurrence of domoic acid and cyclic imines in marine biota from Lebanon-Eastern Mediterranean Sea. *The Science of the Total Environment*, 755(Pt 1), 142542. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142542>

Hassoun, A. E. R., Mojtahid, M., Merheb, M., Lionello, P., Gattuso, J., & Cramer, W. (2025). Climate change risks on key open marine and coastal mediterranean ecosystems. *Scientific Reports*, 15(1), 24907. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-07858-x>

Hatzianestis, I., Parinos, C., Bouloubassi, I., & Gogou, A. (2020). Polycyclic aromatic hydrocarbons in surface sediments of the Aegean Sea (eastern Mediterranean Sea). *Marine Pollution Bulletin*, 153, 111030. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111030>

Hawco, N. J., Tagliabue, A., & Twining, B. S. (2022). Manganese limitation of phytoplankton physiology and productivity in the Southern Ocean. *Global Biogeochemical Cycles*, 36(11), e2022GB007382. <https://doi.org/10.1029/2022gb007382>

Hernandez-Jerez, A. F., Adriaanse, P., Aldrich, A., Berny, P., Coja, T., Duquesne, S., Focks, A., Millet, M., Pelkonen, O., Pieper, S., Tiktak, A., Topping, C. J., Widenfalk, A., Wilks, M., Wolterink, G., Angeli, K., Recordati, C., Van Duursen, M., Aiassa, E., Lanzoni, A., Lostia, A., Martino, L., Guajardo, I.P.M., Panzarea, M., Terron, A., & Marinovich, M. (2023). Development

of adverse outcome pathways relevant for the identification of substances having endocrine disruption properties Uterine adenocarcinoma as adverse outcome. *EFSA Journal*, 21(2), e07744. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2023.7744>

Hess, P., Abadie, E., Hervé, F., Berteaux, T., Séchet, V., Araújo, R., Molgó, J., Zakarian, A., Sibat, M., Rundberget, T., Miles, C. O., & Amzil, Z. (2013). Pinnatoxin G is responsible for atypical toxicity in mussels (*Mytilus galloprovincialis*) and clams (*Venerupis decussata*) from Ingril, a French Mediterranean lagoon. *Toxicon*, 75, 16–26. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2013.05.001>

Hines, M. E., Horvat, M., Faganeli, J., Bonzongo, J. J., Barkay, T., Major, E. B., Scott, K. J., Bailey, E. A., Warwick, J. J., & Lyons, W. (2000). Mercury Biogeochemistry in the Idrija River, Slovenia, from above the Mine into the Gulf of Trieste. *Environmental Research*, 83(2), 129–139. <https://doi.org/10.1006/enrs.2000.4052>

Hsieh, Y., & Bugna, G. (2025). Quantify mercury sulfide in sediments for bioavailability assessment. *Water*, 17(18), 2759. <https://doi.org/10.3390/w17182759>

Holčapek, M., Jirásko, R., & Lísa, M. (2012). Recent developments in liquid chromatography–mass spectrometry and related techniques. *Journal of Chromatography A*, 1259, 3–15. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2012.08.072>

Hollender, J., Schymanski, E. L., Singer, H. P., & Ferguson, P. L. (2017). Nontarget Screening with High Resolution Mass Spectrometry in the Environment: Ready to Go? *Environmental Science & Technology*, 51(20), 11505–11512. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b02184>

Homoky, W. B., Weber, T., Berelson, W. M., Conway, T. M., Henderson, G. M., Van Hulten, M., Jeandel, C., Severmann, S., & Tagliabue, A. (2016). Quantifying trace element and isotope fluxes at the ocean–sediment boundary: a review. *Philosophical Transactions of the Royal Society a Mathematical Physical and Engineering Sciences*, 374(2081), 20160246. <https://doi.org/10.1098/rsta.2016.0246>

Homoky, W. B., Conway, T. M., John, S. G., König, D., Deng, F., Tagliabue, A., & Mills, R. A. (2021). Iron colloids dominate sedimentary supply to the ocean interior. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 118(13). <https://doi.org/10.1073/pnas.2016078118>

Horvat, M., Covelli, S., Faganeli, J., Logar, M., Mandić, V., Rajar, R., Širca, A., & Žagar, D. (1999). Mercury in contaminated coastal environments; a case study: the Gulf of Trieste. *The Science of the Total Environment*, 237–238, 43–56. [https://doi.org/10.1016/s0048-9697\(99\)00123-0](https://doi.org/10.1016/s0048-9697(99)00123-0)

Horowitz, A. (1991). A primer on sediment-trace element chemistry. *Antarctica a Keystone in a Changing World*. <https://doi.org/10.3133/ofr9176>

Hu, T., Doyle, J., Jackson, D., Marr, J., Nixon, E., Pleasance, S., Quilliam, M. A., Walter, J. A., & Wright, J. L. C. (1992). Isolation of a new diarrhetic shellfish poison from Irish mussels. *Journal of the Chemical Society Chemical Communications*, 1, 39. <https://doi.org/10.1039/c39920000039>

Hu, H., Li, X., Gao, X., Wang, L., Li, B., Zhan, F., He, Y., Qin, L., & Liang, X. (2024). A review on the multifaceted effects of δ -MnO₂ on heavy metals, organic matter, and other soil components. *RSC Advances*, 14(51), 37752–37762. <https://doi.org/10.1039/d4ra06005a>

Huljek, L., Palinkaš, S. S., Fiket, Ž., & Fajković, H. (2021). Environmental aspects of historical Ferromanganese tailings in the Šibenik Bay, Croatia. *Water*, 13(21), 3123. <https://doi.org/10.3390/w13213123>

Hussein, A., & Khaled, A. (2014). Determination of metals in tuna species and bivalves from Alexandria, Egypt. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, 40(1), 9–17. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2014.02.003>

Ilijanić, N., Miko, S., Petrincec, B., & Franić, Z. (2014). Metal deposition in deep sediments from the Central and South Adriatic Sea. *Geologia Croatica*, 67(3), 185–205. <https://doi.org/10.4154/gc.2014.14>

International Agency for Research on Cancer (IARC). (2010). *Some Non-heterocyclic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Some Related Exposures*. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Volume 92. Lyon, France. Dostupno na <https://publications.iarc.who.int/publications/media/download/2841/a076b09df49aeeb8c7922378fe4f372fda3edd13.pdf>

International Agency for Research on Cancer (IARC). (2012). *Nickel and nickel compounds (IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Vol. 100C)*. World Health

Organization. Dostupno na
https://publications.iarc.who.int/_publications/media/download/1745/7262b746839f643dc8bd9de42d696ef4b5492240.pdf

International Agency for Research on Cancer (IARC). (2012). *Arsenic, metals, fibres, and dusts (Vol. 100C). IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans*. Dostupno na
https://publications.iarc.who.int/_publications/media/download/5217/3c94c5bcd7d54aad5546e50a1306fd8d602a1d17.pdf

International Council for the Exploration of the Sea (ICES). (2024). Assessment criteria for contaminants in biota. OSPAR Hazardous Substances Assessment Tool. Dostupno na
https://dome.ices.dk/ohat/trDocuments/2024/help_ac_biota_contaminants.html

Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services (IPBES). (2019). *Global Assessment Report on Biodiversity and Ecosystem Services. Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services*. Dostupno na
<https://ipbes.net/global-assessment>

İrkin, L. C., & Öztürk, Ş. (2021). Seasonal Examination of Heavy Metal Levels in Muscle Tissues of European pilchard (*Sardina pilchardus*, Walbaum 1792). *Acta Natura Et Scientia*, 2(1), 29–34.
<https://doi.org/10.29329/actanatsci.2021.314.5>

International Union for Conservation of Nature (IUCN) and United Nations Environment Programme (UNEP). (2011). *Neretva River Delta – Ecological Assessment Report. Gland, Switzerland: IUCN*. Dostupno na:
<https://portals.iucn.org/library/sites/library/files/documents/Rep-2011-018.pdf>

Jackson, D. A. (1993). Stopping rules in principal components analysis: A comparison of heuristical and statistical approaches. *Ecology*, 74(8), 2204–2214. <https://doi.org/10.2307/1939574>

James, K. J., Carey, B., O'halloran, J., Van Pelt, F. N. a. M., & Škrabáková, Z. (2010). Shellfish toxicity: human health implications of marine algal toxins. *Epidemiology and Infection*, 138(7), 927–940. <https://doi.org/10.1017/s0950268810000853>

Jasprica, N., & Car, A. (2003). Toxic and potentially toxic phytoplankton species in the Mali Ston Bay (eastern Adriatic). *Naše more*, 50(1–2), 68–71.

Jauffrais, T., Marcaillou, C., Herrenknecht, C., Truquet, P., Séchet, V., Nicolau, E., Tillmann, U., & Hess, P. (2012). Azaspiracid accumulation, detoxification and biotransformation in blue mussels (*Mytilus edulis*) experimentally fed *Azadinium spinosum*. *Toxicon*, 60(4), 582–595. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2012.04.351>

Jickells, T. D., An, Z. S., Andersen, K. K., Baker, A. R., Bergametti, G., Brooks, N., Cao, J. J., Boyd, P. W., Duce, R. A., Hunter, K. A., Kawahata, H., Kubilay, N., laRoche, J., Liss, P. S., Mahowald, N., Prospero, J. M., Ridgwell, A. J., Tegen, I., & Torres, R. (2005). Global iron connections between desert dust, ocean biogeochemistry, and climate. *Science*, 308(5718), 67–71. <https://doi.org/10.1126/science.1105959>

Jeong, H., Ali, W., Zinck, P., Souissi, S., & Lee, J. (2024). Toxicity of methylmercury in aquatic organisms and interaction with environmental factors and coexisting pollutants: A review. *The Science of the Total Environment*, 943, 173574. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.173574>

Joksimović, D., Tomić, I., Stanković, A. R., Jović, M., & Stanković, S. (2011). Trace metal concentrations in Mediterranean blue mussel and surface sediments and evaluation of the mussels quality and possible risks of high human consumption. *Food Chemistry*, 127(2), 632–637. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.01.057>

Joksimović, D., Kljajić, Z., & Stanković, S. (2012). Concentrations of heavy metals (Zn, Cu, Pb, Cd and As) in the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis* from the Montenegrin coast of the southeastern Adriatic Sea. *Water Research and Management*, 2(3), 3–9.

Jurina, I., Ivanić, M., Troškot-Čorbić, T., Barišić, D., Vdović, N., & Sondi, I. (2013). Activity concentrations and distribution of radionuclides in surface and core sediments of the Neretva Channel (Adriatic Sea, Croatia). *Geologia Croatica*, 66(2), 143–150. <https://doi.org/10.4154/gc.2013.11>

Jurina, I., Ivanić, M., Vdović, N., Troškot-Čorbić, T., Lojen, S., Mikac, N., & Sondi, I. (2015). Deposition of trace metals in sediments of the deltaic plain and adjacent coastal area (the Neretva River, Adriatic Sea). *Journal of Geochemical Exploration*, 157, 120–131. <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2015.06.005>

Kanduč, T., Šlejkovec, Z., Falnoga, I., Mori, N., Budič, B., Kovačić, I., Hamer, D. P., & Hamer, B. (2017). Environmental status of the NE Adriatic Sea, Istria, Croatia: Insights from mussel *Mytilus galloprovincialis* condition indices, stable isotopes and metal(loid)s. *Marine Pollution Bulletin*, 126, 525–534. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.09.052>

Kennish, M. J. (2022). Management Strategies to Mitigate Anthropogenic Impacts in Estuarine and Coastal Marine Environments: A Review. *Open Journal of Ecology*, 12(10), 667–688. <https://doi.org/10.4236/oje.2022.1210038>

Keyte, I. J., Harrison, R. M., & Lammel, G. (2013). Chemical reactivity and long-range transport potential of polycyclic aromatic hydrocarbons – a review. *Chemical Society Reviews*, 42(24), 9333. <https://doi.org/10.1039/c3cs60147a>

Kibler, S. (n.d.). *Alexandrium* blooms & saxitoxins in the marine food web of Alaska [Infografika]. *National Centers for Coastal Ocean Science (NCCOS)*. Dostupno na <https://coastalscience.noaa.gov/project/prevalence-of-paralytic-shellfish-toxins-in-marine-food-webs-of-prince-william-sound-and-kachemak-bay-alaska/>

Klink, A., Dambiec, M., & Polechońska, L. (2019). Trace metal speciation in sediments and bioaccumulation in *Phragmites australis* as tools in environmental pollution monitoring. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 16(12), 7611–7622. <https://doi.org/10.1007/s13762-019-02305-7>

Kljaković-Gašpić, Z., Bogner, D., & Ujević, I. (2007). Biomonitoring of trace metals (Cu, Cd, Cr, Hg, Pb, Zn) in mussels from Mali Ston Bay (eastern Adriatic coast). *Acta Adriatica*, 48(2), 185–198.

