

Postojana organska onečišćivala u slatkim vodama: prostorna distribucija i analiza rizika

Terzić, Ivana

Master's thesis / Diplomski rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Chemical Engineering and Technology / Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:149:797145>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-23**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Chemical Engineering and Technology University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Ivana Terzić

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, ožujak 2024.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Ivana Terzić

**POSTOJANA ORGANSKA ONEČIŠĆIVALA
U SLATKIM VODAMA:
PROSTORNA DISTRIBUCIJA I ANALIZA RIZIKA**

DIPLOMSKI RAD

Mentor: znanstveno-nastavno radno mjesto: prof. dr. sc. Šime Ukić, Fakultet
kemijskog inženjerstva i tehnologije

Komentor: znanstveni savjetnik u trajnom izboru: dr. sc. Snježana Herceg Romanić,
Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada

Članovi ispitnog povjerenstva:

1. znanstveno-nastavno radno mjesto: prof. dr. sc. Šime Ukić, Fakultet
kemijskog inženjerstva i tehnologije
2. znanstveno-nastavno radno mjesto: doc. dr. sc. Matija Cvetnić, Fakultet
kemijskog inženjerstva i tehnologije
3. znanstveni savjetnik u trajnom izboru: dr. sc. Snježana Herceg
Romanić, Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada

Zagreb, ožujak 2024.

Ovo istraživanje (diplomski rad) proizašlo je iz rada na opremi nabavljenoj u sklopu projekta KK.01.1.1.02.0007 „Research and Education Centre of Environmental Health and Radiation Protection – Reconstruction and Expansion of the Institute for Medical Research and Occupational Health” te u sklopu projekta „Onečišćenje okoliša i ljudsko zdravlje: fizikalno-kemijska analiza, toksičnost i modeli strojnog učenja” (EnvironPollutHealth) voditeljice dr. sc. Herceg Romanić financiranog iz sredstava Europske unije – NextGenerationEU (Programski ugovor od 8. prosinca 2023. KLASA: 643-02/23-01/00016, URBROJ: 533-03-23-0006).

Zahvaljujem se mentoru prof. dr. sc. Šimi Ukiću, komentorici dr. sc. Snježani Herceg Romanić i doc. dr. sc. Mariju Lovriću na predloženoj temi, korisnim savjetima te strpljenju i vremenu za brojne upite prilikom izrade diplomskog rada.

Zahvaljujem suprugu Teu, roditeljima i svima koji su uskakali kad je trebalo, na pruženoj pomoći tijekom studiranja i tijekom izrade ovog diplomskog rada.

SAŽETAK

Ovaj diplomski rad usredotočen je na proučavanje postojanih organskih onečišćivala (engl. *persistent organic pollutants*, POPs), stavljajući naglasak na njihove osnovne karakteristike te ekotoksikološke rizike koje predstavljaju. U radu su detaljno analizirani poliklorirani bifenili (PCB), organoklorni pesticidi (OCP) i policiklički aromatski ugljikovodici (PAH) kao primjeri POPs-ova. Inovativni aspekt ovog rada je primjena *in silico* modeliranja, uključujući prediktivnu toksikologiju i napredne statističke analize, kako bi se poboljšalo razumijevanje i predviđanje toksikoloških svojstava ovih onečišćujućih tvari. Upotrebom VEGA QSAR modela analizirana je toksičnost, postojanost i bioakumulacija u sedimentima Hrvatske, koja je zbog svojih bogatih vodnih resursa idealna za proučavanje utjecaja POPs-ova. Sedimenti služe kao indikator za procjenu onečišćenja zahvaljujući svojoj sposobnosti akumulacije tvari. Iako postoje određena mjerenja, podaci o rasprostranjenosti i koncentracijama PCB-ova i OCP-ova su ograničeni, što ističe potrebu za daljnjim istraživanjima. Napredak ovog rada leži u primjeni sofisticiranih analitičkih metoda, uključujući kemometrijske pristupe, kao što su analiza glavnih komponenata (PCA) i hijerarhijska klaster analiza (HCA), koje omogućuju detaljnu obradu i interpretaciju prikupljenih podataka. Ovi pristupi omogućavaju ne samo identifikaciju i kvantifikaciju prisutnosti spojeva u sedimentima, već i dubinsko razumijevanje njihove distribucije, transporta i ekotoksikološkog utjecaja na akvatične ekosustave. Kroz temeljitu analizu uzoraka sedimenta prikupljenih iz različitih dijelova Hrvatske, rad istražuje regionalne razlike u koncentracijama i potencijalnim izvorima promatranih onečišćujućih tvari, te evaluira rizike koje one predstavljaju za okoliš i zdravlje ljudi.

Zaključno, rad pridonosi značajnom napretku u razumijevanju ekotoksikoloških rizika povezanih s postojanim organskim onečišćujućim tvarima u hrvatskim slatkovodnim ekosustavima, naglašavajući potrebu za daljnjim istraživanjima i implementacijom adekvatnih mjera zaštite.

Ključne riječi: postojana organska onečišćivala, slatkovodni sustav, procjena ekotoksikološkog rizika, QSAR, analiza glavnih komponenata, hijerarhijska klaster analiza

SUMMARY

This thesis is focused on the study of persistent organic pollutants (POPs), emphasizing their basic characteristics and the ecotoxicological risks they pose. It provides a detailed analysis of polychlorinated biphenyls (PCBs), organochlorine pesticides (OCPs), and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) as examples of POPs. An innovative aspect of this work is the application of „*in silico*“ modeling, including predictive toxicology and advanced statistical analyses, to enhance the understanding and prediction of the toxicological properties of these pollutants. The toxicity, persistence, and bioaccumulation in Croatian sediments, which are ideal for studying the impact of POPs due to the country's rich water resources, were analyzed using the VEGA QSAR model. Sediments serve as an indicator for pollution assessment thanks to their ability to accumulate substances. While certain measurements exist, data on the prevalence and concentrations of PCBs and OCPs are limited, highlighting the need for further research. This work advances by applying sophisticated analytical methods, including chemometric approaches such as principal component analysis (PCA) and hierarchical cluster analysis (HCA), which allow for a detailed processing and interpretation of collected data. These approaches enable not only the identification and quantification of compounds in sediments but also a deep understanding of their distribution, transport and ecotoxicological impact on aquatic ecosystems. Through a thorough analysis of sediment samples collected from various parts of Croatia, the study explores regional differences in concentrations and potential sources of the observed pollutants and evaluates the risks they pose to the environment and human health.

In conclusion, this work contributes significantly to the understanding of the ecotoxicological risks associated with persistent organic pollutants in Croatian freshwater ecosystems, underscoring the need for further research and the implementation of adequate protection measures.

Keywords: persistent organic pollutants, freshwater system, ecotoxicological risk assessment, QSAR, principal component analysis, hierarchical cluster analysis

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. OPĆI DIO.....	7
2.1. STOCKHOLMSKA KONVENCIJA I NJEZINA UČINKOVITOST	7
2.2. OSNOVNE KARAKTERISTIKE I VRSTE POP-OVA	9
2.2.1. POLIKLORIRANI BIFENILI.....	9
2.2.2. ORGANOKLORNI PESTICIDI.....	11
2.3. POLICIKLIČKI AROMATSKI UGLJIKOVODICI	15
2.4. PROCJENA EKOTOKSIKOLOŠKOG RIZIKA	17
2.4.1. KRUŽENJE PCB-OVA, OCP-OVA I PAH-OVA U OKOLIŠU I NJIHOV UTJECAJ.....	17
2.5. ANALIZA PCB-OVA, OCP-OVA I PAH-OVA U HRVATSKOJ	20
2.6. <i>IN SILICO</i> MODELIRANJE	26
2.6.1. STROJNO UČENJE	26
2.6.2. PREDIKTIVNA TOKSIKOLOGIJA I NJENA PRIMJENA U REGULATORNOM KONTEKSTU	28
2.6.3. VEGA QSAR	29
2.6.4. ANALIZA GLAVNIH KOMPONENATA	33
3. EKSPERIMENTALNI DIO.....	35
3.1. ODREĐIVANJE PCB-OVA I OCP-OVA U RIJEČNOM SEDIMENTU	35
3.1.1. UZORKOVANJE RIJEČNIH SEDIMENATA.....	35
3.1.2. KARAKTERIZACIJA RIJEČNIH SEDIMENATA.....	37
3.2. ODREĐIVANJE PAH-A U RIJEČNOM SEDIMENTU	38
3.3. MODELIRANJE	38
3.3.1. VEGA QSAR ALAT.....	38
3.4. PROCJENA RIZIKA	43
3.4.1. IZBOR VEGA QSAR MODELA	43
3.4.2. PROCJENA TOKSIČNOSTI <i>IN SILICO</i> I PRIORITIZACIJA PCB-OVA, OCP-OVA I PAH-OVA	44
3.4.3. REDUKCIJA DIMENZIONALNOSTI I GRUPIRANJE PODATAKA	46
4. REZULTATI I RASPRAVA	47
4.1. KARAKTERIZACIJA RIJEČNIH SEDIMENATA.....	47
4.2. PROCJENA RIZIKA	50
4.2.1. VEGA QSAR MODELI.....	50
4.2.2. PRIORITIZACIJA UZORAKA SEDIMENTA: METODA TU.....	52
4.2.3. PRIORITIZACIJA UZORAKA SEDIMENTA: METODA PBTC	62
4.2.4. REDUKCIJA DIMENZIONALNOSTI I GRUPIRANJE PODATAKA	65
5. ZAKLJUČAK	74
6. LITERATURA.....	75
7. POPIS KRATICA I SIMBOLA.....	89
8. ELEKTRONIČKI DODATAK.....	91
ŽIVOTOPIS	92

1. UVOD

Postojana organska onečišćivala, skraćeno zvana POPs-ovima (engl. *persistent organic pollutants*), predstavljaju alarmantnu prijetnju za stabilnost brojnih ekosustava, ali i ljudsko zdravlje. Ove onečišćujuće tvari u okoliš dospijevaju uglavnom uslijed upotrebe, no njihov izvor mogu biti i industrijska postrojenja (dio industrijskog otpada, nusprodukti industrijskih procesa).^{1,2}

POPs-ove karakterizira visoka otpornost na različite mehanizme razgradnje u okolišu, uključujući kemijske, biološke i fotolitičke procese. Stoga u okolišu ostaju dugi niz godina.³⁻⁵ Imaju veliku tendenciju translociranja pa su otkriveni i u regijama gdje njihova primarna upotreba nije evidentna, kao što su polarni ekosustavi. Tendencija bioakumuliranja kroz hranidbeni lanac implicira na ozbiljne zdravstvene i ekološke rizike, što je izazvalo povećan interes i angažman znanstvene zajednice, vladinih agencija i nevladinih organizacija.^{6,7} Istraživanje ponašanja i akumulacije POPs-ova u različitim ekosustavima postao je imperativ za održivu budućnost.