Kljaković-Gašpić, Z., Bogner, D., & Ujević, I. (2008). Trace metals (Cd, Pb, Cu, Zn and Ni) in sediment of the submarine pit Dragon ear (Soline Bay, Rogoznica, Croatia). *Environmental Geology*, 58(4). <https://doi.org/10.1007/s00254-008-1549-9>

Knopf, B., Fliedner, A., Radermacher, G., Rüdell, H., Paulus, M., Pirntke, U., & Koschorreck, J. (2020). Seasonal variability in metal and metalloid burdens of mussels: using data from the German

Environmental Specimen Bank to evaluate implications for long-term mussel monitoring programs. *Environmental Sciences Europe*, 32(1). <https://doi.org/10.1186/s12302-020-0289-7>

Konoki, K., Onoda, T., Watanabe, R., Cho, Y., Kaga, S., Suzuki, T., & Yotsu-Yamashita, M. (2013). In vitro acylation of okadaic acid in the presence of various bivalves' extracts. *Marine Drugs*, 11(2), 300–315. <https://doi.org/10.3390/md11020300>

Kotnik, J., Horvat, M., Tessier, E., Ogrinc, N., Monperrus, M., Amouroux, D., Fajon, V., Gibičar, D., Žižek, S., Sprovieri, F., & Pirrone, N. (2007). Mercury speciation in surface and deep waters of the Mediterranean Sea. *Marine Chemistry*, 107(1), 13–30. <https://doi.org/10.1016/j.marchem.2007.02.012>

Krock, B., Tillmann, U., Voß, D., Koch, B. P., Salas, R., Witt, M., Potvin, É., & Jeong, H. J. (2012). New azaspiracids in *Amphidomataceae* (*Dinophyceae*). *Toxicon*, 60(5), 830–839. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2012.05.007>

Krumbein, W. C. (1934). Size frequency distributions of sediments. *Journal of Sedimentary Research*, 4(2), 65–77. <https://doi.org/10.1306/d4268eb9-2b26-11d7-8648000102c1865d>

Kruskal, W.H. & Wallis, W.A. (1952). Use of ranks in one-criterion variance analysis. *Journal of the American Statistical Association*, 47, 583–621.

Kršinić, F., Čalić, M., & Carić, M. (2016). Population structure of planktonic protists and small metazoans in Mali Ston Bay (Adriatic Sea). *Acta Adriatica*, 57(1), 17–38.

Kubin, E., Menna, M., Mauri, E., Notarstefano, G., Mieruch, S., & Poulain, P. (2023). Heat content and temperature trends in the Mediterranean Sea as derived from Argo float data. *Frontiers in Marine Science*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmars.2023.1271638>

Kumar, M. R., Krishnan, K. A., & Vimexen, V. (2022). Effect of trace metal contamination in sediments on the bioaccumulation of bivalve *Meretrix meretrix*. *Marine Pollution Bulletin*, 176, 113422. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2022.113422>

Kurniawan, S. B., Pambudi, D. S. A., Ahmad, M. M., Alfanda, B. D., Imron, M. F., & Abdullah, S. R. S. (2022). Ecological impacts of ballast water loading and discharge: insight into the toxicity and accumulation of disinfection by-products. *Heliyon*, 8(3), e09107. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e09107>

- Kvrgić, K., Lešić, T., Džafić, N., & Pleadin, J. (2022). Occurrence and Seasonal Monitoring of Domoic Acid in Three Shellfish Species from the Northern Adriatic Sea. *Toxins*, 14(1), 33. <https://doi.org/10.3390/toxins14010033>
- Kwasigroch, U., Łukawska-Matuszewska, K., Jędruch, A., Broclawik, O., & Beldowska, M. (2023). Mobility and bioavailability of mercury in sediments of the southern Baltic sea in relation to the chemical fractions of iron: Spatial and temporal patterns. *Marine Environmental Research*, 191, 106132. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2023.106132>
- Lamborg, C. H., Hammerschmidt, C. R., Bowman, K. L., Swarr, G. J., Munson, K. M., Ohnemus, D. C., Lam, P. J., Heimbürger, L., Rijkenberg, M. J. A., & Saito, M. A. (2014). A global ocean inventory of anthropogenic mercury based on water column measurements. *Nature*, 512(7512), 65–68. <https://doi.org/10.1038/nature13563>
- Lan, J., Liu, P., Hu, X., & Zhu, S. (2024). Harmful algal blooms in eutrophic marine environments: Causes, monitoring, and treatment. *Water*, 16(17), 2525. <https://doi.org/10.3390/w16172525>
- Lanning, N. T., Jiang, S., Amaral, V. J., Mateos, K., Steffen, J. M., Lam, P. J., Boyle, E. A., & Fitzsimmons, J. N. (2023). Isotopes illustrate vertical transport of anthropogenic Pb by reversible scavenging within Pacific Ocean particle veils. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 120(23), e2219688120. <https://doi.org/10.1073/pnas.2219688120>
- Lavoie, R.A., Jardine, T.D., Chumchal, M.M., Kidd, K.A., & Campbell, L.M. (2013). Biomagnification of mercury in aquatic food webs: a worldwide meta-analysis. *Environmental Science & Technology*, 47(23), pp.13385–13394. <https://doi.org/10.1021/es403103t>
- Lawal, A. T. (2017). Polycyclic aromatic hydrocarbons. A review. *Sustainable Environment*, 3(1), 1339841. <https://doi.org/10.1080/23311843.2017.1339841>
- Le Meur, J., Wirth, A., De Mendoza, F. P., Miserocchi, S., & Cardin, V. (2025). Intermittent supply of dense water to the deep South Adriatic Pit: an observational study. *Frontiers in Marine Science*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmars.2025.1516780>
- Leblad, B. R., Amanhir, R., Maamour, N., Haddouch, A. B., Hormat-Allah, A., Enaskhi, I., Abdellah, M. K. O., Kalmouni, A., Daoudi, M., & Laabir, M. (2024). Two decades of data on the neurotoxic *Gymnodinium catenatum* dynamics and paralytic shellfish toxins contamination of

molluscs in the southwestern Mediterranean: What have we learned? *The Science of the Total Environment*, 954, 175578. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.175578>

Lee, J., Jo, A., Kang, Y., Lee, D., Choi, C., Kang, J., & Kim, J. (2024). Review of cadmium bioaccumulation in fish exposed to cadmium. *Toxics*, 13(1), 7. <https://doi.org/10.3390/toxics13010007>

Li, D., Huang, W., & Huang, R. (2023). Analysis of environmental pollutants using ion chromatography coupled with mass spectrometry: A review. *Journal of Hazardous Materials*, 458, 131952. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.131952>

Li, F., Yin, H., Zhu, T., & Zhuang, W. (2024). Understanding the role of manganese oxides in retaining harmful metals: Insights into oxidation and adsorption mechanisms at microstructure level. *Eco-Environment & Health*, 3(1), 89–106. <https://doi.org/10.1016/j.eehl.2024.01.002>

Liang, Y., Pan, D., Wei, H., Han, H., Li, Y., & Liu, T. (2023). Speciation, distribution and relationship of zinc and cadmium in summer coastal seawater of northern China. *Marine Chemistry*, 258, 104349. <https://doi.org/10.1016/j.marchem.2023.104349>

Lion, L. W., Altmann, R. S., & Leckie, J. O. (1982). Trace-metal adsorption characteristics of estuarine particulate matter: evaluation of contributions of iron/manganese oxide and organic surface coatings. *Environmental Science & Technology*, 16(10), 660–666. <https://doi.org/10.1021/es00104a007>

Little, S. H., Vance, D., Lyons, T. W., & McManus, J. (2015). Controls on trace metal authigenic enrichment in reducing sediments: Insights from modern oxygen-deficient settings. *American Journal of Science*, 315(2), 77–119. <https://doi.org/10.2475/02.2015.01>

Liu, Y., Qiao, F., Xu, L., Wang, R., Jiang, W., & Xu, Z. (2022). Fast detection of diarrhetic shellfish poisoning toxins in mussels using NIR spectroscopy and improved twin support vector machines. *Frontiers in Marine Science*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.907378>

Liu, T., Hopwood, M. J., Krisch, S., Vieira, L. H., & Achterberg, E. P. (2023). Trace metal fluxes of Cd, Cu, Pb and Zn from the Congo River into the South Atlantic Ocean are supplemented by atmospheric inputs. *Geophysical Research Letters*, 50(24). <https://doi.org/10.1029/2023gl107150>

Liu, Q., Jia, Z., Liu, G., Li, S., & Hu, J. (2023). Assessment of heavy metals remobilization and release risks at the sediment-water interface in estuarine environment. *Marine Pollution Bulletin*, 187, 114517. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2022.114517>

Livingstone. (1998). The fate of organic xenobiotics in aquatic ecosystems: quantitative and qualitative differences in biotransformation by invertebrates and fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part a Molecular & Integrative Physiology*, 120(1), 43–49. [https://doi.org/10.1016/s1095-6433\(98\)10008-9](https://doi.org/10.1016/s1095-6433(98)10008-9)

Lloyd, J., Lu, K., & Liu, Z. (2024). Investigating concentrations and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons in South and Central Texas bays and estuaries along the Gulf of Mexico, USA. *Frontiers in Marine Science*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmars.2024.1456717>

Long, E. R., Macdonald, D. D., Smith, S. L., & Calder, F. D. (1995). Incidence of adverse biological effects within ranges of chemical concentrations in marine and estuarine sediments. *Environmental Management*, 19(1), 81–97. <https://doi.org/10.1007/bf02472006>

Loring, D., & Rantala, R. (1992). Manual for the geochemical analyses of marine sediments and suspended particulate matter. *Earth-Science Reviews*, 32(4), 235–283. [https://doi.org/10.1016/0012-8252\(92\)90001-a](https://doi.org/10.1016/0012-8252(92)90001-a)

Lu, R., He, H., Xie, A., He, X., Peng, C., Li, Z., & Zheng, H. (2025). Seasonal variations in riverine sediment transport timescales in the Pearl River Estuary. *Water*, 17(19), 2805. <https://doi.org/10.3390/w17192805>

Lučić, D., & Onofri, I. (1990). Seasonal variation of neritic mesozooplankton in Mali Ston Bay (southern Adriatic). *Acta Adriatica*, 31(1), 93–108.

Lugliè, A., Giacobbe, M. G., Riccardi, E., Bruno, M., Pigozzi, S., Mariani, M. A., Satta, C. T., Stacca, D., Bazzoni, A. M., Caddeo, T., Farina, P., Padedda, B. M., Pulina, S., Sechi, N., & Milandri, A. (2017). Paralytic Shellfish Toxins and Cyanotoxins in the Mediterranean: New Data from Sardinia and Sicily (Italy). *Microorganisms*, 5(4), 72. <https://doi.org/10.3390/microorganisms5040072>

Luoma, S. N., & Rainbow, P. S. (2005). Why is metal bioaccumulation so variable? Biodynamics as a unifying concept. *Environmental Science & Technology*, 39(7), 1921–1931. <https://doi.org/10.1021/es048947e>

Luoma, S. N., & Rainbow, P. S. (2008). *Metal contamination in aquatic environments: Science and lateral management*. Cambridge University Press.

Maanan, M. (2007). Biomonitoring of heavy metals using *Mytilus galloprovincialis* in Safi coastal waters, Morocco. *Environmental Toxicology*, 22(5), 525–531. <https://doi.org/10.1002/tox.20301>

Macdonald, D. D., Carr, R. S., Calder, F. D., Long, E. R., & Ingersoll, C. G. (1996). Development and evaluation of sediment quality guidelines for Florida coastal waters. *Ecotoxicology*, 5(4), 253–278. <https://doi.org/10.1007/bf00118995>

Mafra, L., Bricelj, V., Ouellette, C., Léger, C., & Bates, S. (2008). Mechanisms contributing to low domoic acid uptake by oysters feeding on *Pseudo-nitzschia* cells. I. Filtration and pseudofeces production. *Aquatic Biology*, 6, 201–212. <https://doi.org/10.3354/ab00121>

Magdalena, A. B., Lehane, M., Krysz, S., Fernández, M. L., Furey, A., & James, K. J. (2003). The first identification of azaspiracids in shellfish from France and Spain. *Toxicon*, 42(1), 105–108. [https://doi.org/10.1016/s0041-0101\(03\)00105-3](https://doi.org/10.1016/s0041-0101(03)00105-3)

Magi, E., Bianco, R., Ianni, C., & Di Carro, M. (2002). Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in the sediments of the Adriatic Sea. *Environmental Pollution*, 119(1), 91–98. [https://doi.org/10.1016/s0269-7491\(01\)00321-9](https://doi.org/10.1016/s0269-7491(01)00321-9)

Maldonado, M. T., Hughes, M. P., Rue, E. L., & Wells, M. L. (2002). The effect of Fe and Cu on growth and domoic acid production by *Pseudo-nitzschia multiseriata* and *Pseudo-nitzschia australis*. *Limnology and Oceanography*, 47(2), 515–526. <https://doi.org/10.4319/lo.2002.47.2.0515>

Manca, B., Kovačević, V., Gačić, M., & Viezzoli, D. (2002). Dense water formation in the Southern Adriatic Sea and spreading into the Ionian Sea in the period 1997–1999. *Journal of Marine Systems*, 33–34, 133–154. [https://doi.org/10.1016/s0924-7963\(02\)00056-8](https://doi.org/10.1016/s0924-7963(02)00056-8)

- Mandić, J., & Pavela-Vrančić, M. (2017). Concentrations and origin of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments of the Middle Adriatic Sea. *Acta Adriatica*, 58(1), 3–24. <https://doi.org/10.32582/aa.58.1.1>
- Mandić, J., Tronczyński, J., & Kušpilić, G. (2018). Polycyclic aromatic hydrocarbons in surface sediments of the mid-Adriatic and along the Croatian coast: Levels, distributions and sources. *Environmental Pollution*, 242(Pt A), 519–527. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.06.095>
- Mandić, J., Veža, J., & Kušpilić, G. (2023). Application of positive matrix factorization for source apportionment of polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH) in the Adriatic Sea, and the evaluation of PAH-Related carcinogenic risks. *Applied Sciences*, 13(12), 6992. <https://doi.org/10.3390/app13126992>
- Manic, D. C., Redil, R. D., & Rodriguez, I. B. (2024). Trace metals in phytoplankton: Requirements, function, and composition in harmful algal blooms. *Sustainability*, 16(12), 4876. <https://doi.org/10.3390/su16124876>
- Mardones, J. I., Norambuena, L., Paredes, J., Fuenzalida, G., Dorantes-Aranda, J. J., Chang, K. J. L., Guzmán, L., Krock, B., & Hallegraeff, G. (2020). Unraveling the *Karenia selliformis* complex with the description of a non-gymnodimine producing *Patagonian phylotype*. *Harmful Algae*, 98, 101892. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2020.101892>
- Marigómez, I., Soto, M., Cajaraville, M. P., Angulo, E., & Giamberini, L. (2002). Cellular and subcellular distribution of metals in molluscs. *Microscopy Research and Technique*, 56(5), 358–392. <https://doi.org/10.1002/jemt.10040>
- Marini, M., & Frapiccini, E. (2012). Persistence of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments in the deeper area of the Northern Adriatic Sea (Mediterranean Sea). *Chemosphere*, 90(6), 1839–1846. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.09.080>
- Marković, J., Joksimović, D., & Stanković, S. (2012). Trace element concentrations in wild mussels from the coastal area of the southeastern Adriatic, Montenegro. *Archives of Biological Sciences*, 64(1), 265–275. <https://doi.org/10.2298/abs1201265m>

Martínez-Varela, A., Casas, G., Berrojalbiz, N., Piña, B., Dachs, J., & Vila-Costa, M. (2022). Polycyclic aromatic hydrocarbon degradation in the Sea-Surface microlayer at coastal Antarctica. *Frontiers in Microbiology*, 13, 907265. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.907265>

Masson-Delmotte, V., Zhai, P., Pirani, A., Connors, S., Péan, C., Chen, Y., Goldfarb, L., Gomis, M., Matthews, J., Berger, S., Huang, M., Yelekçi, O., Yu, R., Zhou, B., Lonnoy, E., Maycock, T., Waterfield, T., Leitzell, K. and Caud, N. (2021). The Physical Science Basis Working Group I Contribution to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. *Cambridge University Press*. <https://doi.org/10.1017/9781009157896>.

Marcinek, S., Cindrić, A. M., Pađan, J., & Omanović, D. (2022). Trace metal partitioning in the salinity gradient of the highly stratified estuary: a case study in the Krka River Estuary (Croatia). *Applied Sciences*, 12(12), 5816. <https://doi.org/10.3390/app12125816>

Margeta, J. (2024). Historic Socio-Hydromorphology Co-Evolution in the Delta of Neretva. *Applied Sciences*, 14(15), 6477. <https://doi.org/10.3390/app14156477>

Marin, F., & Vah, M. (2024). Cross-Shore sediment transport in the coastal Zone: a review. *Water*, 16(7), 957. <https://doi.org/10.3390/w16070957>

Marinković, N., Pašalić, D., & Potočki, S. (2013). Polymorphisms of genes involved in polycyclic aromatic hydrocarbons'biotransformation and atherosclerosis. *Biochemia Medica*, 255–265. <https://doi.org/10.11613/bm.2013.032>

Matijević, S., Bogner, D., Morović, M., Tičina, V., & Grbec, B. (2008). Characteristics of the sediment along the Eastern Adriatic coast (Croatia). *Fresenius Environmental Bulletin*, 17, 1763.

Maqsood, A., & Łobos-Moysa, E. (2025). Bottom sediments as dynamic arenas for anthropogenic pollutants: profiling sources, unraveling fate mechanisms, and assessing ecological consequences. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(20), 10219. <https://doi.org/10.3390/ijms262010219>

McCarron, P., Kilcoyne, J., Miles, C. O., & Hess, P. (2008). Formation of Azaspiracids-3, -4, -6, and -9 via Decarboxylation of Carboxyazaspiracid Metabolites from Shellfish. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(1), 160–169. <https://doi.org/10.1021/jf8025138>

McIntyre, L., Miller, A., & Kosatsky, T. (2021). Changing trends in paralytic shellfish poisonings reflect increasing sea surface temperatures and practices of indigenous and recreational harvesters in British Columbia, Canada. *Marine Drugs*, 19(10), 568. <https://doi.org/10.3390/md19100568>

McMahon, T., & Silke, J. (1996). Winter toxicity of unknown aetiology in mussels. *Harmful Algae News*, 14, 2.

Meador, J. P., Stein, J. E., Reichert, W. L., & Varanasi, U. (1995). Bioaccumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons by marine organisms. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 143, 79–165. https://doi.org/10.1007/978-1-4612-2542-3_4

Meher, A. K., & Zarouri, A. (2025). Environmental applications of mass spectrometry for emerging contaminants. *Molecules*, 30(2), 364. <https://doi.org/10.3390/molecules30020364>

Meloni, D., Mudadu, A. G., Abete, M. C., Bazzoni, A. M., Griglione, A., Pederiva, S., Stella, C., Serra, S., Fois, N., Esposito, G., & Squadrone, S. (2022). Occurrence of trace elements in Mediterranean mussels (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819) from an experimental pilot farm in the Calich Lagoon (Sardinia, Italy). *Italian Journal of Food Safety*, 11(1), 9970. <https://doi.org/10.4081/ijfs.2022.9970>

Mentaschi, L., Lovato, T., Butenschön, M., Alessandri, J., Aragão, L., Verri, G., Guerra, R., Coppini, G., & Pinardi, N. (2024). Projected climate oligotrophication of the Adriatic marine ecosystems. *Frontiers in Climate*, 6. <https://doi.org/10.3389/fclim.2024.1338374>

Mhashhash, A., Bockelmann-Evans, B., & Pan, S. (2017). Effect of hydrodynamics factors on sediment flocculation processes in estuaries. *Journal of Soils and Sediments*, 18(10), 3094–3103. <https://doi.org/10.1007/s11368-017-1837-7>

Middag, R., De Baar, H. J. W., & Bruland, K. W. (2018). The relationships between dissolved zinc and major nutrients phosphate and silicate along the GEOTRACES GA02 transect in the West Atlantic Ocean. *Global Biogeochemical Cycles*, 33(1), 63–84. <https://doi.org/10.1029/2018gb006034>

Middag, R., De Baar, H. J. W., Bruland, K. W., & Van Heuven, S. M. a. C. (2020). The distribution of nickel in the West-Atlantic Ocean, its relationship with phosphate and a comparison to cadmium and zinc. *Frontiers in Marine Science*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmars.2020.00105>

- Middag, R., Rolison, J. M., George, E., Gerringa, L. J., Rijkenberg, M. J., & Stirling, C. H. (2021). Basin scale distributions of dissolved manganese, nickel, zinc and cadmium in the Mediterranean Sea. *Marine Chemistry*, 238, 104063. <https://doi.org/10.1016/j.marchem.2021.104063>
- Mihanović, H., Vilibić, I., Šepić, J., Matić, F., Ljubešić, Z., Mauri, E., Gerin, R., Notarstefano, G., & Poulain, P. (2021). Observation, preconditioning and recurrence of exceptionally high salinities in the Adriatic Sea. *Frontiers in Marine Science*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmars.2021.672210>
- Miles, C. O., Wilkins, A. L., Munday, R., Dines, M. H., Hawkes, A. D., Briggs, L. R., Sandvik, M., Jensen, D. J., Cooney, J. M., Holland, P. T., Quilliam, M. A., MacKenzie, A. L., Beuzenberg, V., & Towers, N. R. (2003). Isolation of pectenotoxin-2 from *Dinophysis acuta* and its conversion to pectenotoxin-2 seco acid, and preliminary assessment of their acute toxicities. *Toxicon*, 43(1), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2003.10.003>
- Miranda, L. S., Wijesiri, B., Ayoko, G. A., Egodawatta, P., & Goonetilleke, A. (2021). Water-sediment interactions and mobility of heavy metals in aquatic environments. *Water Research*, 202, 117386. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.117386>
- Moffett, J. W., & Boiteau, R. M. (2023). Metal Organic complexation in seawater: Historical background and future directions. *Annual Review of Marine Science*, 16(1), 577–599. <https://doi.org/10.1146/annurev-marine-033023-083652>
- Mok, W. J., Ghaffar, M. A., Noor, M. I. M., Lananan, F., & Azra, M. N. (2023). Understanding climate change and heavy metals in Coastal Areas: A Macroanalysis assessment. *Water*, 15(5), 891. <https://doi.org/10.3390/w15050891>
- Molgó, J., Marchot, P., Aráoz, R., Benoit, E., Iorga, B. I., Zakarian, A., Taylor, P., Bourne, Y., & Servent, D. (2017). Cyclic imine toxins from dinoflagellates: a growing family of potent antagonists of the nicotinic acetylcholine receptors. *Journal of Neurochemistry*, 142(S2), 41–51. <https://doi.org/10.1111/jnc.13995>
- Molinaroli, E., Sarretta, A., Ferrarin, C., Masiero, E., Specchiulli, A., & Guerzoni, S. (2014). Sediment grain size and hydrodynamics in Mediterranean coastal lagoons: Integrated classification of abiotic parameters. *Journal of Earth System Science*, 123(5), 1097–1114. <https://doi.org/10.1007/s12040-014-0445-9>

- Montuori, P., Aurino, S., Garzonio, F., Sarnacchiaro, P., Nardone, A., & Triassi, M. (2016). Distribution, sources and ecological risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons in water and sediments from Tiber River and estuary, Italy. *The Science of the Total Environment*, 566–567, 1254–1267. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.05.183>
- Moore, C. M., Mills, M. M., Arrigo, K. R., Berman–Frank, I., Bopp, L., Boyd, P. W., Galbraith, E. D., Geider, R. J., Guieu, C., Jaccard, S. L., Jickells, T. D., La Roche, J., Lenton, T. M., Mahowald, N. M., Marañón, E., Marinov, I., Moore, J. K., Nakatsuka, T., Oschlies, A., & Saito, M. A. (2013). Processes and patterns of oceanic nutrient limitation. *Nature Geoscience*, 6(9), 701–710. <https://doi.org/10.1038/ngeo1765>
- Morel, F. M. M., & Price, N. M. (2003). The Biogeochemical Cycles of Trace Metals in the Oceans. *Science*, 300(5621), 944–947. <https://doi.org/10.1126/science.1083545>
- Mosalem, A., Redwan, M., Moneim, A. a. A., & Rizk, S. (2024). Distribution, speciation, and assessment of heavy metals in sediments from Wadi Asal, Red Sea, Egypt. *Environmental Monitoring and Assessment*, 196(2), 215. <https://doi.org/10.1007/s10661-024-12363-1>
- Mosley, L. M., & Liss, P. S. (2019). Particle aggregation, pH changes and metal behaviour during estuarine mixing: review and integration. *Marine and Freshwater Research*, 71(3), 300–310. <https://doi.org/10.1071/mf19195>
- Mourgaud, Y., Martinez, É., Geffard, A., Andral, B., Stanisiere, J., & Amiard, J. (2002). Metallothionein concentration in the mussel *Mytilus galloprovincialis* as a biomarker of response to metal contamination: validation in the field. *Biomarkers*, 7(6), 479–490. <https://doi.org/10.1080/1354750021000034528>
- Mozetič, P., Cangini, M., Francé, J., Bastianini, M., Aubry, F.B., Bužančić, M., Cabrini, M., Cerino, F., Čalić, M., D’Adamo, R., Drakulović, D., Finotto, S., Fornasaro, D., Grilli, F., Kraus, R., Kužat, N., Pfannkuchen, D.M., Ninčević Gladan, Ž., Pompei, M., Rotter, A., Servadei, I., & Skejić, S (2019). Phytoplankton diversity in Adriatic ports: Lessons from the port baseline survey for the management of harmful algal species. *Marine Pollution Bulletin*, 147, pp.117–132. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.12.029>
- Munday, R. (2013). Is protein phosphatase inhibition responsible for the toxic effects of okadaic acid in animals? *Toxins*, 5(2), 267–285. <https://doi.org/10.3390/toxins5020267>

Mukaka, M. M. (2012). Statistics corner: A guide to appropriate use of correlation coefficient in medical research. *Malawi Medical Journal*, 24(3), 69–71.

Muñoz-Fariña, O., Roman-Benn, A., Lopez-Joven, C., De Medina, L. G., & Ravanal, M. C. (2025). Seasonal Variations in Heavy Metal Concentrations in Mussels (*Mytilus chilensis*) from Southern Chile: Health Risk Implications Associated with Their Consumption. *Foods*, 14(6), 916. <https://doi.org/10.3390/foods14060916>

Murata, M., Kumagai, M., Lee, J. S., & Yasumoto, T. (1987). Isolation and structure of yessotoxin, a novel polyether compound implicated in diarrhetic shellfish poisoning. *Tetrahedron Letters*, 28(47), 5869–5872. [https://doi.org/10.1016/s0040-4039\(01\)81076-5](https://doi.org/10.1016/s0040-4039(01)81076-5)

Murillas-Maza, A., Uyarra, M. C., Papadopoulou, K. N., Smith, C. J., Gorjanc, S., Klancnik, K., Paramana, T., Chalkiadaki, O., Dassenakis, M., & Pavicic, M. (2020). Programmes of measures of the marine strategy framework directive: Are they contributing to achieving good environmental status in the Mediterranean? *Marine Pollution Bulletin*, 161(Pt B), 111715. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111715>

Mužinić, J. (2007). The Neretva Delta: Green pearl of Coastal Croatia. *Croatian Medical Journal*, 48, 127–129.