Odsustvo proaktivnih mjera u rješavanju ovog POPs-ova u okolišu potencijalno može destabilizirati ekološke sustave na globalnoj razini. U tom kontekstu, međunarodne institucije i civilno društvo nastoje pronaći efikasna rješenja. Program Ujedinjenih naroda za okoliš (engl. *United Nations Environment Programme*, UNEP) je još 1995. identificirao dvanaest ključnih POPs-ova, popularno poznatih kao „prljava dvanaestorica” (engl. *dirty dozen*). Slijedom toga, 1998. je u Montrealu ugovoren Međuvladin pregovarački odbor za POPs-ove, okupivši širok spektar međunarodnih aktera. Kao rezultat ovog okupljanja, osnovana je Međunarodna mreža za eliminaciju POPs-ova (engl. *International POPs Elimination Network*, IPEN). Stockholmska konvencija iz 2001., koja je na snazi od 2004. i koju snažno podupire UNEP, poslužila je kao kamen temeljac za globalne napore u ublažavanju štetnih učinaka POPs-ova. Ove konvencije postavile su temelj globalnim naporima za uklanjanje POPs-ova iz okoliša.³ Stockholmska konvencija utječe, među državama koje ju podržavaju, na donošenje međunarodne uredbi za upravljanje proizvodnjom, upotrebom, te trgovinom POPs-ova. To znači da konvencija nalaže mjere za ograničavanje ili potpuno eliminiranje ovih opasnih kemikalija kako bi se zaštitili ljudsko zdravlje i okoliš. Mjere uključuju strogi nadzor nad kemikalijama, zahtjeve za njihovo sigurno rukovanje i odlaganje, te obaveze za praćenje i izvještavanje o njihovoj prisutnosti u prirodi. Proces dodavanja novih kemikalija na

listu POPs-ova odvija se kroz detaljnu znanstvenu evaluaciju. Ova evaluacija ispituje njihovu trajnost u okolišu, sposobnost akumulacije u živim organizmima i potencijalnu toksičnost. Nakon što se utvrdi da kemikalija zadovoljava kriterije za klasifikaciju kao POPs, ona se može dodati na listu i postaje predmet istih međunarodnih ograničenja. Ovaj proces može trajati godinama zbog potrebe za konsenzusom među zemljama potpisnicama i temeljitih znanstvenih analiza.

Koordinirano prikupljanje bioloških uzoraka od 1960-ih predstavlja ključni instrument za detekciju i procjenu rizika od kemikalija u okolišu. Sistematsko prikupljanje i analiza uzoraka iz raznih bioloških jedinki i raznih ekosustava omogućava praćenje akumulacije štetnih tvari poput polikloriranih bifenila (PCB), diklorodifeniltrikloretana (DDT) i drugih postojanih i bioakumulirajućih kemikalija. Ova praksa je rezultirala stvaranjem tzv. biobanaka koje arhiviraju podatke o prisutnosti kemikalija kroz vrijeme. Analizirajući ove podatke, znanstvenici mogu procijeniti kako se razine kemikalija mijenjaju prije i nakon regulativnih intervencija, čime se dokazuje učinkovitost tih mjera. Ovaj metodološki pristup bio je temelj za uvođenje ograničenja na upotrebu spomenutih kemikalija te je esencijalan za rano prepoznavanje rizika i informiranje politika zaštite zdravlja i okoliša (slika 1.).⁵



Slika 1. Interakcija postojanih organskih onečišćivala s okolišem i društvom u cjelini

Knjiga „Silent Spring”⁸ iz 1962 bila je pionir u osvještavanju javnosti o posljedicama uporabe pesticida poput DDT-a, s naglaskom na drastično smanjenje populacija ptica i šire ekološke implikacije. Desetljećima kasnije, obalna područja su Sjevernog i Baltičkog mora te Velikih jezera svjedočila su poremećajima uzrokovanim povišenim koncentracijama POPs-ova u raznim morskim organizmima, a slični problemi zabilježeni su u središnjoj i istočnoj Europi te Rusiji.³ Analiza globalnih okolišnih podataka o POPs-ovima otkriva kompleksne obrasce distribucije i akumulaciju u okolišu.⁵

Policiklički aromatski ugljikovodici (PAH) nastaju nepotpunim sagorjevanjem fosilnih goriva, biomase i organskog materijala, a sveprisutni su u okolišu. Izvori PAH-ova uključuju industrijske procese, promet, kućanstva i prirodne požare. Svojom prisutnošću u tlu i vodama te sposobnošću akumulacije u hranidbenim lancima, PAH-ovi predstavljaju značajan rizik za zdravlje ljudi i ekosustave, naglašavajući potrebu za kontinuiranim nadzorom i upravljanjem ovim i sličnim onečišćujućim tvarima.^{9,10}

Napore za smanjenje emisija PAH-ova i drugih opasnih onečišćujućih tvari provode razne međunarodne institucije, uključujući Ekonomsku komisiju Ujedinjenih naroda za Europu (engl. *United Nations Economic Commission for Europe*, UNECE), Svjetsku zdravstvenu organizaciju (engl. *World Health Organization*, WHO) i Program Ujedinjenih naroda za okoliš (engl. *United Nations Environment Programme*, UNEP). Ove organizacije provode brojne konvencije i protokole kao što su Konvencija o dalekosežnom prekograničnom onečišćenju zraka¹¹, Aarhuški protokol¹², Stockholmska konvencija¹. EU nastoji smanjiti emisije PAH-ova kroz politiku o čistom zraku¹³ koja uključuju Direktivu o kvaliteti zraka¹⁴, Direktivu o nacionalnim gornjim granicama emisija¹⁵ te regulative izvora onečišćenja¹⁶, koje se odnose na cestovni promet, proizvodnju i distribuciju električne energije, rafinerije i druga velika industrijska postrojenja, te od nedavno i pomorski promet koji je također prepoznat kao značajan izvor onečišćenja zraka.¹⁷ Integrirani pristup u regulaciji emisija štetnih spojeva, kao što su POPs-ovi i PAH-ovi, temelji se na globalnoj suradnji i tehnološkim inovacijama za zaštitu zdravlja i okoliša. Implementacija strožih propisa i kontinuirani nadzor ključni su za smanjenje onečišćenja i osiguravanje održive budućnosti.

Kemoinformatika predstavlja interdisciplinarno područje koje kombinira elemente kemije, informatike i računalnih znanosti kako bi se proučavale molekulske strukture i njihova svojstva. Nastala prije otprilike dva desetljeća, ova disciplina nije

samo alat za prikupljanje i analizu kemijskih informacija, već također služi kao platforma za razvoj sofisticiranih algoritama i računalnih modela. Glavni fokus kemoinformatike često leži u pretraživanju informacija s ciljem identifikacije novih molekula od interesa, posebice kada je jedna molekula već prepoznata kao relevantna za određenu primjenu ili istraživanje.¹⁸ Dakle, kemoinformatika je mnogo više od pukog skladištenja i pretrage kemijskih informacija. Njezina uloga u razumijevanju molekularnih interakcija, optimizaciji lijekova i predikciji bioaktivnosti čini je ključnom za suvremena istraživanja u farmaciji, medicini i okolišnoj kemiji. Uz stalni razvoj algoritama i računalnih tehnologija, kemoinformatika nastavlja proširivati svoje horizonte i potencijalna područja primjene.^{19–22}

Kvantitativni odnos strukture i aktivnosti tvari (engl. *Quantitative Structure-Activity Relationship*, QSAR) predstavlja sofisticirani ansambl računskih tehnika koje identificiraju i kvantificiraju odnos između strukture molekula i njihovih bioloških, ekoloških ili fizičko-kemijskih svojstava.²³ QSAR postaje sve važniji alat u suvremenoj procjeni rizika, pružajući temelj za predviđanje svojstava kemijskih tvari na temelju njihove strukture. U domeni POPs-ova, poput PCB-ova, organoklornih pesticida (OCP) i PAH-ova, QSAR modeli su instrument u predviđanju sorptivnih svojstava, biorazgradnje i potencijalne ekotoksičnosti. Ključna prepreka njihove šire primjene je definiranje domene primjenjivosti (engl. *applicability domain*), tj. opsega kemikalija za koje model daje pouzdana predviđanja.²⁴ Domena primjenjivosti je kritična točka QSAR pristupa jer modeli razvijeni (trenirani) na jednoj skupini kemikalija možda neće točno predviđati druge skupine, a posebno su izazovni oni spojevi koji su rijetki ili imaju osobito ponašanje. Pomoć u definiranju domene primjenjivosti pruža VEGAHUB, platforma koja kombinira više od 100 QSAR modela s alatima poput VEGA-e za kvantitativno određivanje domene primjenjivosti. Osim klasičnih kemijskih deskriptora, koriste se i formati poput SMILES-a kako bi se uključila specifična molekularna obilježja. Važno je napomenuti da je pravilna procjena domene primjenjivosti ključna za točnost i pouzdanost predviđanja, što QSAR modelima omogućuje da budu koristan alat u regulatornom okviru, poput europske Uredbe o registraciji, evaluaciji, autorizaciji i ograničavanju kemikalija (REACH).²⁵

S obzirom na ogromne količine podataka koji se generiraju svakodnevno, tehnike za efikasnu obradu i analizu podataka postaju neophodne. Jedan od ključnih pristupa je smanjenje dimenzionalnosti, s posebnim naglaskom na tehniku analize