Nabi, M., Hussam, A., & Khan, A. H. (2025). Ionic Speciation of Ecotoxic Lead (2+), Cadmium (2+), and Naturally Occurring Ions with Dissolved Organic Matter in Seawater from the Bay of Bengal by Differential Pulse Anodic Stripping Voltammetry, Continuous Binding Model, and Computational Chemical Equilibria: Effect of Global Warming. *Water*, 17(10), 1470. <https://doi.org/10.3390/w17101470>

Naeher, S., Gilli, A., North, R. P., Hamann, Y., & Schubert, C. J. (2013). Tracing bottom water oxygenation with sedimentary Mn/Fe ratios in Lake Zurich, Switzerland. *Chemical Geology*, 352, 125–133. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2013.06.006>

Nait-Hammou, H., Khalidi, K. E., Makaoui, A., Chierici, M., Jamal, C., Mejjad, N., Khalfaoui, O., Salhi, F., Idrissi, M., & Zourarah, B. (2025). Environmental factors driving carbonate distribution in marine sediments in the Canary current upwelling system. *Journal of Marine Science and Engineering*, 13(9), 1709. <https://doi.org/10.3390/jmse13091709>

National Oceanic and Atmospheric Administration (NOAA). (2023, July 28). The ocean. NOAA Jetstream: An online school for weather. <https://www.noaa.gov/jetstream/ocean>

Ng, L. Q., Mohamed, K. N., Amiruddin, A. M., Yusuff, F. M., & Mustaffa, N. I. H. (2025). The distribution of dissolved copper and natural organic ligands in tropical coastal waters under seasonal variation. *Journal of Marine Science and Engineering*, 13(3), 446. <https://doi.org/10.3390/jmse13030446>

Niessen, W. M. A. (2006). *Liquid chromatography-mass spectrometry* (3rd ed.). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781420014549>

Ninčević Gladan, Ž., Ujević, I., Milandri, A., Marasović, I., Ceredi, A., Pigozzi, S., Arapov, J., Skejić, S., Orhanović, S., & Isajlović, I. (2010). Is yessotoxin the main phycotoxin in Croatian waters? *Marine Drugs*, 8(3), 460–470. <https://doi.org/10.3390/md8030460>

Ninčević Gladan, Ž., Ujević, I., Milandri, A., Marasović, I., Ceredi, A., Pigozzi, S., Arapov, J., & Skejić, S. (2011). Lipophilic Toxin Profile in *Mytilus galloprovincialis* during Episodes of Diarrhetic Shellfish Poisoning (DSP) in the N.E. Adriatic Sea in 2006. *Molecules*, 16(1), 888–899. <https://doi.org/10.3390/molecules16010888>

Ninčević Gladan, Ž., Bužančić, M., Kušpilić, G., Grbec, B., Matijević, S., Skejić, S., Marasović, I., & Morović, M. (2015). The response of phytoplankton community to anthropogenic pressure gradient in the coastal waters of the eastern Adriatic Sea. *Ecological Indicators*, 56, 106–115. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2015.03.018>

Nordberg, M., & Nordberg, G. F. (2022). Metallothionein and Cadmium Toxicology – Historical review and Commentary. *Biomolecules*, 12(3), 360. <https://doi.org/10.3390/biom12030360>

Obhodaš, J., Valković, V., Matjačić, L., Nađ, K., & Sudac, D. (2012). Evaluation of elemental composition of sediments from the Adriatic Sea by using EDXRF technique. *Applied Radiation and Isotopes*, 70(7), 1392–1395. <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2012.03.010>

Ochoa-Esteso, C., Roselló-Carrió, A., Carrasco-Correa, E. J., & Lerma-García, M. J. (2024). Bioaccumulation of environmental pollutants and marine toxins in bivalve molluscs: a review. *Exploration of Foods and Foodomics*, 2(6), 788–809. <https://doi.org/10.37349/eff.2024.00062>

Ofuji, K., Satake, M., McMahon, T., Silke, J., James, K. J., Naoki, H., Oshima, Y., & Yasumoto, T. (1999). Two analogs of azaspiracid isolated from mussels, *Mytilus edulis*, involved in human intoxication in Ireland. *Natural Toxins*, 7(3), 99–102. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1522-7189\(199905/06\)7:3%3C99::aid-nt46%3E3.0.co;2-1](https://doi.org/10.1002/(sici)1522-7189(199905/06)7:3%3C99::aid-nt46%3E3.0.co;2-1)

Oh, J., Pushparaj, S. S. C., Muthu, M., & Gopal, J. (2023). Review of Harmful algal blooms (HABs) causing marine fish kills: Toxicity and mitigation. *Plants*, 12(23), 3936. <https://doi.org/10.3390/plants12233936>

Olivelli, A., Paul, M., Xu, H., Kreissig, K., Coles, B. J., Moore, R. E., Bridgestock, L., Rijkenberg, M., Middag, R., Lohan, M. C., Weiss, D. J., Rehkämper, M., & Van De Flierdt, T. (2024). Vertical transport of anthropogenic lead by reversible scavenging in the South Atlantic Ocean. *Earth and Planetary Science Letters*, 646, 118980. <https://doi.org/10.1016/j.epsl.2024.118980>

Orlić, M., Gačić, M. & La Violette P.E. (1992). The currents and circulation of the Adriatic Sea. *Oceanologica Acta*, 15(2), 109–124.

OSPAR Commission. (2009). CEMP Assessment Report: 2008/2009 Assessment of trends and concentrations of selected hazardous substances in sediments and biota. Dostupno na https://qsr2010.ospar.org/media/assessments/p00390_2009_CEMP_assessment_report.pdf

OSPAR Commission. (2009). Agreement on CEMP Assessment Criteria for the QSR 2010 (Agreement number: 2009-2). Dostupno na https://qsr2010.ospar.org/media/assessments/p00390_supplements/09-02e_Agreement_CEMP_Assessment_Criteria.pdf

OSPAR Commission. (2009). Background document on CEMP assessment criteria for QSR 2010 (Publication No. 461/2009). Dostupno na <https://www.ospar.org/documents?v=7167>

OSPAR Commission (2023). Status and trends in the concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in sediment and biota (QSR 2023 Indicator Assessment). *OSPAR Commission*, London. Dostupno na <https://oap.ospar.org/en/ospar-assessments/quality-status-reports/qsr-2023/indicator-assessments/pah-shellfish-sediment/>

OSPAR Commission (2023). Status and trends for heavy metals (mercury, cadmium and lead) in fish, shellfish and sediment. OSPAR Assessment Portal. Dostupno na

<https://oap.ospar.org/en/ospar-assessments/quality-status-reports/qsr-2023/indicator-assessments/heavy-metals-biota-sediment/>

Otero, P., & Silva, M. (2022). Emerging marine biotoxins in European waters: potential risks and analytical challenges. *Marine Drugs*, 20(3), 199. <https://doi.org/10.3390/md20030199>

Oujidi, B., Bouch, M. E., Tahri, M., Layachi, M., Boutoumit, S., Bouchnan, R., Ouahidi, H., Bounakhla, M., Ouamari, N. E., Maanan, M., Bazairi, H., Mhammdi, N., & Snoussi, M. (2021). Seasonal and Spatial Patterns of Ecotoxicological Indices of Trace Elements in Superficial Sediments of the Marchica Lagoon Following Restoration Actions during the Last Decade. *Diversity*, 13(2), 51. <https://doi.org/10.3390/d13020051>

Paladini de Mendoza, F., Schroeder, K., Langone, L., Chiggiato, J., Borghini, M., Giordano, P., & Miserocchi, S. (2023). Deep-Water Dynamics along the 2012–2020 Observations on the Continental Margin of the Southern Adriatic Sea (Mediterranean Sea). *Journal of Marine Science and Engineering*, 11(7), 1364. <https://doi.org/10.3390/jmse11071364>

Papini, G., & Rakaj, A. (2025). Microplastic retention in European flat oyster *Ostrea edulis* cultured in two Mediterranean basins. *Npj Emerging Contaminants*, 1(1). <https://doi.org/10.1038/s44454-025-00005-1>

Parks, J. M., Johs, A., Podar, M., Bridou, R., Hurt, R. A., Smith, S. D., Tomanicek, S. J., Qian, Y., Brown, S. D., Brandt, C. C., Palumbo, A. V., Smith, J. C., Wall, J. D., Elias, D. A., & Liang, L. (2013). The genetic basis for bacterial mercury methylation. *Science*, 339(6125), 1332–1335. <https://doi.org/10.1126/science.1230667>

Pavela-Vrančić, M., Ujević, I., Ninčević Gladan, Ž., & Furey, A. (2006). Accumulation of phycotoxins in the mussel *Mytilus galloprovincialis* from the Central Adriatic Sea. *Croatica Chemica Acta*, 79(2), 291–297.

Pavela-Vrančić, M., Meštrović, V., Marasović, I., Gillman, M., Furey, A., & James, K. (2001). The occurrence of 7-epi-pectenotoxin-2 seco acid in the coastal waters of the central Adriatic (Kaštela Bay). *Toxicon*, 39(6), 771–779. [https://doi.org/10.1016/s0041-0101\(00\)00203-8](https://doi.org/10.1016/s0041-0101(00)00203-8)

Pavela-Vrančić, M., & Marasović, I. (2004). Paralytic Shellfish Poisoning (PSP) in the Central Adriatic Sea. *Croatica Chemica Acta*, 77(4), 627–631.

- Pavoni, E., Crosera, M., Petranich, E., Faganeli, J., Klun, K., Oliveri, P., Covelli, S., & Adami, G. (2021). Distribution, mobility and fate of trace elements in an estuarine system under anthropogenic pressure: The case of the karstic Timavo River (northern Adriatic Sea, Italy). *Estuaries and Coasts*, 44(7), 1831-1847. <https://doi.org/10.1007/s12237-021-00910-9>
- Paz, B., Riobó, P., Ramilo, I., & Franco, J. M. (2007). Yessotoxins profile in strains of *Protoceratium reticulatum* from Spain and USA. *Toxicon*, 50(1), 1–17. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2007.02.005>
- Paz, B., Daranas, A. H., Norte, M., Riobó, P., Franco, J. M., & Fernández, J. J. (2008). Yessotoxins, a Group of Marine Polyether Toxins: an Overview. *Marine Drugs*, 6(2), 73–102. <https://doi.org/10.3390/md6020073>
- Pedrosa-Pàmies, R., Parinos, C., Sanchez-Vidal, A., Gogou, A., Calafat, A., Canals, M., Bouloubassi, I., & Lampadariou, N. (2015). Composition and sources of sedimentary organic matter in the deep eastern Mediterranean Sea. *Biogeosciences*, 12(24), 7379–7402. <https://doi.org/10.5194/bg-12-7379-2015>
- Peharda, M., Ezgeta-Balić, D., Davenport, J., Bojanić, N., Vidjak, O., & Ninčević Gladan, Ž. (2012). Differential ingestion of zooplankton by four species of bivalves (Mollusca) in the Mali Ston Bay, Croatia. *Marine Biology*, 159(4), 881–895. <https://doi.org/10.1007/s00227-011-1866-5>
- Pelikan, J., Grozić, K., Privileggio, L., Pavičić-Hamer, D., Tanković, M. S., Pikelj, K., Glad, M., & Hamer, B. (2025). Integrated sediment and mussel Chemical Analysis for environmental quality assessment in Rovinj's coastal waters (Northern Adriatic, Croatia). *Journal of Marine Science and Engineering*, 13(11), 2212. <https://doi.org/10.3390/jmse13112212>
- Penezić, A., Gašparović, B., Cuculić, V., Strmečki, S., Djakovac, T., & Mlakar, M. (2022). Dissolved trace metals and organic matter distribution in the northern Adriatic, an increasingly oligotrophic shallow sea. *Water*, 14(3), 349. <https://doi.org/10.3390/w14030349>
- Peng, X., Yang, Y., Yang, S., Li, L., & Song, L. (2024). Recent advance of microbial mercury methylation in the environment. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 108(1), 235. <https://doi.org/10.1007/s00253-023-12967-6>

- Perelló, E., Pinya, S., Box, A., Sureda, A., & Compa, M. (2025). Assessing heavy metal accumulation in the invasive blue crab (*Callinectes sapidus*): environmental and human health implications. *Environmental Science and Pollution Research*, 32(21), 12579–12593. <https://doi.org/10.1007/s11356-025-36462-9>
- Perić, L., Fafanđel, M., Glad, M., Bihari, N. (2012). Heavy metals concentration and metallothionein content in resident and caged mussels *Mytilus galloprovincialis* from Rijeka Bay, Croatia. *Fresenius Environmental Bulletin*, 21(9A), 2785–2794.
- Perl, T. M., Bédard, L., Kosatsky, T., Hockin, J. C., Todd, E. C., & Remis, R. S. (1990). An Outbreak of Toxic Encephalopathy Caused by Eating Mussels Contaminated with Domoic Acid. *New England Journal of Medicine*, 322(25), 1775–1780. <https://doi.org/10.1056/nejm199006213222504>
- Petroff, R., Hendrix, A., Shum, S., Grant, K. S., Lefebvre, K. A., & Burbacher, T. M. (2021). Public health risks associated with chronic, low-level domoic acid exposure: A review of the evidence. *Pharmacology & Therapeutics*, 227, 107865. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2021.107865>
- Pikelj, K., & Juračić, M. (2013). Eastern Adriatic Coast (EAC): Geomorphology and coastal vulnerability of a Karstic coast. *Journal of Coastal Research*, 289, 944–957. <https://doi.org/10.2112/jcoastres-d-12-00136.1>
- Pikelj, K., Jakšić, L., Aščić, Š. i Juračić, M. (2016). Characterization of the fine-grained fraction in the surface sediment of the eastern Adriatic channel areas. *Acta Adriatica*, 57(2), 195–208.
- Pikelj, K., Uroš, A., Kolda, A., Gavrilović, A., & Kapetanović, D. (2022). Sediment Characteristics – A Key Factor for Fish Farm Site Selection: Examples from Croatia. *Minerals*, 12(6), 696. <https://doi.org/10.3390/min12060696>
- Pinto, A., Botelho, M. J., Churro, C., Asselman, J., Pereira, P., & Pereira, J. L. (2023). A review on aquatic toxins - Do we really know it all regarding the environmental risk posed by phytoplankton neurotoxins? *Journal of Environmental Management*, 345, 118769. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2023.118769>
- Podar, M., Gilmour, C.C., Brandt, C.C., Soren, A., Brown, S.D., Crable, B.R., Palumbo, A.V., Somenahally, A.C., & Elias, D.A. (2015). Global prevalence and distribution of genes and

microorganisms involved in mercury methylation. *Science Advances*, 1(9). <https://doi.org/10.1126/sciadv.1500675>.