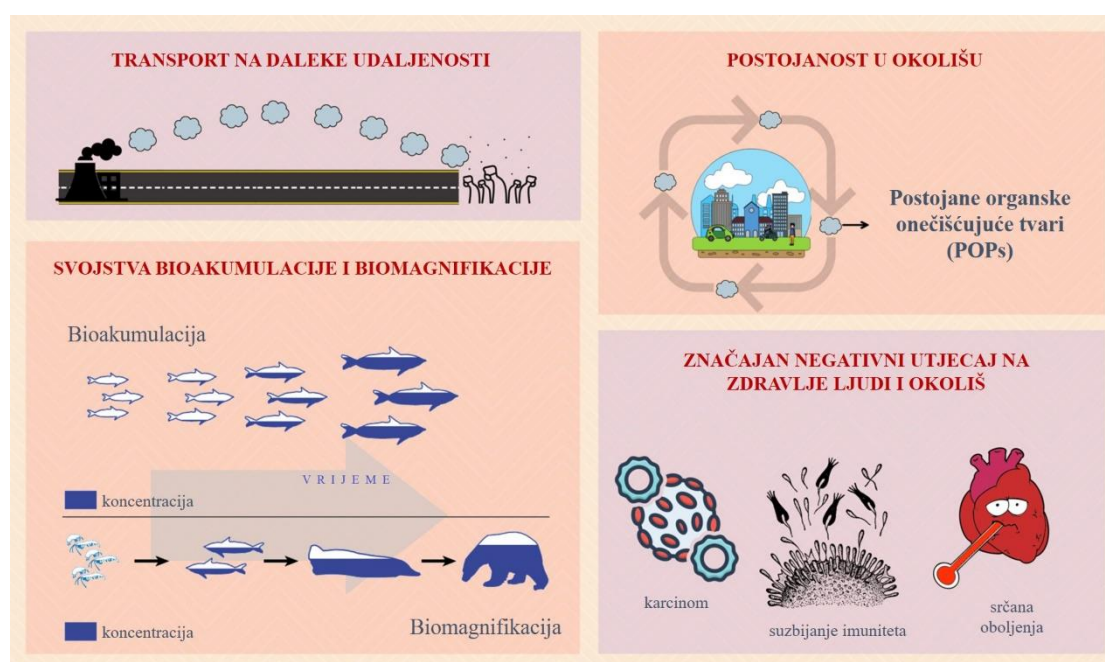
glavnih komponenata (engl. *principal component analysis*, PCA).²⁶ Ova tehnika pretvara kompleksne, visokodimenzionalne setove podataka u jednostavnije i sažetije oblike, bez gubitka bitnih informacija. Metode smanjenja dimenzionalnosti, poput PCA, pružaju niz prednosti kao što su brži izračuni, bolje razumijevanje podataka i optimizacija kvalitete podataka. Osim toga, smanjenje dimenzionalnosti omogućuje bolju vizualizaciju i povećava točnost algoritama, posebno u kontekstu strojnog učenja. Smanjenje dimenzionalnosti može se klasificirati u dvije osnovne kategorije: odabir značajki (engl. *feature selection*) i izdvajanje značajki (engl. *feature extraction*). Oba pristupa pomažu u optimizaciji analize i pohrane podataka, s fokusom na identifikaciju značajki s najvećim sadržajem korisne informacije. PCA je postala sveprisutna metoda koja se koristi u raznim znanstvenim disciplinama, od neuroznanosti do ekonomije, a njezin značaj i primjena su porasli razvojem modernih računalnih sustava.^{27–29}

Praktični dio ovog diplomskog rada usredotočen je na razvoj i primjenu VEGA QSAR modela u analizi toksičnosti, postojanosti, bioakumulacije i koncentracije (engl. *persistence, bioaccumulation, toxicity and concentration*, PBTC) PCB-ova, OCP-ova i PAH-ova u sedimentima na području Republike Hrvatske. Sedimenti, kao ekološki mediji, mogu poslužiti za dugoročno praćenje i procjenu onečišćenja, s obzirom na intenciju akumulacije onečišćujućih tvari u sedimentima. Unatoč postojećim mjerenjima, trenutni podaci o rasprostranjenosti i koncentracijama ovih spojeva su ograničeni što ukazuje na potrebu za detaljnijim istraživanjima.^{30–39} Konkretno, analize uzoraka iz rijeke Save^{40,41}, Kupe^{42,43} te Jadranskog mora^{44–46} usmjerene na otkrivanje ovih spojeva u sedimentima^{47–49} i bioti⁵⁰ pokazale su umjerene do niske razine onečišćenja, ukazujući na ograničenu prisutnost ovih štetnih tvari u ispitivanim ekosustavima. Međutim, naglašava se važnost kontinuiranog monitoringa, posebno u područjima podložnima većem riziku od onečišćenja, kao što su krška područja i industrijske zone, kako bi se pravovremeno identificirali i adresirali potencijalni ekološki rizici. Ovaj diplomski rad usmjeren je na dublje kvantitativno i kvalitativno razumijevanje distribucije PCB-ova, OCP-ova i PAH-ova u sedimentima slatkih voda, istražujući njihovu prisutnost, koncentraciju i potencijalne ekološke rizike. Primjena QSAR modela, u kombinaciji s PBTC ocjenjivanjem i metodom toksičnih jedinica (engl. *Toxic Unit*, TU), pruža temelj za opsežnu procjenu rizika ovih spojeva. Nadalje, korištenje naprednih statističkih metoda poput PCA i hijerarhijske klaster analize (HCA) omogućilo je detaljniju

analizu i interpretaciju podataka, bolje razumijevanje distribucije i izvora onečišćenja te pružilo uvid u strukturne veze i obrasce varijabilnosti unutar ekoloških podataka, doprinoseći time napretku u području ekotoksikologije.

2. OPĆI DIO

POPs-ovi definirana Stockholmskom konvencijom¹ predstavljaju skupinu organskih kemijskih spojeva s ugljikovom osnovicom. Karakterizira ih specifičan sklop fizikalno-kemijskih svojstava koja omogućuju da, jednom emitirani u okoliš: (i) perzistiraju kroz dugotrajna vremenska razdoblja; (ii) distribuiraju se ekstenzivno kroz ekosustave zahvaljujući interakcijama s tlom, vodom i primarno atmosferom; (iii) bioakumuliraju se u biotičkim sustavima, s naglašenim povećanjem koncentracije prema višoj trofičkoj razini; i (iv) imaju toksični učinak prema ljudima i životinjama (slika 2.).¹



Slika 2. Dinamika i utjecaj postojanih onečišćujućih tvari

2.1. Stockholmska konvencija i njezina učinkovitost

2004. godine, Stockholmska konvencija ustanovila je pravila za inicijalnu listu od 12 POPs-ova, koja obuhvaća spojeve kao što su PCB-i, heksaklorobenzen (HCB), poliklorirani dibenzo-*p*-dioksini i furani (PCDD/Fs), diklorodifeniltrikloretan (DDT), te ostale OCP-ove. Konvencija pruža okvir za nominaciju i regulaciju novih kemijskih spojeva koji pokazuju ekotoksikološka i postojana svojstva analogna izvornim POPs-ovima.⁵ Unatoč početnom popisu od 12 spojeva, tablica 1. pruža sveobuhvatni pregled kemijskih spojeva kategoriziranih kao POPs-ovi prema Stockholmskoj konvenciji, uključujući njihov status regulative i dodatne spojeve koji su nominirani za buduće međunarodne zabrane ili ograničenja.⁵¹

Tablica 1. POPs-ovi obuhvaćeni Stockholmskom konvencijom⁵¹

Kategorija	Postojana organska onečišćivala
Prilog A (Eliminacija)	<ul style="list-style-type: none"> - Aldrin - Klordan - Klordekon - Decabromodifenil eter - Dikofol - Dieldrin - Endrin - Heptaklor - Heksabromobifenil - Heksabromociklododekan - Heksabromodifenil eter i heptabromodifenil eter - Heksaklorobenzen - Heksaklorobutadien - Alfa heksaklorocikloheksan - Beta heksaklorocikloheksan - Lindan - Mireks - Pentaklorobenzen - Pentaklorofenol te njegove soli i esteri - Poliklorirani bifenili - Poliklorirani naftalini - Perfluorooktanska kiselina, njezine soli i srodni spojevi - Perfluorheksansulfonska kiselina, njezine soli i srodni spojevi - Kratkolančani klorirani parafini - Tehnički endosulfan i njegovi srodni izomeri - Tetrabromodifenil eter i pentabromodifenil eter - Toksaflen
Prilog B (Ograničenje)	<ul style="list-style-type: none"> - Diklorodifeniltrikloretan - Perfluorooktansulfonska kiselina, njezine soli i perfluorooktan sulfonil fluorid
Prilog C (Nenamjerna proizvodnja)	<ul style="list-style-type: none"> - Heksaklorobenzen - Heksaklorobutadien - Pentaklorobenzen - Poliklorirani bifenili - Poliklorirani dibenzo-p-dioksini - Poliklorirani dibenzofurani - Poliklorirani naftalini
Kemikalije u procesu evaluacije	<ul style="list-style-type: none"> - Klorpirifos - Klorirani parafini s duljinom ugljikovog lanca u rasponu C₁₄-C₁₇ i razinama kloriranja koje premašuju 45% - Dugolančane perfluorokarboksilne kiseline, njihove soli i srodni spojevi

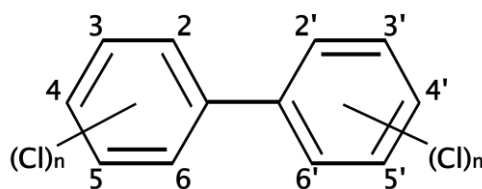
Rast svjetske populacije te industrijskih i poljoprivrednih aktivnosti dovodi do povećane akumulacije POPs-ova u okolišu. Iako postoje zakonske mjere namijenjene regulaciji ovih onečišćujućih tvari, u praksi se često svode na formalnosti, osobito u zemljama u razvoju gdje nedostatak ekonomske moći, obrazovanja i svijesti o ovom problemu dovodi do nepridržavanja propisa. Dodatna zabrinutost proizlazi iz činjenice da ljudi, putem hranidbenog lanca, konzumiraju ove onečišćujuće tvari, što predstavlja ozbiljan rizik za zdravlje. Unatoč nadi da će se prisutnost POPs-ova smanjiti u budućnosti, sadašnji trendovi upućuju na to da će problemi vezani uz POPs-ove ostati aktualni i predstavljati ozbiljne izazove.³

2.2. Osnovne karakteristike i vrste POPs-ova

POPs-ovi koji su obuhvaćeni ovim diplomskim radom uključuju PCB-ove i OCP-ove. U daljnjem tekstu bit će predstavljene njihove ključne karakteristike, svojstva koja ih čine izuzetno perzistentnima u okolišu, zašto su ti spojevi toliko otporni na razgradnju i kako se zadržavaju u prirodi, kao i kakve potencijalne posljedice njihova prisutnost može imati na ekosustave i zdravlje ljudi.

2.2.1. Poliklorirani bifenili

Poliklorirani bifenili (engl. *polychlorinated biphenyls*, PCB) aromatski su spojevi građeni od dva spojena benzenska prstena, pri čemu su jedan ili više vodikovih atoma u prstenima zamijenjeni klorovim atomima (slika 3.). Njihova općenita kemijska formula je $C_{12}H_{10-n}Cl_n$, gdje n označava broj klorovih atoma.⁵²



Slika 3. Općenita strukturna formula PCB-a

Razmatrajući varijacije broja i pozicija klorovih supstituenata na benzenskim prstenovima, identificirano je ukupno 209 PCB izomera i homologa. Ove strukturne varijante poznate su kao kongeneri, te su prema standardima Međunarodne unije za čistu i primijenjenu kemiju (engl. *International Union for Pure and Applied*

Chemistry, IUPAC) numerirani od 1 do 209.⁵³ U tablici 2. su navedena kemijska imena PCB kongenera koji se spominju u ovom radu i njihove IUPAC kratice.

Tablica 2. Kemijska imena i kratice PCB-ova koji se spominju u ovom radu

KRATICA PREMA IUPAC-u	KEMIJSKO IME
Indikatorski kongeneri PCB-a	
PCB-28	2,4,4'-triklorbifenil
PCB-52	2,2',5,5'-tetraklorbifenil
PCB-101	2,2',4,5,5'-pentaklorbifenil
PCB-138	2,2',3,4,4',5-heksaklorbifenil
PCB-153	2,2',4,4',5,5'-heksaklorbifenil
PCB-180	2,2',3,4,4',5,5'-heptaklorbifenil
Toksikološki značajni koplanarni kongeneri PCB-a	
<i>ne-ortho</i> supstituirani	
PCB-77	3,4,3',4'-tetraklorbifenil
PCB-126	3,4,5,3',4'-pentaklorbifenil
PCB-169	3,4,5,3',4',5'-heksaklorbifenil
<i>mono-ortho</i> supstituirani	
PCB-105	2,3,4,3',4'-pentaklorbifenil
PCB-114	2,3,4,5,4'-pentaklorbifenil
PCB-118	2,4,5,3',4'-pentaklorbifenil
PCB-123	3,4,5,2',4'-pentaklorbifenil
PCB-156	2,3,4,5,3',4'-heksaklorbifenil
PCB-157	2,3,4,3',4',5'-heksaklorbifenil
PCB-167	2,4,5,3',4',5'-heksaklorbifenil
PCB-189	2,3,4,5,3',4',5'-heptaklorbifenil
<i>di-ortho</i> supstituirani	
PCB-170	2,3,4,5,2',3',4'-heptaklorbifenil
Ostali kongeneri PCB-a	
PCB-60	2,3,4,4'-tetraklorbifenil
PCB-74	2,4,4',5-tetraklorbifenil

PCB-ovi su organski spojevi karakterizirani nepolarnošću i visokom lipofilnošću, što ih čini vrlo slabo topljivima u vodi. Ovisno o stupnju kloriranosti, topljivost PCB-ova u vodi može varirati od 7000 $\mu\text{g L}^{-1}$ za monoklorbifenil do 0,02 $\mu\text{g L}^{-1}$ za dekaklorbifenil. Koeficijent razdjeljenja u sustavu *n*-oktanol-voda logP, poznat kao log K_{ow} , koristi se kao kvantitativni pokazatelj lipofilnosti spojeva. Za PCB-ove ovaj koeficijent varira između 4,6 (monoklorbifenil) i 8,4 (dekaklorbifenil). Uz veći broj klorovih atoma u strukturi, lipofilnost spoja se povećava, a njegova topljivost u vodi smanjuje.⁵⁴

PCB-ovi predstavljaju klasu sintetskih spojeva dobivenih procesom direktnog kloriranja bifenila u prisutnosti specifičnih katalizatora. Zbog svojih višestrukih industrijskih primjena, smjese PCB-a postale su raširene od 1930-ih. Bili su ključni u zatvorenim sustavima poput električnih kondenzatora, transformatora, vakuumskih pumpi i termičkih izmjenjivača, te su se koristili u otvorenim sustavima kao dodaci u proizvodnji plastike, boja, ljepila, pesticida i tinti za kopirni papir.⁵⁵

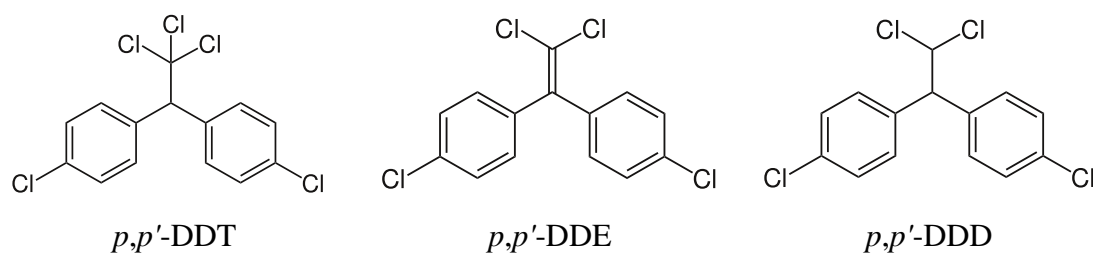
Razlike u broju i položaju klorovih atoma na PCB-kongenerima utječu na njihove osobine i toksičnost. Najtoksičniji su oni koji ne posjeduju kloriranu substituciju u *ortho*-poziciji, a zatim slijede oni koji imaju samo jedan klorov atom supstituiran u *ortho*-položaju. Od 209 identificiranih kongenera PCB-ova, 13 ih izražava toksičnost sličnu dioksinima. PCB-ovi inhibiraju funkciju imunološkog sustava te su klasificirani kao potencijalni humani karcinogeni.¹ Dokumentirane su negativne interakcije PCB-ova s ihtiološkim populacijama, manifestirajući se kroz smrtonosne ishode pri višim koncentracijama te inhibicijom reproduktivnih kapaciteta pri subletalnim koncentracijama. Povezanost PCB-ova s različitim reproduktivnim i imunološkim anomalijama u divljim životinjama, primjerice tuljanima i tvorovima, priznata je u znanstvenoj literaturi. Signifikantna izloženost ljudskih populacija PCB-ovima zabilježena je zbog onečišćenje putem prehrambenog lanca. Incidenti uslijed ingestije rižinog ulja kontaminiranog PCB-ovima u Japanu 1968. te na Tajvanu 1979. rezultirali su umorom te dermatološkim i gastroenterološkim simptomima (mučnine i povraćanja). Utjecaj bioakumulacije PCB-ova na neonatalnost postao je jasan kroz posljedice tajvanskog incidenta, gdje su djeca žena izloženih PCB-ovima pokazivala poteškoće u ponašanju i kognitivne smetnje čak i sedam godina nakon izloženosti. Slično, djeca žena koje su konzumirale onečišćenu ribu iz jezera Michigan iskazivala su probleme s kratkotrajnim pamćenjem.¹

2.2.2. Organoklorni pesticidi

Organoklorni pesticidi (engl. *organochlorine pesticides*, OCP), skupinu kemijskih spojeva nekada široko korištenih u poljoprivredi i javnom zdravstvu, karakteriziraju specifične fizikalno-kemijske karakteristike koje su oblikovale njihovu primjenu i utjecale na okoliš. Njihova izražena lipofilnost omogućila je brzu apsorpciju i akumulaciju u organizmima, uz potencijalnu bioakumulaciju u

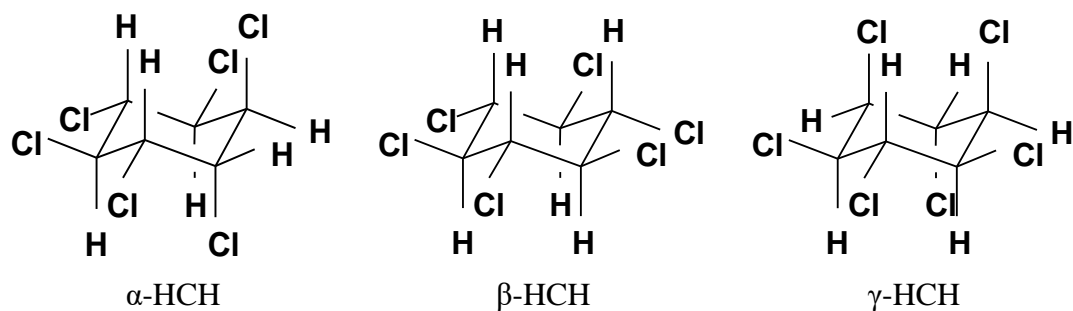
prehrambenom lancu. Osim toga, njihova postojanost, potaknuta atomima klora koji se nalaze u strukturi, doprinijela je dugotrajnom prisustvu u okolišu i otpornosti na kemijsku razgradnju. Dok njihova niska hlapljivost ograničava disperziju u atmosferi, afinitet prema česticama tla i mobilnost u vodenim sustavima omogućava njihov transport kroz hidrološke cikluse. Sve te karakteristike rezultirale su zabrinutošću zbog mogućih negativnih učinaka na ekosustave i ljudsko zdravlje.⁵⁶

1,1,1-triklor-2,2-di(4-klorfenil)etan (*p,p'*-DDT; akronim prema *p,p'*-diklordifeniltrikloreтанu) predstavlja organoklorni insekticid čija se sinteza postiže kondenzacijom klorala i monoklorbenzena u prisutnosti sumporne kiseline. Uz široku uporabu tijekom Drugog svjetskog rata za zaštitu vojnika i civila od malarije, tifusa i drugih bolesti prenosivih putem insekata, primjena mu je postala uobičajena i u poljoprivredi. Ipak, njegova perzistentnost, koja rezultira zadržavanjem čak do 50% u tlu 10-15 godina nakon primjene, uzrokovala je globalno onečišćenje, uključujući i udaljene lokacije poput Arktika. Poznato je da DDT uzrokuje stanjivanje ljuske jajeta, posebno na ptica grabljivica. Upravo su ti utjecaji doveli do zabrane njegove upotrebe u mnogim zemljama 70-ih godina prošlog stoljeća. Iako je upotreba DDT-a zabranjena u brojnim zemljama, pronađen je u globalnim prehranbenim lancima. Unatoč postupnom smanjenju ostataka u domaćim životinjama, DDT u hrani predstavlja primarni izvor izloženosti populacije. Dugotrajna izloženost DDT-u povezana je s kroničnim zdravstvenim učincima, a njegova prisutnost u majčinom mlijeku izaziva ozbiljnu zabrinutost zbog zdravlja dojenčadi.¹ U kontekstu njegove biodegradacije, nastaju spojevi 1,1-diklor-2,2-di(4-klorfenil)eten (*p,p'*-DDE; akronim prema *p,p'*-diklordifenildikloroetenu) i 1,1-diklor-2,2-di(4-klorfenil)etan (*p,p'*-DDD; akronim prema *p,p'*-diklordifenildikloroetenu). Dok *p,p'*-DDE, glavni razgradni produkt *p,p'*-DDT-a, nema insekticidna svojstva i iznimno je postojan, *p,p'*-DDD, drugi razgradni produkt, zadržava insekticidnu aktivnost. Oba spoja, uz originalni *p,p'*-DDT, karakterizira niska topljivost ($< 0,008 \text{ mg L}^{-1}$) i visoka lipofilnost ($\log P \approx 6$).⁵⁷ Na slici 4. prikazane su strukturne formule *p,p'*-DDT-a, *p,p'*-DDE-a i *p,p'*-DDD-a.