Preporuka Komisije 2005/108/EZ od 4. veljače 2005. o daljnjem ispitivanju razine policikličkih aromatskih ugljikovodika u pojedinim prehrambenim proizvodima, SL L 34, 8. 2. 2005., str. 43–45. Dostupno na <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/?uri=CELEX:32005H0108>

Puharinen, S. (2023). Achieving good marine environmental status in the EU – Implications of the marine strategy framework directive for member states and blue economic activities. *Marine Policy*, 155, 105712. <https://doi.org/10.1016/j.marpol.2023.105712>

Radić, I. D., Carić, M., Najdek, M., Jasprica, N., Bolotin, J., Peharda, M., & Cetinić, A. B. (2014). Biochemical and fatty acid composition of *Arca noae* (Bivalvia: Arcidae) from the Mali Ston Bay, Adriatic Sea. *Mediterranean Marine Science*, 15(3), 520. <https://doi.org/10.12681/mms.436>

Rainbow, P. S. (1997). Trace metal accumulation in marine invertebrates: marine biology or marine chemistry? *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 77(1), 195–210. <https://doi.org/10.1017/s0025315400033877>

Rainbow, P. S. (2002). Trace metal concentrations in aquatic invertebrates: why and so what? *Environmental Pollution*, 120(3), 497–507. [https://doi.org/10.1016/s0269-7491\(02\)00238-5](https://doi.org/10.1016/s0269-7491(02)00238-5)

Rainbow, P. S. (2006). Trace metal bioaccumulation: Models, metabolic availability and toxicity. *Environment International*, 33(4), 576–582. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2006.05.007>

Ranjbar Jafarabadi, A., Bakhtiari, A. R., & Toosi, A. S. (2017). Comprehensive and comparative ecotoxicological and human risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in reef surface sediments and coastal seawaters of Iranian Coral Islands, Persian Gulf. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 145, 640–652. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.08.016>

Rambla-Alegre, M., Miles, C. O., De La Iglesia, P., Fernandez-Tejedor, M., Jacobs, S., Sioen, I., Verbeke, W., Samdal, I. A., Sandvik, M., Barbosa, V., Tediosi, A., Madorran, E., Granby, K., Kotterman, M., Calis, T., & Diogene, J. (2017). Occurrence of cyclic imines in European commercial seafood and consumers risk assessment. *Environmental Research*, 161, 392–398. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2017.11.028>

Ramsar Secretariat. (1992). Ramsar Information Sheet: Neretva Delta (Croatia). Ramsar Sites Information System. Dostupno na

https://rsis.ramsar.org/ris/585?_goaway_challenge=meta-refresh&_goaway_id=724e73f786a44517d81ac340333e39c0&_goaway_referer=https%3A%2F%2Fwww.bing.com%2F

Rapljenović, A., Viskiće, M., Frančišković-Bilinski, S., & Cuculić, V. (2024). Influence of organic matter and speciation on the dynamics of trace metal adsorption on microplastics in marine conditions. *Toxics*, 12(11), 820. <https://doi.org/10.3390/toxics12110820>

Raspor, B., Dragun, Z., Erk, M., Ivanković, D., & Pavičić, J. (2004). Is the digestive gland of *Mytilus galloprovincialis* a tissue of choice for estimating cadmium exposure by means of metallothioneins? *The Science of the Total Environment*, 333(1–3), 99–108. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2004.05.008>

Ravi, S., Thillainayagam, R., Janakiraman, G., Subramanyam, P., Sivakumar, R., Raman, T., Singaram, G., Harikrishnan, T., & Rajamanickam, K. (2022). Modulation of biotransformation enzymes leads to oxidative stress and DNA damage in naphthalene exposed marine bivalve *Perna viridis*. *Frontiers in Marine Science*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.969589>

Ray, S., Vashishth, R., Mukherjee, A. G., Gopalakrishnan, A. V., & Sabina, E. P. (2025). Mercury in the environment: Biogeochemical transformation, ecological impacts, human risks, and remediation strategies. *Chemosphere*, 381, 144471. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2025.144471>

Regoli, F., & Orlando, E. (1994). Seasonal variation of trace metal concentrations in the digestive gland of the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis*: Comparison between a polluted and a non-polluted site. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 27(1), 36–43. <https://doi.org/10.1007/bf00203885>

Reguera, B., Riobó, P., Rodríguez, F., Díaz, P., Pizarro, G., Paz, B., Franco, J., & Blanco, J. (2014). Dinophysin Toxins: causative organisms, distribution and fate in shellfish. *Marine Drugs*, 12(1), 394–461. <https://doi.org/10.3390/md12010394>

- Roje-Busatto, R., & Ujević, I. (2014). PSP toxins profile in ascidian *Microcosmus vulgaris* (Heller, 1877) after human poisoning in Croatia (Adriatic Sea). *Toxicon*, 79, 28–36. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2013.12.014>
- Roshan, S., DeVries, T., Wu, J., & Chen, G. (2018). The internal cycling of zinc in the ocean. *Global Biogeochemical Cycles*, 32(12), 1833–1849. <https://doi.org/10.1029/2018gb006045>
- Rouane-Hacene, O., Boutiba, Z., Belhaouari, B., Guibbolini-Sabatier, M. E., Francour, P., & Faverney, C. R. (2015). Seasonal assessment of biological indices, bioaccumulation and bioavailability of heavy metals in mussels *Mytilus galloprovincialis* from Algerian west coast, applied to environmental monitoring. *Oceanologia*, 57(4), 362–374. <https://doi.org/10.1016/j.oceano.2015.07.004>
- Roy-Barman, M., Foliot, L., Douville, E., Leblond, N., Gazeau, F., Bressac, M., Wagener, T., Ridame, C., Desboeufs, K., & Guieu, C. (2021). Contrasted release of insoluble elements (Fe, Al, rare earth elements, Th, Pa) after dust deposition in seawater: a tank experiment approach. *Biogeosciences*, 18(8), 2663–2678. <https://doi.org/10.5194/bg-18-2663-2021>
- Ruacho, A., Richon, C., Whitby, H., & Bundy, R. M. (2022). Sources, sinks, and cycling of dissolved organic copper binding ligands in the ocean. *Communications Earth & Environment*, 3(1). <https://doi.org/10.1038/s43247-022-00597-1>
- Rubini, S., Albonetti, S., Menotta, S., Cervo, A., Callegari, E., Cangini, M., Dall'Ara, S., Baldini, E., Vertuani, S., & Manfredini, S. (2021). New trends in the occurrence of yessotoxins in the northwestern Adriatic Sea. *Toxins*, 13(9), 634. <https://doi.org/10.3390/toxins13090634>
- Rudnick, R. L., and Gao, S. (2003). *Composition of the Continental Crust*. In Holland, H.D., and Turekian, K.K. (Eds.), *Treatise on Geochemistry*, Vol. 3, The Crust, Elsevier-Pergamon, Oxford, pp. 1-64. <https://doi.org/10.1016/B0-08-043751-6/03016-4>
- Rue, E., & Bruland, K. (2001). Domoic acid binds iron and copper: a possible role for the toxin produced by the marine diatom *Pseudo-nitzschia*. *Marine Chemistry*, 76(1–2), 127–134. [https://doi.org/10.1016/s0304-4203\(01\)00053-6](https://doi.org/10.1016/s0304-4203(01)00053-6)

Rundberget, T., Aasen, J. a. B., Selwood, A. I., & Miles, C. O. (2011). Pinnatoxins and spirolides in Norwegian blue mussels and seawater. *Toxicon*, 58(8), 700–711. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2011.08.008>

Rusiňáková, K., Brenkus, M., Návojková, V. K., Kirchner, M., & Hrouzková, S. (2024). Present trends in analytical methods for determination of multi-groups environmental contaminants polyaromatic hydrocarbons, phthalates, alkylphenol ethoxylates, alkylphenols, and butylated hydroxytoluene in river sediments. *Water Air & Soil Pollution*, 235(12). <https://doi.org/10.1007/s11270-024-07559-7>

Ryan-Keogh, T. J., Thomalla, S. J., Chang, N., & Moalusi, T. (2023). A new global oceanic multi-model net primary productivity data product. *Earth System Science Data*, 15(11), 4829–4848. <https://doi.org/10.5194/essd-15-4829-2023>

Saraga, D., Pachoulis, M., Dasopoulou, M., Panagopoulos, P., Balla, D., Bairachtari, K., & Maggos, T. (2024). Source profile analysis, source apportionment, and potential health risk of ambient Particle-Bound polycyclic aromatic hydrocarbons in areas of specific interest. *Atmosphere*, 15(8), 938. <https://doi.org/10.3390/atmos15080938>

Saravanan, P., Saravanan, V., Rajeshkannan, R., Arnica, G., Rajasimman, M., Baskar, G., & Pugazhendhi, A. (2024). Comprehensive review on toxic heavy metals in the aquatic system: sources, identification, treatment strategies, and health risk assessment. *Environmental Research*, 258, 119440. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2024.119440>

Sarthou, G., & Jeandel, C. (2001). Seasonal variations of iron concentrations in the Ligurian Sea and iron budget in the Western Mediterranean Sea. *Marine Chemistry*, 74(2–3), 115–129. [https://doi.org/10.1016/s0304-4203\(00\)00119-5](https://doi.org/10.1016/s0304-4203(00)00119-5)

Satake, M., MacKenzie, L., & Yasumoto, T. (1997). Identification of *Protoceratium reticulatum* as the biogenetic origin of yessotoxin. *Natural Toxins*, 5(4), 164–167. <https://doi.org/10.1002/nt.7>

Satake, M., Ofuji, K., Naoki, H., James, K. J., Furey, A., McMahon, T., Silke, J., & Yasumoto, T. (1998). Azaspiracid, a New Marine Toxin Having Unique Spiro Ring Assemblies, Isolated from Irish Mussels, *Mytilus edulis*. *Journal of the American Chemical Society*, 120(38), 9967–9968. <https://doi.org/10.1021/ja981413r>

Sawicka, E., Jurkowska, K., & Piwowar, A. (2020). Chromium (III) and chromium (VI) as important players in the induction of genotoxicity – current view. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 28(1), 1–10. <https://doi.org/10.26444/aaem/118228>

Schartup, A. T., Thackray, C. P., Qureshi, A., Dassuncao, C., Gillespie, K., Hanke, A., & Sunderland, E. M. (2019). Climate change and overfishing increase neurotoxicant in marine predators. *Nature*, 572(7771), 648–650. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1468-9>

Shan, B., Hao, R., Xu, H., Li, J., Li, Y., Xu, X., & Zhang, J. (2021). A review on mechanism of biomineralization using microbial-induced precipitation for immobilizing lead ions. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(24), 30486–30498. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-14045-8>

Shapiro, S.S. & Wilk, M.B. (1965). An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika*, 52, 591–611.

Sherwood, C., Book, J., Carniel, S., Cavaleri, L., Chiggiato, J., Das, H., Doyle, J., Harris, C., Niedoroda, A., Perkins, H., Poulain, P., Pullen, J., Reed, C., Russo, A., Sciavo, M., Signell, R., Trykovski, P., & Warner, J. (2004). Sediment Dynamics in the Adriatic Sea Investigated with Coupled Models. *Oceanography*, 17(4), 58–69. <https://doi.org/10.5670/oceanog.2004.04>

Silva, E., Counillon, F., Brajard, J., Davy, R., Outten, S., Pettersson, L. H., & Keenlyside, N. (2025). Warming and freshening coastal waters impact harmful algal bloom frequency in high latitudes. *Communications Earth & Environment*, 6(1). <https://doi.org/10.1038/s43247-025-02421-y>

Skic, K., Boguta, P., Klimkowicz-Pawlas, A., Ukalska-Jaruga, A., & Baran, A. (2022). Effect of sorption properties on the content, ecotoxicity, and bioaccumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in bottom sediments. *Journal of Hazardous Materials*, 442, 130073. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.130073>

Skliris, N., Marsh, R., Breedon, M., & Josey, S. A. (2024). Accelerated warming and salinification of the Mediterranean Sea: Implications for dense water formation. *Journal of Marine Science and Engineering*, 13(1), 25. <https://doi.org/10.3390/jmse13010025>

Skoog, D. A., Holler, F. J., & Crouch, S. R. (2018). Principles of instrumental analysis (7th ed.). Cengage Learning.

Smit, K. P., Bernard, A. T., Lombard, A. T., & Sink, K. J. (2020). Assessing marine ecosystem condition: A review to support indicator choice and framework development. *Ecological Indicators*, 121, 107148. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.107148>

Soclo, H., Garrigues, P., & Ewald, M. (2000). Origin of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in coastal marine sediments: case studies in Cotonou (Benin) and Aquitaine (France) areas. *Marine Pollution Bulletin*, 40(5), 387–396. [https://doi.org/10.1016/s0025-326x\(99\)00200-3](https://doi.org/10.1016/s0025-326x(99)00200-3)

Soerensen, A.L., Schartup, A.T., Gustafsson, E., Gustafsson, B.G., Undeman, E. and Björn, E. (2016). *Eutrophication Increases Phytoplankton Methylmercury Concentrations in a Coastal Sea—A Baltic Sea Case Study*. 50(21), pp.11787–11796. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b02717>.

Soto-López, V., Menendez-Teleña, D., Garcia-Vazquez, E., & Bartolomé, M. (2025). Risk analysis of invasive species by ballast water: Case study in the Port of Gijón, Bay of Biscay. *Journal of Marine Systems*, 252, 104148. <https://doi.org/10.1016/j.jmarsys.2025.104148>

Spada, L., Annicchiarico, C., Cardellicchio, N., Giandomenico, S., & Di Leo, A. (2013). Heavy metals monitoring in mussels *Mytilus galloprovincialis* from the Apulian coasts (Southern Italy). *Mediterranean Marine Science*, 14(1), 99. <https://doi.org/10.12681/mms.323>

Spagnoli, F., De Marco, R., Dinelli, E., Frapiccini, E., Frontalini, F., & Giordano, P. (2021). Sources and Metal Pollution of Sediments from a Coastal Area of the Central Western Adriatic Sea (Southern Marche Region, Italy). *Applied Sciences*, 11(3), 1118. <https://doi.org/10.3390/app11031118>

Spearman, C. (1904). The proof and measurement of association between two things. *American Journal of Psychology*, 15, 72–101.