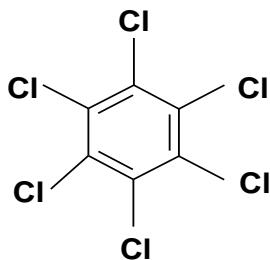
Slika 4. Strukturne formule *p,p'*-DDT-a i produkata njegove razgradnje

Heksaklorcikloheksan (HCH) je klorirani ciklički ugljikovodik s osam mogućih stereoizomera, od kojih je pet stabilno: α -HCH, β -HCH, γ -HCH, δ -HCH i ε -HCH. Smjesa pet HCH-stereoizomera nastaje kloriranjem benzena uz ultraljubičasto zračenje. Tehnička smjesa HCH-a dominirana je α -izomerom koji čini između 60% i 70% smjese, dok pripravak poznat kao lindan sadrži više od 90% γ -HCH. Izomeri α -HCH i β -HCH su krute tvari srednje stabilnosti u prisustvu kiselina, ali nestabilne u lužnatim uvjetima.⁵⁸ Izomer γ -HCH, poznat i kao lindan, također je krutina koja pokazuje stabilnost prema svjetlu, zraku i toplini, te u prisustvu CO₂ i jakih kiselina.⁵⁹ Međutim, ovaj izomer je nestabilan u dodiru s lužinama, te pri dugotrajnom izlaganju toplini i ozonu. Tlak para i topljivost u vodi slijede slijed γ -HCH > α -HCH > β -HCH, s približno jednakim logP vrijednostima ($\approx 3,9$). α -HCH izomer nije vrlo efikasan kao insekticid i smatra se nusproizvodom u proizvodnji drugih izomera. Ima tendenciju akumulacije u okolišu i može prouzročiti toksične učinke kod ljudi i životinja kada se konzumira u velikim količinama. Iako je manje toksičan od drugih izomera, β -HCH je najperzistentniji zbog svoje strukture. Njegova postojanost u okolišu može dovesti do njegove bioakumulacije u prehrambenom lancu. Također poznat kao lindan, γ -HCH je najaktivniji izomer i primjenjivao se kao širokospektralni insekticid u raznim kontekstima, uključujući obradu sjemena, tla, drva te kao sredstvo protiv ektoparazita. Njegova perzistentnost omogućuje mu bioakumulaciju u prehrambenom lancu i brzu biokoncentraciju. Osim što se prepoznaje njegov globalni transport, zabilježeni su i toksični učinci na laboratorijske životinje i vodene organizme, uključujući imunotoksičnost te reproduktivne i razvojne smetnje. Alternativna rješenja za lindan su široko dostupna, osim za medicinske aplikacije protiv parazita. Regulative o lindanu implementirane su u brojnim zemljama.¹ Na slici 5. prikazane su strukturne formule α -HCH, β -HCH i γ -HCH.



Slika 5. Strukturne formule HCH izomera

Heksaklorobenzen (HCB, slika 6.) predstavlja klorirani aromatski ugljikovodik koji nastaje kloriranjem benzena u temperaturnom rasponu 150°C do 200°C uz željezov klorid kao katalizator. U ambijentalnim uvjetima, HCB se manifestira kao bijeli čvrsti materijal s izrazito niskim tlakom para (0,0024 Pa). Karakterizira ga niska zapaljivost, minimalna topljivost u vodenoj fazi (0,005 mg L⁻¹), ali s povećanom afinitetom prema organskim otapalima (logP = 5,5).⁶⁰ HCB prvi je put predstavljen 1945. godine kao sredstvo za tretiranje sjemena s ciljem uništavanja gljivica koje utječu na prehrambene usjeve. Osim toga, HCB je nusprodukt proizvodnje određenih industrijskih kemikalija. U istočnoj Turskoj između 1954. i 1959., konzumacija žitarica tretiranih HCB-om rezultirala je lezijama na koži osjetljivoj na svjetlost, grčevima i općenitom slabošću; nekoliko tisuća ljudi razvilo je metabolički poremećaj poznat kao porfirija turcica, a čak 14% ih je preminulo. HCB se prenosi s majki na novorođenčad kroz posteljicu i mlijeko. U visokim dozama, HCB je smrtonosan za neke životinje, a na nižim razinama negativno utječe na njihov reproduktivni uspjeh. HCB je pronađen u različitim vrstama hrane. Studija o španjolskom mesu otkrila je prisutnost HCB-a u svim uzorcima. U Indiji je procijenjeni prosječni dnevni unos HCB-a 0,13 mikrograma po kilogramu tjelesne mase.¹



Slika 6. Strukturna formula HCB-a

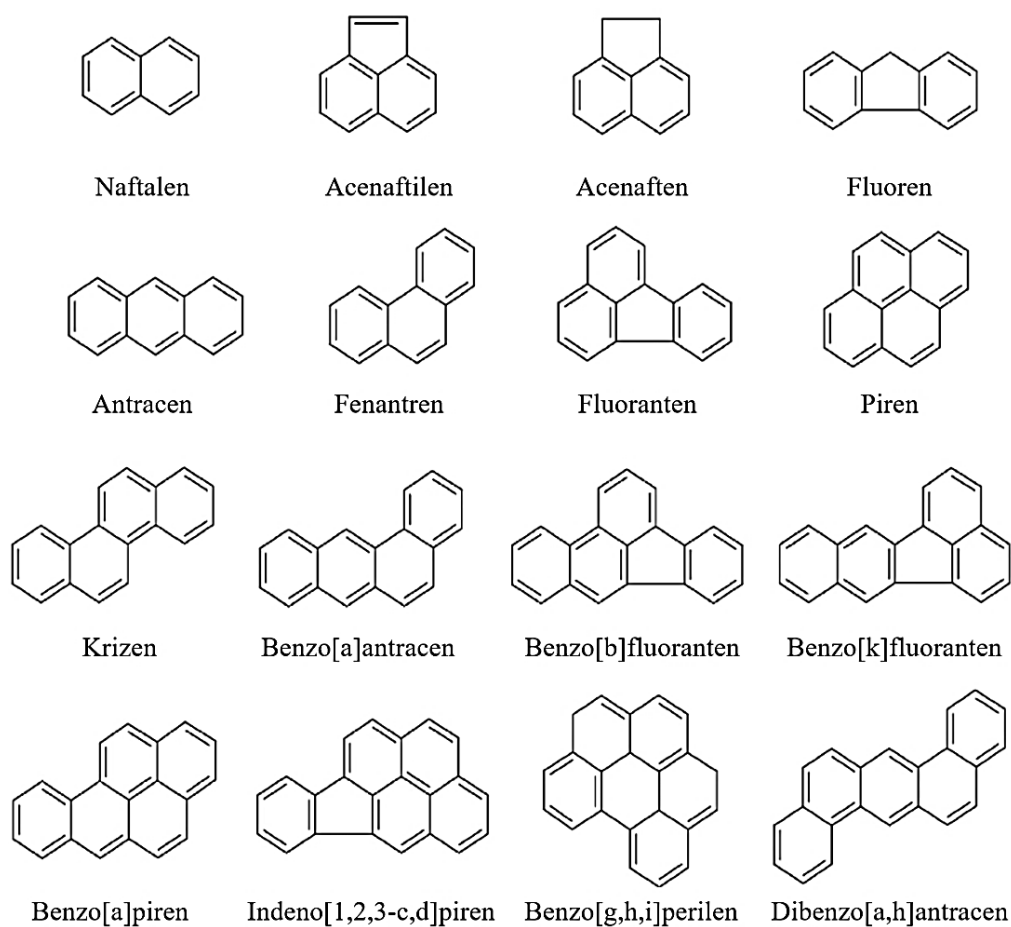
2.3. Policiklički aromatski ugljikovodici

U ovom diplomskom radu, osim PCB-ova i OCP-ova, posebna pozornost posvećuje se i policikličkim aromatskim ugljikovodicima (engl. *polycyclic aromatic hydrocarbons*, PAH) zbog njihovog značajnog utjecaja na okoliš i potencijalnih zdravstvenih rizika.

PAH-ovi su skupina spojeva koji nastaju termičkom dekompozicijom organskih tvari, uključujući procese nepotpunog izgaranja na visokim temperaturama i/ili dugotrajnu izloženost organskom materijalu niskim temperaturama do 300°C. Na sobnoj temperaturi, PAH-ovi su obojani, kristalni čvrsti spojevi s niskom topljivosti u vodi, visokom točkom ključanja i niskim tlakom pare. Ova svojstva postaju izraženija s povećanjem molekulske mase. Općenito, tlak pare i topljivost u vodi PAH-ova smanjuju se s povećanjem molekulske mase, dok kongeneri iste molekulske mase pokazuju slična fizička svojstva. Skupina s niskom molekulskom masom sadrži PAH-ove s 2 i 3 prstena, ona srednje molekulske mase sadrži PAH-ove s 4 prstena, a skupina s visokom molekulskom masom sadrži PAH-ove s 5 i 6 prstenova. U atmosferi, PAH-ovi niske molekulske mase pretežito postoje u plinovitom obliku zbog njihovog višeg tlaka pare, dok PAH-ovi srednje molekulske mase pokazuju manju hlapljivost i uglavnom postoje u čvrstom obliku. Za PAH-ove visoke molekulske mase podjela između plina i čestica varira ovisno o atmosferskim uvjetima, kao i o svojstvima spoja i čestica u zraku.⁶¹ Neka od obilježja koja se mogu povezati s PAH-ovima uključuju postojanost, fluorescenciju, osjetljivost na svjetlost, toplinsku i korozivnu otpornost te vodljivost. Svaka struktura PAH prstena posjeduje jedinstvene apsorpcijske spektre u UV području koji se koriste za njihovu identifikaciju. Ove onečišćujuće tvari emitiraju se iz prirodnih i antropogenih izvora. Prirodni izvori obuhvaćaju šumske i vegetacijske požare, izlivanje nafte, vulkanske erupcije, diagenetske procese i izlučivanja iz drveća. Neke vrste PAH-ova proizvode se iz pigmenta gljivica, insekata i morskih vrsta u anaerobnim uvjetima koji se mogu pronaći u tlu ili podvodnim sedimentima. Dok prirodne emisije PAH-ova predstavljaju značajan izvor PAH-ova u okolišu, antropogeni izvori ostaju dominantni u urbanim i industrijaliziranim područjima. Danas je antropogeno izgaranje fosilnih goriva glavni izvor ovih spojeva, uključujući izvore poput emisija iz prometa, industrijskih postrojenja za pretvorbu ugljena u plin i dimnjaka, dok drugi izvori PAH-ova uključuju proizvodnju aluminijske, izgaranje drva, smeća, biljnog materijala i

otpada, upotrebu mazivnih ulja i filtera za ulje, spaljivanje komunalnog čvrstog otpada, izlivanja nafte i ispuštanja, proizvodnju koksa... U urbanim lokacijama gdje je brzina prometa niska i često se mijenjaju brzine, registrirane su veće emisije PAH-ova, praćene većim razinama PAH-ova u tlu pored ceste. Stoga su emisije dizelskih vozila povezane s PAH-ovima lakše molekulske mase, dok emisije benzina obično sadrže PAH-ove veće molekularne mase.⁴

Uzimajući u obzir toksični i kancerogeni potencijal, čestu pojavu u opasnom otpadu i postojanost u uvjetima okoliša, Američka agencija za zaštitu okoliša (engl. *United States Environmental Protection Agency*, US EPA) uvrstila je 16 PAH-ova na Popis prioritetnih onečišćujućih tvari. Ove vrste PAH-ova bile su prioritetne ne samo zbog toksičnosti, već i zbog učestalosti pojavljivanja i potencijala izloženosti ljudima. U svrhu procjene rizika na određenim lokacijama, obično se prate koncentracije ovih vrsta, često nazivanih „prioritetnim PAH-ovima” čije su kemijske strukture prikazane na slici 7.⁶²

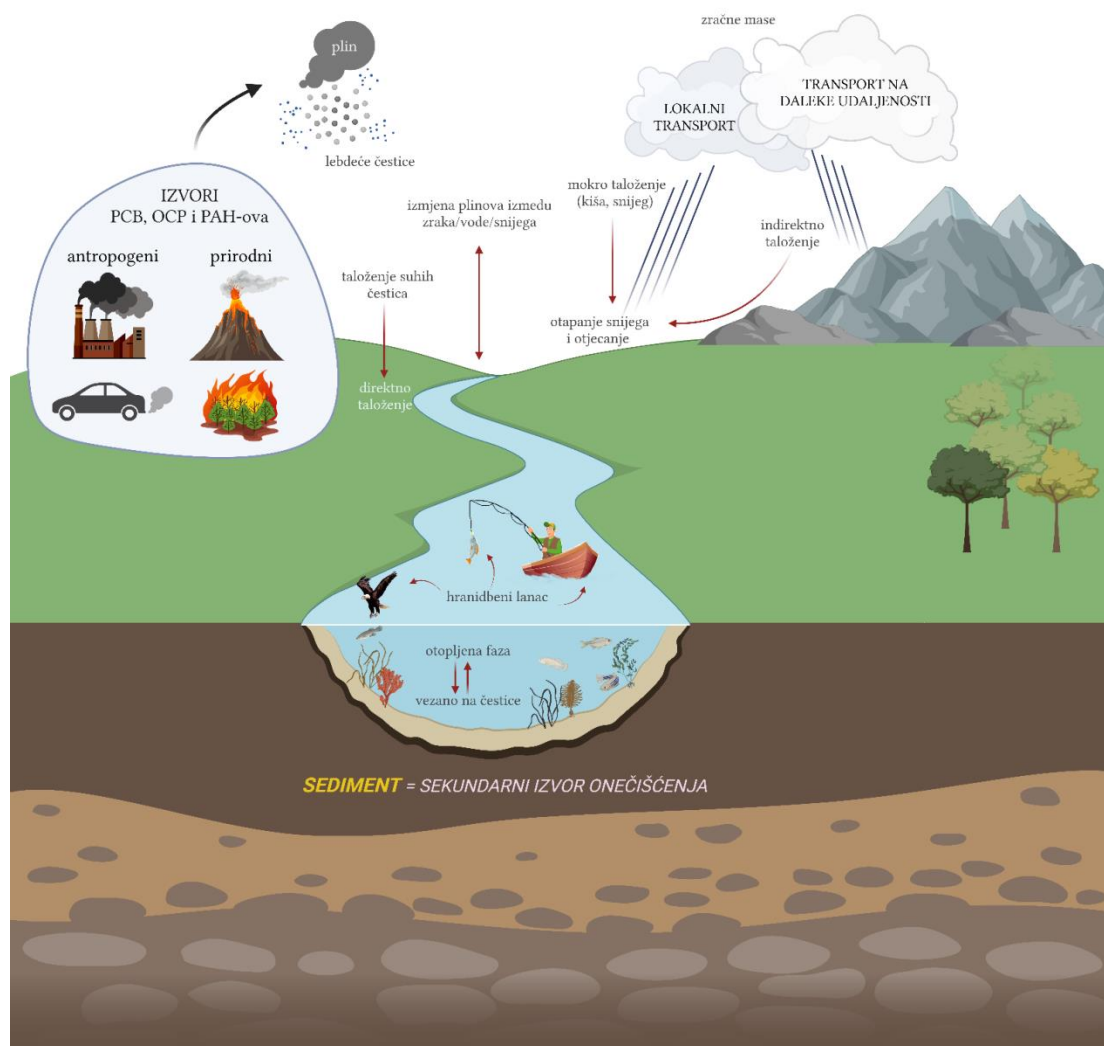


Slika 7. Strukturne formule 16 prioritetnih PAH-ova prema US EPA⁶²

2.4. Procjena ekotoksikološkog rizika

2.4.1. Kruženje PCB-ova, OCP-ova i PAH-ova u okolišu i njihov utjecaj

Ekološka sudbina spojeva kao što su PCB-ovi, OCP-ovi i PAH-ovi usko je povezana s njihovim fizikalno-kemijskim svojstvima, što ih čini postojanima u okolišu.

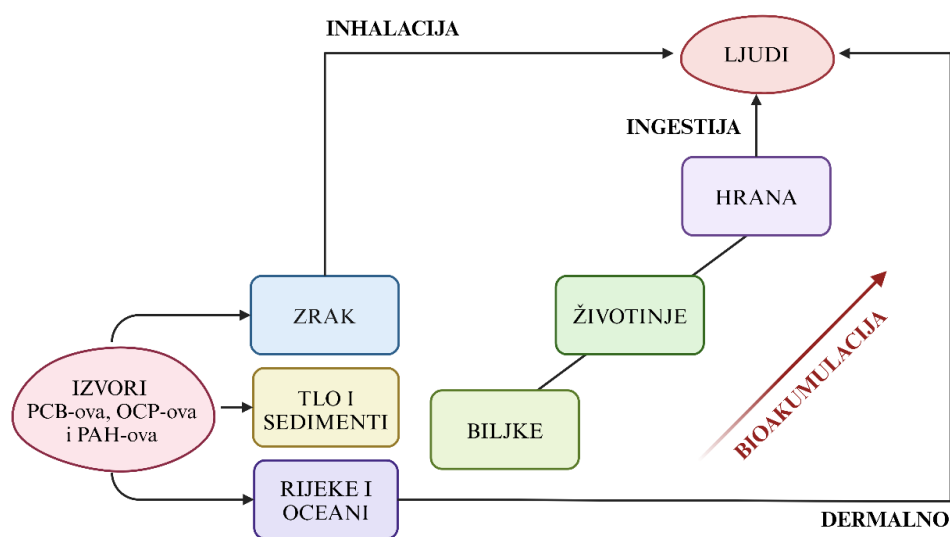


Slika 8. Ciklus POPs-ova u ekosustavu (napravljeno u biorender.com)

Kroz interakcije s vodenim i zračnim medijem, spomenute tvari sedimentiraju na dnu vodenih ekosustava, te u tlu. Zbog slabih ili nepostojećih procesa razgradnje, sedimenti postaju rezervoari ovih onečišćujućih tvari, iz kojih mogu ponovno mobilizirati u ekosustav i prehrambeni lanac. Također, atmosferom mogu biti prenesene na velike udaljenosti, a njihov transport i raspršivanje ovisi o meteorološkim parametrima i specifičnim fizičko-kemijskim karakteristikama. Glavni procesi koji utječu na njihovo širenje uključuju prelazak iz kondenziranog (tekućeg ili

čvrstog) stanja u plinovitu fazu te daljnja atmosferska disperzija uzrokovana turbulentnim miješanjem.³ Ova dinamika čini PCB-ove, OCP-ove i PAH-ove prisutnima čak i u udaljenim područjima poput oceana i Arktika. Tijekom ljetnih mjeseci, određeni POPs-ovi mogu isparavati iz kopnenih i vodenih ekosustava, šireći se daleko od mjesta gdje su prvotno ispušteni. Mnoge studije⁶³⁻⁶⁷ pružaju uvid u bioakumulaciju i biomagnifikaciju POPs-ova unutar bioloških lanaca i njihov transport u okolišu. U cilju razumijevanja distribucije PCB-ova, OCP-ova i PAH-ova, nacrtan je njihov ciklus u ekosustavu koji je prikazan na slici 8.

U ekološkom kontekstu, PCB-ovi, OCP-ovi i PAH-ovi distribuiraju se kroz trofičke razine te se koncentriraju u višim razinama prehrambenog lanca (proces poznat kao biomagnifikacija). Istraživanje provedeno u Kanadi 1997. godine pokazalo je da karibui sadrže koncentracije PCB-a deset puta veće od lišaja, koji je njihova primarna hrana, dok su vukovi koji se prehranjuju karibuima pokazali približno 60 puta veće koncentracije u odnosu na lišaj. Također, Corsolini i sur.⁶⁶ su u mesu sredozemnih riba detektirali varijabilne razine HCB-a, p,p'-DDE-a i PCB-ova, dok je analiza Storelli i sur.⁶⁷ otkrila PCB-ove i DDT u morskim kornjačama iz istočnog Sredozemlja. Razumijevanje kako se POPs-ovi akumuliraju je važno zbog njihovog potencijalnog štetnog utjecaja na zdravlje ljudi (tablica 3.), kao što su hormonalni i neurološki problemi. Ovi spojevi dugo ostaju u okolišu, narušavaju ekosustave i ugrožavaju raznolikost života. Glavni putevi bioakumulacije PCB-ova, OCP-ova i PAH-ova prikazani su na slici 9.