Spence, K., Gilbert, I., & Robson, M. (2023). Stormwater suspended solids and pollutant concentrations in an urban stream. *Water Air & Soil Pollution*, 234(9). <https://doi.org/10.1007/s11270-023-06513-3>

Stanković, S., & Jović, M. (2011). Health risks of heavy metals in the mediterranean mussels as seafood. *Environmental Chemistry Letters*, 10(2), 119–130. <https://doi.org/10.1007/s10311-011-0343-1>

Stanković, S., Jović, M., Milanov, R., & Joksimović, D. (2011). Trace elements concentrations (Zn, Cu, Pb, Cd, As and Hg) in the Mediterranean mussel (*Mytilus galloprovincialis*) and evaluation of mussel quality and possible human health risk from cultivated and wild sites of the southeastern Adriatic Sea, Montenegro. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 76(12), 1725–1737. <https://doi.org/10.2298/jsc110420095s>

Storelli, M. M., Stuffer, R. G., & Marcotrigiano, G. O. (2002). Total and methylmercury residues in tuna-fish from the Mediterranean Sea. *Food Additives & Contaminants*, 19(8), 715–720. <https://doi.org/10.1080/02652030210153569>

Storelli, M., Storelli, A., Giacomini-Stuffer, R., & Marcotrigiano, G. (2004). Mercury speciation in the muscle of two commercially important fish, hake (*Merluccius merluccius*) and striped mullet (*Mullus barbatus*) from the Mediterranean Sea: estimated weekly intake. *Food Chemistry*, 89(2), 295–300. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.02.036>

Stumm, W., & Morgan, J. J. (1996). *Aquatic Chemistry: Chemical Equilibria and Rates in Natural Waters* (3rd izd.). Wiley-Interscience.

Suganuma, M., Fujiki, H., Suguri, H., Yoshizawa, S., Hirota, M., Nakayasu, M., Ojika, M., Wakamatsu, K., Yamada, K., & Sugimura, T. (1988). Okadaic acid: an additional non-phorbol-12-tetradecanoate-13-acetate-type tumor promoter. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 85(6), 1768–1771. <https://doi.org/10.1073/pnas.85.6.1768>

Sunda, W. G., & Huntsman, S. A. (1996). Antagonisms between cadmium and zinc toxicity and manganese limitation in a coastal diatom. *Limnology and Oceanography*, 41(3), 373–387. <https://doi.org/10.4319/lo.1996.41.3.0373>

Sunda, W. G. (2012). Feedback Interactions between Trace Metal Nutrients and Phytoplankton in the Ocean. *Frontiers in Microbiology*, 3, 204. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00204>

- Sundseth, K., Pacyna, J., Pacyna, E., Pirrone, N., & Thorne, R. (2017). Global Sources and Pathways of Mercury in the context of Human Health. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 14(1), 105. <https://doi.org/10.3390/ijerph14010105>
- Sutherland, R. A. (2000). Bed sediment-associated trace metals in an urban stream, Oahu, Hawaii. *Environmental Geology*, 39(6), 611–627. <https://doi.org/10.1007/s002540050473>
- Suzuki, T., Ota, H., & Yamasaki, M. (1999). Direct evidence of transformation of dinophysistoxin-1 to 7-O-acyl-dinophysistoxin-1 (dinophysistoxin-3) in the scallop *Patinopecten yessoensis*. *Toxicon*, 37(1), 187–198. [https://doi.org/10.1016/s0041-0101\(98\)00182-2](https://doi.org/10.1016/s0041-0101(98)00182-2)
- Suzuki, T., Mackenzie, L., Stirling, D., & Adamson, J. (2001). Pectenotoxin-2 seco acid: a toxin converted from pectenotoxin-2 by the New Zealand Greenshell mussel, *Perna canaliculus*. *Toxicon*, 39(4), 507–514. [https://doi.org/10.1016/s0041-0101\(00\)00153-7](https://doi.org/10.1016/s0041-0101(00)00153-7)
- Swetha, S., Veerasingam, S., Rajendran, S., Hassan, H., Hashmi, M. Z. U. R. R., Alsaadi, H., Rangel-Buitrago, N., & Sadooni, F. N. (2025). Long-term trends in heavy metal contamination of marine sediments in the Arabian Gulf: A meta-analysis. *Environmental Monitoring and Assessment*, 197(8), 873. <https://doi.org/10.1007/s10661-025-14348-0>
- Tachibana, K., Scheuer, P. J., Tsukitani, Y., Kikuchi, H., Van Engen, D., Clardy, J., Gopichand, Y., & Schmitz, F. J. (1981). Okadaic acid, a cytotoxic polyether from two marine sponges of the genus *Halichondria*. *Journal of the American Chemical Society*, 103(9), 2469–2471. <https://doi.org/10.1021/ja00399a082>
- Tagliabue, A., Bowie, A. R., Boyd, P. W., Buck, K. N., Johnson, K. S., & Saito, M. A. (2017). The integral role of iron in ocean biogeochemistry. *Nature*, 543(7643), 51–59. <https://doi.org/10.1038/nature21058>
- Takano, S., Liao, W., Ho, T., & Sohrin, Y. (2022). Isotopic evolution of dissolved Ni, Cu, and Zn along the Kuroshio through the East China Sea. *Marine Chemistry*, 243, 104135. <https://doi.org/10.1016/j.marchem.2022.104135>
- Talić, S., Škobić, D., Dedić, A., Nazlić, N., Ujević, I., Ivanković, A., & Pavela-Vrančić, M. (2020). The occurrence of lipophilic toxins in shellfish from the Middle Adriatic Sea. *Toxicon*, 186, 19–25. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2020.07.026>

Tamele, I. J., Silva, M., & Vasconcelos, V. (2019). The incidence of marine toxins and the associated seafood poisoning episodes in the African countries of the Indian Ocean and the Red Sea. *Toxins*, 11(1), 58. <https://doi.org/10.3390/toxins11010058>

Tarábek, P., Leonova, N., Konovalova, O., & Kirchner, M. (2024). Identification of Organic Contaminants in Water and Related Matrices Using Untargeted Liquid Chromatography High-Resolution Mass Spectrometry Screening with Ms/Ms Libraries. *SSRN Electronic Journal*. <https://doi.org/10.2139/ssrn.4860575>

Terao, K., Ito, E., Oarada, M., Murata, M., & Yasumoto, T. (1990). Histopathological studies on experimental marine toxin poisoning –5. The effects in mice of yessotoxin isolated from *Patinopecten yessoensis* and of a desulfated derivative. *Toxicon*, 28(9), 1095–1104. [https://doi.org/10.1016/0041-0101\(90\)90148-z](https://doi.org/10.1016/0041-0101(90)90148-z)

Tessier, A., Campbell, P. G. C., & Bisson, M. (1979). Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. *Analytical Chemistry*, 51(7), 844–851. <https://doi.org/10.1021/ac50043a017>

Thabet, W. M., Moneer, A. A., Abdelwahab, O., Ahdy, H. H. H., Khedawy, M., & Shabaan, N. A. (2024). Ecological risk assessment of metal pollution in the surface sediments of delta region, Egypt. *Environmental Monitoring and Assessment*, 196(4). <https://doi.org/10.1007/s10661-024-12481-w>

Thorsen, W. A., Cope, W. G., & Shea, D. (2004). Bioavailability of PAHs: Effects of soot carbon and PAH source. *Environmental Science & Technology*, 38(7), 2029–2037. <https://doi.org/10.1021/es0306056>

Tillmann, U., Elbrächter, M., Krock, B., John, U., & Cembella, A. (2009). *Azadinium spinosum* gen. et sp. nov. (*Dinophyceae*) identified as a primary producer of azaspiracid toxins. *European Journal of Phycology*, 44(1), 63–79. <https://doi.org/10.1080/09670260802578534>

Tišljár, J. (1994). *Sedimentologija karbonata i evaporita*. Zagreb: Institut za geološka istraživanja.

Tobiszewski, M., & Namieśnik, J. (2012). PAH diagnostic ratios for the identification of pollution emission sources. *Environmental Pollution*, 162, 110–119. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2011.10.025>

Tomšić, S., & Lovrić, J. (2004). Povijesni pregled uzgoja kamenica u Malostonskom zaljevu. *Naše more*, 51(1–2), 17–23.

Tornero, V., & Hanke, G. (2016). Chemical contaminants entering the marine environment from sea-based sources: A review with a focus on European seas. *Marine Pollution Bulletin*, 112(1–2), 17–38. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.06.091>

Trainer, V. L. (2003). *Paralytic shellfish toxins in Puget Sound, Washington State*. (Technical report/PDF). <https://soundtoxins.org/papers/TrainerPSP03.pdf>

Trainer, V. L., Bates, S. S., Lundholm, N., Thessen, A. E., Cochlan, W. P., Adams, N. G., & Trick, C. G. (2011). *Pseudo-nitzschia* physiological ecology, phylogeny, toxicity, monitoring and impacts on ecosystem health. *Harmful Algae*, 14, 271–300. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2011.10.025>

Trainer, V., Moore, L., Bill, B., Adams, N., Harrington, N., Borchert, J., Da Silva, D., & Eberhart, B. (2013). Diarrhetic shellfish toxins and other lipophilic toxins of human health concern in Washington State. *Marine Drugs*, 11(6), 1815–1835. <https://doi.org/10.3390/md11061815>

Trainer, V. L., Moore, S. K., Hallegraeff, G., Kudela, R. M., Clement, A., Mardones, J. I., & Cochlan, W. P. (2019). Pelagic harmful algal blooms and climate change: Lessons from nature's experiments with extremes. *Harmful Algae*, 91, 101591. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2019.03.009>

Trick, C. G., Bill, B. D., Cochlan, W. P., Wells, M. L., Trainer, V. L., & Pickell, L. D. (2010). Iron enrichment stimulates toxic diatom production in high-nitrate, low-chlorophyll areas. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(13), 5887–5892. <https://doi.org/10.1073/pnas.0910579107>

Tripuraneni, J., Koutsouris, A., Pestic, L., De Lanerolle, P., & Hecht, G. (1997). The toxin of diarrhetic shellfish poisoning, okadaic acid, increases intestinal epithelial paracellular permeability. *Gastroenterology*, 112(1), 100–108. [https://doi.org/10.1016/s0016-5085\(97\)70224-5](https://doi.org/10.1016/s0016-5085(97)70224-5)

Trisciani, A., Perra, G., Caruso, T., Focardi, S., & Corsi, I. (2012). Phase I and II biotransformation enzymes and polycyclic aromatic hydrocarbons in the Mediterranean mussel (*Mytilus galloprovincialis*, Lamarck, 1819) collected in front of an oil refinery. *Marine Environmental Research*, 79, 29–36. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2012.04.006>

- Tumolo, M., Ancona, V., De Paola, D., Losacco, D., Campanale, C., Massarelli, C., & Uricchio, V. F. (2020). Chromium pollution in European water, sources, health risk, and remediation Strategies: An Overview. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(15), 5438. <https://doi.org/10.3390/ijerph17155438>
- Turk, M. F., Ivanić, M., Dautović, J., Bačić, N., & Mikac, N. (2020). Simultaneous analysis of butyltins and total tin in sediments as a tool for the assessment of tributyltin behaviour, long-term persistence and historical contamination in the coastal environment. *Chemosphere*, 258, 127307. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127307>
- Türkmen, A., Türkmen, M., Tepe, Y., & Akyurt, İ. (2004). Heavy metals in three commercially valuable fish species from İskenderun Bay, Northern East Mediterranean Sea, Turkey. *Food Chemistry*, 91(1), 167–172. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.08.008>
- Türkmen, M., Türkmen, A., Tepe, Y., Töre, Y., & Ateş, A. (2008). Determination of metals in fish species from Aegean and Mediterranean seas. *Food Chemistry*, 113(1), 233–237. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.06.071>
- Turkington, R. E., Hukriede, N. A., Ho, J., Nishad Jayasundara, & Sanders, A. P. (2025). Metal mechanisms of mitochondrial toxicity: recent review of arsenic, cadmium, and lead-induced nephrotoxicity. *Environmental Science and Pollution Research*. <https://doi.org/10.1007/s11356-025-36538-6>
- Turner, A. (1996). Trace-metal partitioning in estuaries: importance of salinity and particle concentration. *Marine Chemistry*, 54(1–2), 27–39. [https://doi.org/10.1016/0304-4203\(96\)00025-4](https://doi.org/10.1016/0304-4203(96)00025-4)
- Turner, A., & Millward, G. (2002). Suspended particles: Their role in estuarine biogeochemical cycles. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 55(6), 857–883. <https://doi.org/10.1006/ecss.2002.1033>
- Twiner, M. (2008). Azaspiracid Shellfish Poisoning: A Review on the Chemistry, Ecology, and Toxicology with an Emphasis on Human Health Impacts. *Marine Drugs*, 6(2), 39–72. <https://doi.org/10.3390/md20080004>
- Twining, B. S., Nodder, S. D., King, A. L., Hutchins, D. A., LeClerc, G. R., DeBruyn, J. M., Maas, E. W., Vogt, S., Wilhelm, S. W., & Boyd, P. W. (2014). Differential remineralization of major and

trace elements in sinking diatoms. *Limnology and Oceanography*, 59(3), 689–704. <https://doi.org/10.4319/lo.2014.59.3.0689>

Ujevic, I., Odzak, N., & Baric, A. (2000). Trace metal accumulation in different grain size fractions of the sediments from a semi-enclosed bay heavily contaminated by urban and industrial wastewaters. *Water Research*, 34(11), 3055–3061. [https://doi.org/10.1016/s0043-1354\(99\)00376-0](https://doi.org/10.1016/s0043-1354(99)00376-0)

Ujević, I., Kljaković-Gašpić, Z., & Bogner, D. (2010). Influence of suspended matter on cadmium accumulation in sediment from Kaštela Bay, Adriatic Sea, Croatia. *Acta Adriatica*, 51(1), 79–88.