(napravljeno u biorender.com)

Slika 9. Glavni putevi bioakumulacije PCB-ova, OCP-ova i PAH-ova

Tablica 3. Zdravstveni problemi uzrokovani PCB-ima, OCP-ima i PAH-ovima³

Onečišćujuća tvar	Zdravstveni problemi
PCB-ovi, OCDD, BDE47, OCP-ovi	Kardiovaskularni problemi, povišen krvni tlak, promjene u razinama kolesterola, ventrikularna disfunkcija
PCB-ovi, PAH-ovi, DDE, HCB, PBDE-ovi, HCB, TeBDE	Rak (dojke, prostate, testisa, jajnika, maternice, bubrega), anoreksija-kaheksija sindrom
PCBs, OCP-ovi, DDE, β HCH, dioksini, furani, PBB-ovi, PBDE-ovi, HCB, DDT, PCDD-ovi, PCDF-ovi, PAH-ovi, APEO-ovi, DDT	Pretilost, inzulinska rezistencija, dijabetes tipa 2, endokrini poremećaji, dislipidemija, hipertenzija, endometrioza
PCB-ovi, DDE, DDT, OCDD, PAH-ovi, APEOs	Biomarkeri disfunkcije jetre, poremećaj hormona štitnjače, endokrini poremećaj u divljem i uzgojenom brancinu, defekti embrija u zebricama, promjene u izražavanju gena

PCB-ovi – poliklorirani bifenili, OCDD – oktaklorodibenzodioksin, BDE47 - bromirani difenil eter 47, OCP-ovi - organoklorni pesticidi, PAH-ovi – policiklični aromatski ugljikovodici, DDE – diklordifenildikloroetan, HCB – heksaklorbenzen, PBDE-ovi – polibromirani difenil eteri, TeBDE - tetrabromo difenil eter, PBB-ovi – polibromirani bifenili, β HCH - β - heksaklorcikloheksan, PCDD-ovi - poliklorirani dibenzodioksini, PCDF-ovi - poliklorirani dibenzofurani, APEO-ovi - alkilfenol etoksilati

Hrana, posebno riba, glavni je izvor izlaganja ljudi toksinima.⁶⁸ Zbog svoje lipofilnosti, PCB-ovi, OCP-ovi i PAH-ovi sedimentiraju na dnu jezera i rijeka, gdje ih konzumacijom vodeni organizmi akumuliraju, uzrokujući biokoncentraciju u prehrambenom lancu.^{30-32,50} Dinamika između atmosfere i zemljine površine omogućuje recirkulaciju PCB-ova, s promjenama njihovih koncentracija ovisno o temperaturi.^{69,70} Vegetacija ima važnu ulogu u ciklusu PCB-ova, omogućavajući njihovu pohranu i izmjenu s okolinom.⁷⁰⁻⁷³ Postoji i značajna veza između razine PCB-ova i količine organske materije u tlu,⁷⁴ gdje tlo bogato organskom materijom postaje glavno mjesto akumulacije, potencijalno nadmašujući čak i polarna područja.⁷⁵ Podaci pokazuju složenu interakciju između različitih izvora i faktora koji utječu na raspodjelu PCB-ova.⁵ U nekim područjima dolazi do promjene s primarnog oslobađanja prema oslobađanju iz sekundarnih, već akumuliranih izvora. Ova promjena je ključna za razumijevanje kako se PCB-ovi dugoročno ponašaju u okolišu, ali je bilo potrebno dosta vremena da se takva promjena uoči.^{76,77} Onečišćenje

uzrokovano PCB-ovima, OCP-ovima i PAH-ovima predstavlja stalnu prijetnju ekološkoj ravnoteži, ugrožavajući zrak, vodu, životinje i ljude (tablica 3.). Ove tvari djeluju kao endokrini disruptori, narušavajući fiziološke procese i izazivajući ekološke poremećaje.³ Od industrijske revolucije, zabilježen je porast prisutnosti POPs-ova,⁷⁸ koji se akumuliraju na aerosolima i prodiru u ljudsko tijelo putem inhalacije.⁷⁹ Znanstvenici su detaljno istražili utjecaj POPs-ova na ekosustave i zdravlje,⁸⁰⁻⁸² uključujući njihovu ulogu kao endokrinih disruptora i njihov utjecaj na klimatske promjene i poljoprivredu.⁸³⁻⁸⁵

2.5. Analiza PCB-ova, OCP-ova i PAH-ova u Hrvatskoj

Analiza prisutnosti PCB-ova, OCP-ova i PAH-ova u slatkovodnim ekosustavima ključna je za razumijevanje njihovog utjecaja na okoliš i zdravlje. Republika Hrvatska, poznata po svojim bogatim vodenim resursima i raznovrsnim ekosustavima, nije izuzetak. Praćenje ovih spojeva u Hrvatskoj je nekontinuirano, s ograničenim podacima o njihovoj raspodjeli i koncentraciji. Iako su neka mjerenja pokazala da su razine OCP-ova uglavnom unutar zakonom propisanih granica, postoji stalna opasnost od onečišćenja voda i tla, posebno na krškim terenima. Postojeći podaci upućuju na potrebu za sustavnim ispitivanjima, osobito u ugroženim područjima i blizu industrijskih zona. U budućim desetljećima, bit će nužno postaviti sve veći naglasak na sveobuhvatno praćenje i analizu ovih spojeva u ekosustavima unutar hrvatskog teritorija kako bi se adekvatno razumjeli i umanjili njihovi štetni utjecaji.⁸⁶

Tablica 4. pruža pregled napora i rezultata dosadašnjih istraživanja koja su usmjerena na identifikaciju, kvantifikaciju i razumijevanje distribucije PCB-ova, OCP-ova i PAH-ova. Utvrđivanje vrste i koncentracije onečišćujuće tvari omogućuje stvaranje cjelovite slike o stupnju onečišćenja slatkovodnih ekosustava. Istraživanja su istaknula moguće izvore onečišćenja i transportne puteve koji dovode do njihove akumulacije u slatkovodnom okolišu Hrvatske, ali i širom svijeta. S obzirom na njihovu sveprisutnu prirodu i potencijalni utjecaj na biološku raznolikost, ovakve analize su od iznimne važnosti kako bi se osigurala učinkovita strategija upravljanja ovim onečišćujućim tvarima i zaštitila budućnost hrvatskih slatkovodnih resursa.

Tablica 4. Pregled dosadašnjih istraživanja o PCB-ovima, OCP-ovima i PAH-ovima u Hrvatskoj i svijetu

ONEIŠĆUJUĆA TVAR	LOKACIJA	UZORAK	REZULTATI	LITERATURA
PAH, PCB	Hrvatska: rijeka Sava	Sediment: travanj 2005., listopad 2005. i svibanj 2006.	Analizom sedimenta duž rijeke Save utvrđena je prisutnost različitih anorganskih i organskih onečišćujućih tvari. Glavni izvori onečišćenja su industrijski otpad, neobrađene komunalne otpadne vode i poljoprivredne aktivnosti. PAH i PCB prisutni su u umjerenim koncentracijama, dok su odabrani pesticidi poput p,p'-DDT i HCB pronađeni na određenim mjestima. Ukupno gledajući, Sava je umjerenom onečišćena rijeka, slična drugim europskim rijekama koje nisu pogođene rudarstvom. Rezultati su važni za institucije za upravljanje vodama i lokalne vlasti za održivo korištenje i zaštitu vodnih resursa rijeke Save.	40
PAH, PCB	Hrvatska: rijeka Sava	Sediment: travanj 2005., listopad 2005. i svibanj 2006.	Istraživanje sedimenata rijeke Save otkrilo je varijabilne razine organskih i anorganskih onečišćujućih tvari duž 20 nizvodnih lokacija. Koncentracije POPs-ova generalno su niske, ali postoji nekoliko točaka s većom koncentracijom, posebno kod Šapca i Beograda. Otkriveno je da HCB potječe iz točkastog izvora kod Beograda. Ukupno gledano, onečišćenje sedimenata Save je relativno nisko u usporedbi s drugim europskim rijekama i posebno je niže od onečišćenja u Dunavu. Rezultati su korisni za daljnje upravljanje i zaštitu vodnih resursa rijeke Save.	41
PCB, OCP	Hrvatska: rijeka Kupa	Pitka voda, riječna voda, ribe: svibanj 1985.	Koncentracije PCB-a u uzorcima vode rijeke Kupe su oko 10 puta veće od onih izmjerene u rijekama Hrvatske u periodu od 1979-1989, ali 50-100 puta niže od koncentracija u rijeci Krupi u Sloveniji. Rezultati upućuju na onečišćeno krško područje u Sloveniji kao izvor PCB-a u rijeci Kupi, što bi moglo biti značajan izvor onečišćenja ovog ekosustava.	42
PCB	Slovenija/Hrvatska: rijeka Kupa	Sediment: lipanj – kolovoz 2003.	Koncentracije PCB-a bile su iznad granice detekcije od 0,005 ppm u 36% analiziranih uzoraka, a iznad toksične razine od 0,02 ppm u 16% uzoraka. Povećane razine PCB-a u rijeci Lahinja povezane su s otpadom tvornice kondenzatora Iskra u Semiču, Slovenija, koja je zatvorena 1985. godine. Ta tvornica je također onečistila rijeku Krupu, Lahinju i Kupu. Neke od visokih koncentracija PCB-a u sedimentima rezultat su ramih aktivnosti. Najviše koncentracije PCB-a u cijelom slivu rijeke Kupe pronađene su u gornjem toku rijeke, uključujući Nacionalni park Risnjak, gdje nema naselja, cesta ili industrije. Ovo sugerira da onečišćenje dolazi iz podzemnih voda, a krški vodonosnici su posebno rizični i trebaju biti zaštićeni. Onečišćenje PCB-ima ne smije se zanemariti, posebno u turističkim i ribolovnim područjima na hrvatsko-slovenskoj granici.	43

Tablica 4. Pregled dosadašnjih istraživanja o PCB-ovima, OCP-ovima i PAH-ovima u Hrvatskoj i svijetu (*nastavak*)