Ujević, I., Ninčević Gladan, Ž., Roje, R., Skejić, S., Arapov, J., & Marasović, I. (2010). Domoic acid - a new toxin in the Croatian Adriatic shellfish toxin profile. *Molecules*, 15(10), 6835–6849. <https://doi.org/10.3390/molecules15106835>

Ujević, I., Roje, R., Ninčević-Gladan, Ž., & Marasović, I. (2011). First report of Paralytic Shellfish Poisoning (PSP) in mussels (*Mytilus galloprovincialis*) from eastern Adriatic Sea (Croatia). *Food Control*, 25(1), 285–291. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.10.050>

Ujević, I., Vuletić, N., Lušić, J., Nazlić, N., & Kušpilić, G. (2015). Bioaccumulation of trace metals in mussel (*Mytilus galloprovincialis*) from Mali Ston Bay during DSP toxicity episodes. *Molecules*, 20(7), 1303113040. <https://doi.org/10.3390/molecules200713031>

Ukalska-Jaruga, A., Smreczak, B., & Klimkowicz-Pawlas, A. (2018). Soil organic matter composition as a factor affecting the accumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Journal of Soils and Sediments*, 19(4), 1890–1900. <https://doi.org/10.1007/s11368-018-2214-x>

United Nations Environment Programme/Mediterranean Action Plan & Plan Bleu. (2020). *State of the environment and development in the Mediterranean* (SoED 2020). United Nations Environment Programme. Dostupno na <https://planbleu.org/wp-content/uploads/2020/11/SoED-Full-Report.pdf>

United Nations Environment Programme (2019). *Global Mercury Assessment 2018*. Nairobi: United Nations Environment Programme. Dostupno na <https://www.unep.org/resources/publication/global-mercury-assessment-2018?utm>

United Nations Environment Programme. (2021). *From pollution to solution: A global assessment of marine litter and plastic pollution*. United Nations Environment Programme. Dostupno na https://medblueconomyplatform.org/wp-content/uploads/2021/10/2021_frompollutiontosolution.pdf

United Nations. (1982). United Nations Convention on the Law of the Sea (UNCLOS) / Konvencija Ujedinjenih naroda o pravu mora. *United Nations Treaty Series*. https://www.un.org/depts/los/convention_agreements/texts/unclos/unclos_e.pdf

United States Environmental Protection Agency (US EPA). (2007). Method 7473: Mercury in solids and solutions by thermal decomposition, amalgamation, and atomic absorption spectrophotometry (SW-846). United States Environmental Protection Agency. Dostupno na <https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-12/documents/7473.pdf>

United States Environmental Protection Agency (US EPA). (2018). *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs)*. United States Environmental Protection Agency, technical/regulatory document. Dostupno na https://downloads.regulations.gov/EPA-HQ-OW-2018-0618-0555/attachment_17.pdf

Valdiglesias, V., Prego-Faraldo, M., Pásaro, E., Méndez, J., & Laffon, B. (2013). Okadaic Acid: More than a Diarrheic Toxin. *Marine Drugs*, 11(11), 4328–4349. <https://doi.org/10.3390/md11114328>

Vance, D., Little, S.H., Archer, C., Cameron, V., Andersen, M.B., Rijkenberg, M.J.A. and Lyons, T.W. (2016). The oceanic budgets of nickel and zinc isotopes: the importance of sulfidic environments as illustrated by the Black Sea. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 374(2081), p.20150294. <https://doi.org/10.1098/rsta.2015.0294>.

Vane, C. H., Kim, A. W., Emmings, J. F., Turner, G. H., Moss-Hayes, V., Lort, J. A., & Williams, P. J. (2020). Grain size and organic carbon controls polyaromatic hydrocarbons (PAH), mercury (Hg) and toxicity of surface sediments in the River Conwy Estuary, Wales, UK. *Marine Pollution Bulletin*, 158, 111412. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111412>

Varol, M. (2011). Assessment of heavy metal contamination in sediments of the Tigris River (Turkey) using pollution indices and multivariate statistical techniques. *Journal of Hazardous Materials*, 195, 355–364. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.08.051>

Vilibić, I., Zemunik, P., Šepić, J., Dunić, N., Marzouk, O., Mihanović, H., Denamiel, C., Precali, R., & Djakovac, T. (2019). Present climate trends and variability in thermohaline properties of the northern Adriatic shelf. *Ocean Science*, 15(5), 1351–1362. <https://doi.org/10.5194/os-15-1351-2019>

Vilibić, I., Pranić, P., & Denamiel, C. (2023). North Adriatic Dense Water: lessons learned since the pioneering work of Mira Zore-Armanda 60 years ago. *Acta Adriatica*, 64(1), 53–78. <https://doi.org/10.32582/aa.64.1.11>

Viličić, D., Jasprica, N., Carić, M., & Burić, Z. (1998). Taxonomic composition and seasonal distribution of microphytoplankton in Mali Ston Bay (eastern Adriatic). *Acta Botanica Croatica*, 57(1), 29–48.

Vincent, J. B. (2017). New Evidence against Chromium as an Essential Trace Element. *The Journal of Nutrition*, 147(12), 2212–2219. <https://doi.org/10.3945/jn.117.255901>

Visciano, P., Schirone, M., Berti, M., Milandri, A., Tofalo, R., & Suzzi, G. (2016). Marine biotoxins: occurrence, toxicity, regulatory limits and reference methods. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1051. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01051>

Vodyanitskii, Y., & Vlasov, D. (2021). Integrated Assessment of Affinity to Chemical Fractions and Environmental Pollution with Heavy Metals: A New Approach Based on Sequential Extraction Results. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(16), 8458. <https://doi.org/10.3390/ijerph18168458>

Von Hellfeld, R., Zarzuelo, M., Zaldibar, B., Cajaraville, M. P., & Orbea, A. (2022). Accumulation, Depuration, and Biological Effects of Polystyrene Microplastic Spheres and Adsorbed Cadmium and Benzo(a)pyrene on the Mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Toxics*, 10(1), 18. <https://doi.org/10.3390/toxics10010018>

Vrdoljak, L., Režić, M., & Petričević, I. (2021). BATHYMETRIC AND GEOLOGICAL PROPERTIES OF THE ADRIATIC SEA. *Rudarsko-geološko-naftni Zbornik*, 36(2), 93–107. <https://doi.org/10.17794/rgn.2021.2.9>

Vuletić, N., Lušić, J., & Anđelić, I. (2021). Analysis of Manganese Bioaccumulated in Mediterranean Blue Mussel (*Mytilus galloprovincialis*) from the Bay of Mali Ston (Adriatic Sea, Croatia) during Diarrhetic Shellfish Poisoning Toxicity. *Journal of Marine Science and Engineering*, 9(5), 451. <https://doi.org/10.3390/jmse9050451>

Zhou, C., Gao, Y., Gaulier, C., Luo, M., Zhang, X., Bratkic, A., Davison, W., & Baeyens, W. (2020). Advances in understanding mobilization processes of trace metals in marine sediments. *Environmental Science & Technology*, 54(23), 15151–15161. <https://doi.org/10.1021/acs.est.0c05954>

Zoboli, O., Weber, N., Braun, K., Krampe, J., & Zessner, M. (2024). Systematic underestimation of polycyclic aromatic hydrocarbon aqueous concentrations in rivers. *Environmental Science and Pollution Research*, 31(26), 38117–38127. <https://doi.org/10.1007/s11356-024-33787-9>

Živković, I., Šolić, M., Kotnik, J., Žižek, S., & Horvat, M. (2017). The abundance and speciation of mercury in the Adriatic plankton, bivalves and fish – a review. *Acta Adriatica*, 58(3), 391–418. <https://doi.org/10.32582/aa.58.3.2>

Qu, F., & Zheng, W. (2024). Cadmium exposure: Mechanisms and pathways of toxicity and implications for human health. *Toxics*, 12(6), 388. <https://doi.org/10.3390/toxics12060388>

Que, W., Yi, L., Wu, Y., & Li, Q. (2024). Analysis of heavy metals in sediments with different particle sizes and influencing factors in a mining area in Hunan Province. *Scientific Reports*, 14(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-024-71502-3>

Queiroz, J. B. M., Da Costa, K. G., De Oliveira, A. R. G., Brito, E. P., Nunes, Z. M. P., Pereira, L. C. C., & Da Costa, R. M. (2024). Ballast water transport of alien phytoplankton species to the brazilian amazon coast. *Environmental Pollution*, 360, 124656. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2024.124656>

Walha, L. D., Hamza, A., Keskes, F. A., Cibic, T., Mechi, A., Mahfoudi, M., & Sammari, C. (2021). Heavy metals accumulation in environmental matrices and their influence on potentially

harmful dinoflagellates development in the Gulf of Gabes (Tunisia). *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 254, 107317. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2021.107317>

Wang, W., & Rainbow, P. S. (2010). Significance of metallothioneins in metal accumulation kinetics in marine animals. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C Toxicology & Pharmacology*, 152(1), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2010.02.015>

Wang, C. L., Zou, X. Q., Zhao, Y. F., Li, Y. L., Song, Q. C., Wang, T., & Yu, W. W. (2017). Distribution pattern and mass budget of sedimentary polycyclic aromatic hydrocarbons in shelf areas of the Eastern China Marginal Seas. *Journal of Geophysical Research Oceans*, 122(6), 4990–5004. <https://doi.org/10.1002/2017jc012890>

Wang, Y., Zhang, H., Chen, H., & Chai, F. (2018). The sources and transport of iron in the North Pacific and its impact on marine ecosystems. *Atmospheric and Oceanic Science Letters*, 12(1), 30–34. <https://doi.org/10.1080/16742834.2019.1545513>

Wang, W., Goring-Harford, H., Kunde, K., Woodward, E. M. S., Lohan, M. C., Connelly, D. P., & James, R. H. (2023). Biogeochemical cycling of chromium and chromium isotopes in the subtropical North Atlantic Ocean. *Frontiers in Marine Science*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmars.2023.1165304>

Wang, H., Wang, W., Ellwood, M. J., Li, J., Zhou, H., Butterfield, D. A., Buck, N. J., Maharaj, P., & Resing, J. A. (2024). Dissolved Cu isotope compositions in hydrothermal plumes over back-arc volcanoes in the Northeast Lau Basin, Southwest Pacific Ocean. *Geochimica Et Cosmochimica Acta*, 381, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2024.07.033>

Wang, Z., Meng, Q., Sun, K., & Wen, Z. (2024). Spatiotemporal distribution, bioaccumulation, and ecological and human health risks of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface water: a Comprehensive review. *Sustainability*, 16(23), 10346. <https://doi.org/10.3390/su162310346>

Wang, M., Du, L., Chen, Q., Sun, Z., & Chen, Q. (2025). Sediment physicochemistry outweighs anthropogenic factors in driving sediment heavy metals accumulation within mangrove forests across Hainan Island, China. *Marine Pollution Bulletin*, 223, 118944. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2025.118944>

Weber, T., John, S., Tagliabue, A., & DeVries, T. (2018). Biological uptake and reversible scavenging of zinc in the global ocean. *Science*, 361(6397), 72–76. <https://doi.org/10.1126/science.aap8532>

Webster, L. i Fryer, R. (2022). Status and Trends in the Concentrations of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Shellfish and Sediment. U: OSPAR, 2023: The 2023 Quality Status Report for the North-East Atlantic. OSPAR Commission, London.

Welz, B., & Sperling, M. (1998). *Atomic absorption spectrometry*. <https://doi.org/10.1002/9783527611690>

Wentworth, C. K. (1922). A scale of grade and class terms for clastic sediments. *The Journal of Geology*, 30(5), 377–392. <https://doi.org/10.1086/622910>

World Bank. (2024). *Charting Croatia's blue economy pathways*. World Bank. <https://doi.org/10.1596/41409>

World Health Organization (WHO). (2020). Chromium in drinking-water: Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality. *WHO Press*. Dostupno na <https://cdn.who.int/media/docs/default-source/wash-documents/wash-chemicals/chromium-background-201223.pdf>

Woosley, R. J., & Millero, F. J. (2012). Pitzer model for the speciation of lead chloride and carbonate complexes in natural waters. *Marine Chemistry*, 149, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.marchem.2012.11.004>

Xu, X., Shi, R., Lv, C., Liu, H., Yang, W., Qian, S., Fujibayashi, M., Zhi, Y., Wang, G., Nomura, M., Nishimura, O., & Li, W. (2021). Hydrodynamic-Driven changes in the source and composition of sedimentary organic matter via grain size distribution in shallow lakes. *Journal of Geophysical Research Biogeosciences*, 126(11). <https://doi.org/10.1029/2021jg006502>

Xu, S., & Yu, T. (2024). Sources, determination, and safety assessment of cadmium in bivalves. *Cogent Food & Agriculture*, 10(1). <https://doi.org/10.1080/23311932.2024.2436135>

Yakan, S., Focks, A., Klasmeier, J., & Okay, O. (2016). Numerical evaluation of bioaccumulation and depuration kinetics of PAHs in *Mytilus galloprovincialis*. *Environmental Pollution*, 220 (Pt B), 1244–1250. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.11.009>

Yang, J., Sun, W., Sun, M., Cui, Y., & Wang, L. (2024). Current research status of azaspiracids. *Marine Drugs*, 22(2), 79. <https://doi.org/10.3390/md22020079>

Yap, C. K., Sharifinia, M., Cheng, W. H., Al-Shami, S. A., Wong, K. W., & Al-Mutairi, K. A. (2021). A commentary on the use of bivalve mollusks in monitoring metal pollution levels. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(7), 3386. <https://doi.org/10.3390/ijerph18073386>

Ye, N., Han, W., Toseland, A., Wang, Y., Fan, X., Xu, D., van Oosterhout, C., Aslam, S. N., Barry, K., Beszteri, B., Brussaard, C., Clum, A., Copeland, A., Daum, C., Duncan, A., Eloë-Fadrosh, E., Fong, A., Foster, B., Foster, B., Ginzburg, M., Huntemann, M., Ivanova N.N., Kyrpides C.N., Martin, K., Moulton, V., Mukherjee, S., Palaniappan, K., Reddy, T.B.K., Roux, S., Schmidt, K., Strauss, J., Timmermans, K., Tringe, G.S., Underwood, J.C.G., Valentin, U.K., van de Poll, H.W., Varghese, N., Grigoriev, I.V., Tagliabue, A., Zhang, J., Zhang, Y., Ma, J., Qiu, H., Li, Y., Zhang, X. and Mock, T. (2022). The role of zinc in the adaptive evolution of polar phytoplankton. *Nature Ecology & Evolution*, 6(7), pp.965–978. <https://doi.org/10.1038/s41559-022-01750-x>.

Yuan, K., Li, H., & Yang, W. (2024). Marine Algal Toxins and Public Health: Insights from Shellfish and Fish, the Main Biological Vectors. *Marine Drugs*, 22(11), 510. <https://doi.org/10.3390/md22110510>

Yunker, M. B., Macdonald, R. W., Vingarzan, R., Mitchell, R. H., Goyette, D., & Sylvestre, S. (2002). PAHs in the Fraser River basin: a critical appraisal of PAH ratios as indicators of PAH source and composition. *Organic Geochemistry*, 33(4), 489–515. [https://doi.org/10.1016/s0146-6380\(02\)00002-5](https://doi.org/10.1016/s0146-6380(02)00002-5)

Zelikoff, J. T., Li, J. H., Hartwig, A., Wang, X., Costa, M., & Rossman, T. G. (1988). Genetic toxicology of lead compounds. *Carcinogenesis*, 9(10), 1727–1732. <https://doi.org/10.1093/carcin/9.10.1727>

Zelinkova, Z., & Wenzl, T. (2015). The occurrence of 16 EPA PAHs in food – a review. *Polycyclic Aromatic Compounds*, 35(2–4), 248–284. <https://doi.org/10.1080/10406638.2014.918550>

Zendong, Z., McCarron, P., Herrenknecht, C., Sibat, M., Amzil, Z., Cole, R. B., & Hess, P. (2015). High resolution mass spectrometry for quantitative analysis and untargeted screening of algal

toxins in mussels and passive samplers. *Journal of Chromatography A*, 1416, 10–21. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.08.064>

Zhang, C., Yu, Z., Zeng, G., Jiang, M., Yang, Z., Cui, F., Zhu, M., Shen, L., & Hu, L. (2014). Effects of sediment geochemical properties on heavy metal bioavailability. *Environment International*, 73, 270–281. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.08.010>

Zhang, S., Xu, D., Tian, W., Lu, Z., Zhou, Y., Chu, M., Zhao, J., Liu, B., Cao, H., Zhang, R., & Chen, Z. (2024). The effect of bioturbation on the release behavior of polycyclic aromatic hydrocarbons from sediments: A sediment–seawater microcosm experiment combined with a fugacity model. *Environmental Pollution*, 349, 123933. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2024.123933>

Zhao, R., Dong, X., Liu, Q., Xu, M., & Zhao, Y. (2023). Distribution, sources and influencing factors of organic carbon in the surface sediments of the coastal tidal flats in Jiangsu Province. *Frontiers in Marine Science*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmars.2023.1220923>

Zhitkovich, A. (2011). Chromium in Drinking Water: Sources, Metabolism, and Cancer Risks. *Chemical Research in Toxicology*, 24(10), 1617–1629. <https://doi.org/10.1021/tx200251t>

Zitoun, R., Marcinek, S., Hatje, V., Sander, S. G., Völker, C., Sarin, M., & Omanović, D. (2024). Climate change driven effects on transport, fate and biogeochemistry of trace element contaminants in coastal marine ecosystems. *Communications Earth & Environment*, 5(1). <https://doi.org/10.1038/s43247-024-01679-y>

Zoffoli, G., Pezolesi, L., Simonazzi, M., Guerrini, F., Vanucci, S., Calfapietra, A., Dall’Ara, S., Servadei, I., & Pistocchi, R. (2025). A decade-long study on harmful dinoflagellate blooms and biotoxin contamination in mussels from the north-western Adriatic Sea (Mediterranean Sea). *Harmful Algae*, 146, 102870. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2025.102870>

Zonta, R., Botter, M., Cassin, D., Bellucci, L. G., Pini, R., & Dominik, J. (2018). Sediment texture and metal contamination in the Venice Lagoon (Italy): A snapshot before the installation of the MOSE system. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 205, 131–151. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2018.03.007>

El Zrelli, R., Courjault-Radé, P., Rabaoui, L., Castet, S., Michel, S., & Bejaoui, N. (2015). Heavy metal contamination and ecological risk assessment in the surface sediments of the coastal area surrounding the industrial complex of Gabes city, Gulf of Gabes, SE Tunisia. *Marine Pollution Bulletin*, 101(2), 922–929. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.10.047>

Mrežni izvori

URL 1: <https://marine.copernicus.eu/explainers/why-ocean-important/carbon-storage>;
pristupljeno: 15.09.2025.

URL 2: <https://sciencediagrams.com/copper-cycle/>; pristupljeno: 12.11.2025.

Životopis doktorandice

Antonija Bulić rođena je 10. rujna 1988. godine u Splitu, gdje je završila V. gimnaziju „Vladimir Nazor“. Na Kemijsko-tehnološkom fakultetu Sveučilišta u Splitu završila je prijediplomski studij kemije te diplomirala na smjeru Organska kemija i biokemija. Nakon završetka studija sudjelovala je u pripremi i provedbi razvojnih i inovacijskih projekata te u postupcima zaštite intelektualnog vlasništva i prijave patenata. Godine 2020. zaposlila se na Institutu za oceanografiju i ribarstvo u Splitu kao suradnica u Laboratoriju za plankton i toksičnost školjkaša, Nacionalnom referentnom laboratoriju za morske biotoksine, gdje je sudjelovala u pripremi uzoraka i provedbi analiza morskih biotoksina. Godine 2021. upisala je poslijediplomski doktorski studij Oceanologija na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu te je iste godine zaposlena kao asistentica na Institutu za oceanografiju i ribarstvo. U okviru znanstveno-istraživačkog rada bavi se primjenom spektroskopskih i kromatografskih metoda u istraživanju morskog okoliša. Sudjelovala je u objavi znanstvenih radova i konferencijskih priopćenja te u provedbi nacionalnih i međunarodnih znanstveno-istraživačkih projekata.

Znanstvena publikacija doktorandice

Ispis radova za osobu: Antonija Bulić (CroRIS na dan 1. svibnja 2026.)

Izvorni znanstveni rad

1. **Bulić, Antonija**; Pezelj, Ivana; Ujević, Ivana; Bogdanović, Tanja; Orhanović, Stjepan AZA Toxin Profiles by LC-HRMS in Shellfish from Šibenik Bay: AZA-2 Predominant Analog // *Molecules*, 31 (2026), 1; 60, 15. doi: 10.3390/molecules31010060
2. Tomašević, Tina; Arapov, Jasna; Ujević, Ivana; Bonačić, Tina; Bužančić, Mia; **Bulić, Antonija**; Skejić, Sanda; Roje-Busatto, Romana; Ninčević Gladan, Živana Growth Dynamics and Toxin Production of Pseudo-nitzschia Species Isolated from the Central Adriatic Sea // *Toxins*, 17 (2025), 6; 307, 18. doi: 10.3390/toxins17060307
3. **Bulić, Antonija**; Orhanović, Stjepan; Pezelj, Ivana; Ujević, Ivana First detection of the gymnodimine A isomer, 13-desmethylspirolide D and pinnatoxin G in mussels from Croatia's southern Adriatic Sea // *Marine pollution bulletin*, 215 (2025), 117888, 15. doi: 10.1016/j.marpolbul.2025.117888

Prilog sa skupa (u zborniku)

1. Ujević, Ivana; **Bulić, Antonija**; Pezelj, Ivana; Bogdanović, Tanja; Orhanović, Stjepan Quantification of azaspiracid-2 and characterization of analogous variability in mussels from the Central Adriatic Sea // 21st International Conference on Harmful Algae, ICHA 2025; From HAB Science to Environmental Resilience; Abstract Book. Punta Arenas: Chile, Punta Arenas; International Society for the Study of Harmful Algae (ISSHA), 2025. str. 298-298
2. Tomašević, Tina; Arapov, Jasna; Bonačić, Tina; Ujević, Ivana; Skejčić, Sanda; Bužančić, Mia; **Bulić, Antonija**; Roje-Busatto, Romana; Ninčević Gladan, Živana Toksičnost i dinamika rasta vrsta roda *Pseudo-nitzschia* s područja uzgoja školjkaša u srednjem Jadranskom moru // Zbornik sažetaka, 15. Hrvatski biološki kongres s međunarodnim sudjelovanjem / Bosak, Sunčica; Gračan, Romana; Korać, Petra (ur.). Zagreb: Hrvatsko biološko društvo, 2025. str. 284-285
3. Roje Busatto, Romana; Ujević, Ivana; **Bulić, Antonija**; Nazlić, Nikša; Garber, Roman Further evidence for the persistent presence of yessotoxins in the eastern Adriatic Sea // 21st International Conference on Harmful Algae, ICHA 2025; From HAB Science to Environmental Resilience; Abstract Book. Punta Arenas: Chile, Punta Arenas; International Society for the Study of Harmful Algae (ISSHA), 2025. str. 304-304
4. Roje-Busatto, Romana; Ujević, Ivana; **Bulić, Antonija**; Orhanović, Stjepan; Pezelj, Ivana; Bogdanović, Tanja First detection of azaspiracid-2 in shellfish from the Croatian coast of the Adriatic Sea // EGU General Assembly 2025 Beč, Austrija, 27.04.2025-02.05.2025. doi: 10.5194/egusphere-egu25-21176
5. Ujević, Ivana; **Bulić, Antonija**; Roje-Busatto, Romana; Nazlić, Nikša Istraživanje domoične kiseline u populaciji brbavica, *Venus verrucosa* (Linnaeus, 1758) iz Kaštelanskog zaljeva (Srednji Jadran) // Knjiga sažetaka I. znanstveno - stručnog skupa s međunarodnim sudjelovanjem posvećenog marikulturi u Jadranskom moru - Adriatic Mariculture / Bavčević, Lav; Čolak, Slavica; Župan, Ivan et al. (ur.). Zadar: Sveučilište u Zadru, 2024. str. 50-50
6. **Bulić, Antonija**; Ujević, Ivana; Orhanović, Stjepan; Žaper, Ivana Prostorna raspodjela cikličkih imina u školjkašima s područja južnog Jadrana // Knjiga sažetaka I. znanstveno - stručnog skupa s međunarodnim sudjelovanjem posvećenog marikulturi u Jadranskom

- moru - Adriatic Mariculture / Bavčević, Lav; Čolak, Slavica; Župan, Ivan et al. (ur.). Zadar: Sveučilište u Zadru, 2024. str. 25-25
7. Ujević, Ivana; **Bulić, Antonija**; Roje-Busatto, Romana; Nazlić, Nikša Long-term study of domoic acid in the population of warty venus from a semi-enclosed bay in the Middle Adriatic Sea // 20th International Conference on Harmful Algae, ICHA 2023: HAB Science and Human Well-being: Abstract book. Hiroshima, Japan: International Society for the Study of Harmful Algae (ISSHA), 2023. str. 417-417
 8. Bonačić, Tina; Tomašević, Tina; Pejković, Mia; Bušelić Garber, Ivana; Lepen Pleić, Ivana; Ujević, Ivana; **Bulić, Antonija**; Roje-Busatto, Romana; Penna, Antonella; Casabianca, Silvia et al. Diversity and toxigenic characteristics of cultured Pseudo-nitzschia species from East Adriatic Sea // "Scientific Opportunities for a Global Algal Revolution" : Program and Book of Abstracts of the 8th European Phycological Congress / Connan, Solène; Creis, Emeline; Jacquemin, Bertrand et al. (ur.). Brest: Federation of European Psychological Societies (FEPS), 2023. str. 212-212
 9. **Bulić, Antonija**; Ujević, Ivana; Orhanović, Stjepan; Žaper, Ivana Screening of cycle imine toxins in Mytilus galloprovincialis in Neretva river and Bay of Mali Ston // 20th International Conference on Harmful Algae, ICHA 2023: HAB Science and Human Well-being: Abstract book. Hiroshima, Japan: International Society for the Study of Harmful Algae (ISSHA), 2023. str. 326-326
 10. **Bulić, Antonija**; Ujević, Ivana; Roje-Busatto, Romana CONTROL OF REGULATED MARINE BIOTOXINS IN NATURAL AND HARVESTED MUSSEL SAMPLES // 14th International Scientific and Professional Conference With food to health: Book of abstracts / Babić, Jurislav; Šubarić, Drago (ur.). Osijek: Faculty of Food Technology Osijek, University of Josip Juraj Strossmayer in Osijek, 2023. str. 64-64
 11. **Bulić, Antonija**; Ujević, Ivana; Roje-Busatto, Romana; Orhanović, Stjepan; Žaper, Ivana Occurrence of marine biotoxins in Venus verrucosa from the Adriatic Sea // 1st European Green Conference: Book of Abstracts / Habuda-Stanić, Mirna (ur.). Osijek: International Association of Environmental Scientists and Professionals (IAESP), 2023. str. 135-135
 12. **Bulić, Antonija**; Orhanović, Stjepan; Žaper, Ivana Emerging Marine Biotoxins in Mussels (Mytilus galloprovincialis) from the Southern Adriatic Sea // XIV Mass Spectrometry in

Biotechnology and Medicine (MSBM), Abstract book. nepoznat: nepoznat, 2022. str. 12-13