ONEČIŠĆUJUĆA TVAR	LOKACIJA	UZORAK	REZULTATI	LITERATURA
PCB, OCP	Hrvatska: Jadransko more	Pelagičke vrste riba: 2014. – 2016.	<p>Rezultati su pokazali da su proučavane vrste riba sigurne za konzumaciju prema parametrima koje regulira Europska komisija. Istraživanje je koristilo kombinaciju tradicionalnih i naprednih statističkih metoda kako bi se bolje razumjele razlike u razinama POPs-ova među vrstama riba. Ukupno, rezultati su pokazali kako kombinacija tradicionalnih i naprednih statističkih metoda može pomoći u boljem razumijevanju i kontroli onečišćenja u morskim ribama.</p>	44
PCB, OCP	Hrvatska: Jadransko more	Pelagičke vrste riba: 2014. – 2016.	<p>Prednosti i rizici konzumacije ribe iz Jadrana ocijenjeni su mjerenjem koncentracija POPs-ova, elemenata i masnih kiselina u šest vrsta ribe. Dijeta bazirana na skuši i sardineli pokazuje najniži dnevni unos štetnih kemikalija i najviši unos omega-3 masnih kiselina. Na temelju analize, konzumacija incuna i sardinele vodi do manjeg unosa toksičnih elemenata. Nisu otkriveni značajni rizici od kancerogenih ili nekancerogenih učinaka, osim za neorganski arsen. Iako su rizici generalno niski, maksimalne vrijednosti za skušu i incuna ukazuju na potencijalne negativne učinke na zdravlje. Preporučuje se daljnje istraživanje za bolje razumijevanje rizika i koristi.</p>	45
PCB, OCP	Hrvatska: Jadransko more	Mišićno tkivo 18 komercijalno važnih vrsta riba: rujan 2007.	<p>Ovo preliminarno istraživanje analizira prisutnost OCP-a i PCB-a u mesu često konzumiranih vrsta riba s istočnog Jadrana. Analizirane tvari prisutne u tkivu riba smanjuju se u redoslijedu: PCB > DDT > HCH > HCB. Rezultati sugeriraju da konzumacija ovih riba ne predstavlja zdravstveni rizik za prosječne konzumente. Međutim, zbog perzistentnosti ovih tvari u morskom okolišu, potrebno je kontinuirano praćenje njihovih razina. Studija također poziva na daljnja istraživanja koja bi preciznije ocijenila rizike i moguće izvore onečišćenja.</p>	46
PCB, OCP	Hrvatska: Vransko Jezero	tkivo riba iz obitelji <i>Cyprinidae</i> : ožujak, lipanj i studeni 2014.	<p>Studija koristi napredne metode klasifikacije SOM i DT za dublje razumijevanje ponašanja OCP-ova i PCB-ova. Šaran i klen pokazali su najveću varijabilnost, što ukazuje da ove vrste nisu najprikladnije za analizu općih obrazaca OCP-ova i PCB-ova u jezerima, za razliku od pruskog šarana. Za potpunije razumijevanje fenomena, potrebna su dodatna istraživanja s opsežnijim setom podataka. Rezultati se mogu koristiti kao indikacija veza između OCP-ova i PCB-ova u tkivima riba, a ne kao apsolutna povezanost.</p>	50

Tablica 4. Pregled dosadašnjih istraživanja o PCB-ovima, OCP-ovima i PAH-ovima u Hrvatskoj i svijetu (*nastavak*)

ONEČIŠĆUJUĆA TVAR	LOKACIJA	UZORAK	REZULTATI	LITERATURA
PCB, OCP	Hrvatska: Plitvička jezera (Prošćansko jezero, Kozje jezero, Kaluđerovo Jezero)	Sediment: lipanj 2012.	U sedimentima tri od 16 kaskadnih krških jezera unutar zaštićenog područja Nacionalnog parka Plitvička jezera u središnjoj Hrvatskoj prvi puta su istražene koncentracije 11 OCP-ova i 17 PCB-ova. Koncentracije OCP-ova i PCB-ova smanjivale su se nizvodno, s najvišim vrijednostima u gornjem jezeru Prošće i najnižim u jezeru Kaluđerovac. Nalazi ukazuju na stari unos DDT-a koji se uglavnom pretvorio u sekundarne produkte razgradnje. Mase OCP-ova i PCB-ova u sedimentima Plitvičkih jezera bile su na tragovnim razinama karakterističnim za očuvana prirodna okruženja s malim ili ograničenim antropogenim utjecajem, gdje se kao glavni izvor smatra dugosežni atmosferski transport.	47
PCB, OCP	Srbija: rijeka Dunav	Sediment: listopad 2012.	Istraživanje je pokazalo niske do umjerene razine PCB-ova i OCP-ova u sedimentima Dunava u Srbiji. Najviše koncentracije zabilježene su za DDT i njegove derivate. Indikatori poput visokog omjera DDT/DDE + DDD ukazuju na trenutnu upotrebu DDT-a u nekim industrijskim gradovima. Izvori PCB-ova su uglavnom atmosferski doprinosi i industrijski izljevi, dok OCP-ovi uglavnom potječu od starih ostataka i nove upotrebe pesticida. Rezultati doprinose oskudnim regionalnim podacima o ovim spojevima u slivu Dunava.	48
PAH, PCB, OCP	Srbija: rijeka Dunav	Sediment: rujan 2014.	Rezultati prezentirane studije ukazuju na široku prisutnost različitih poluhlapivih onečišćujućih tvari u sedimentima Dunava i njegovih pritoka. Identificirane su 143 organske onečišćujuće tvari, uključujući PAH-ove, PCB-ove i OCP-ove. Upotreba kemometrijskih alata, poput hijerarhijske klaster analize i analize glavnih komponenta, omogućila je jasniju interpretaciju velikog skupa podataka i pružila informacije o sličnim izvorima onečišćenja za određene skupine onečišćujućih tvari. Upotreba screening metode za detekciju 940 poluhlapivih spojeva pokazala se kao vrlo koristan pristup za sveobuhvatno razumijevanje onečišćenja sedimenta. Međutim, svi prezentirani rezultati ukazuju na potrebu za daljnjim, ciljanim analizama kako bi se dobila potpuna slika o onečišćenju.	49

Tablica 4. Pregled dosadašnjih istraživanja o PCB-ovima, OCP-ovima i PAH-ovima u Hrvatskoj i svijetu (*nastavak*)

ONEIŠĆUJUĆA TVAR	LOKACIJA	UZORAK	REZULTATI	LITERATURA
PCB	Slovenija: rijeka Krupa	Sediment, tkivo čovječe ribice (<i>Proteus anguinus</i>): 2008.	Koncentracija PCB-ova u tkivima čovječe ribice i sedimentima pokazuje da je opterećenje PCB-ovima u rijeci Krupi i njezinom okruženju i dalje visoko nakon 30 godina. Iako je analiziran mali broj uzoraka, rezultati pokazuju visoke koncentracije PCB-ova u tkivima. Visoke koncentracije PCB-ova u čovječjoj ribici su posljedica akumulacije zbog njegove dugovječnosti i sporog metabolizma. Bolje razumijevanje ovih onečišćujućih tvari omogućit će učinkovitije mjere zaštite ne samo za ugroženi <i>P. anguinus</i> , već i za ostalu špiljsku faunu.	32
PCB	Italija: jezero Varese	mišično tkivo ribe <i>Silurus glanis</i> : siječanj 2015.	U analiziranim uzorcima identificirane su varijabilne koncentracije kongenera polikloriranih dibenzodoksina i furana (PCDD/Fs) te PCB-ova (DL-PCB-ovi i NDL-PCB-ovi). Otkrivene koncentracije u nekim su uzorcima premašile regulativne razine propisane od strane Europske unije. Takvi rezultati impliciraju potencijalni zdravstveni rizik za populacije koje konzumiraju ovu ribu u većim količinama. Ovi nalazi ukazuju na potrebu za daljnjim istraživanjima i monitoringom kako bi se bolje razumjeli rizici i izvor onečišćenja.	30
PCB	Italija: rijeka Po	mišično tkivo ribe <i>Silurus glanis</i> : 2009. – 2011.	Toksikološke studije pokazuju da NDL-PCB-ovi imaju štetne učinke na razvoju, posebno na živčani i endokrini sustav. Analize u ribama vrhunskih predatora poput <i>S. glanis</i> otkrivaju visoke razine ovih onečišćujućih tvari, što ukazuje na potrebu za stahnim praćenjem. Ovi nalazi su posebno zabrinjavajući jer su riba i riblji proizvodi glavni dijetalni izvor NDL-PCB-ova. Podaci ističu postojanost ovih kemikalija u vodenim ekosustavima, čak i godinama nakon što je njihova proizvodnja ograničena, naglašavajući potrebu za daljnjim istraživanjima.	31
PCB, OCP	Italija: rijeka Po	Sediment, ribe: 2010.	Istraživanje je analiziralo prisutnost endokrinih disruptora i drugih onečišćujućih tvari u sedimentima rijeke Po i njenog pritoka, rijeke Lambro, kao i u ribama iz tih rijeka. Većina kemikalija predstavlja niski rizik, ali su PBDE i PCB-ovi pronađeni u zabrinjavajućim koncentracijama. Ove onečišćujuće tvari predstavljaju rizik za vodene organizme i ljudsko zdravlje, posebno u riječnom pritoku Lambro gdje su koncentracije znatno više. Istraživanje sugerira potrebu za daljnjim studijama, posebno jer rijeka Po svoje onečišćene sedimente prenosi i do Jadranskog mora.	33
PCB, OCP	Italija: rijeka Sele	Voda, sediment: 2020. – 2021.	Rezultati su pokazali varijabilne koncentracije ovih onečišćujućih tvari, s višim vrijednostima u sedimentima. Godišnje opterećenje za morsku stranu iznosilo je oko 89,7 kg, naglašavajući važnost rijeke kao potencijalnog izvora onečišćenja Tirenskog mora. Analize upućuju na površinsko oštećenje kao primarni izvor PCB-ova, dok indikator rizika sugeriraju potencijalnu opasnost za ekosustav.	34

Tablica 4. Pregled dosadašnjih istraživanja o PCB-ovima, OCP-ovima i PAH-ovima u Hrvatskoj i svijetu (nastavak)

ONEČIŠĆUJUĆA TVAR	LOKACIJA	UZORAK	REZULTATI	LITERATURA
PAH, PCB	Italija: jezero Maggiore	Sediment: 2001. – 2018.	U istraživanju sedimenata jezera Maggiore i njegovih pritoka u Italiji, uočene su visoke razine raznih onečišćujućih tvari poput PCB-ova i PAH-ova. Onečišćenje uglavnom potječe od urbane i industrijske aktivnosti. Uočen je nedavni porast PAH-ova u cijelom jezeru, što bi moglo proizlaziti iz pojedinačnog izvora onečišćenja. Naslijeđeni efekti industrijskog onečišćenja i dalje su prisutni u sedimentima zbog visoke postojanosti promatranih spojeva. Rezultati istraživanja naglašavaju ključnu ulogu pritoka u transportu onečišćujućih tvari iz sliva u jezero preko sedimentnog toka.	35
PCB	Francuska: rijeke Seine, Rhône, Loire i Garonne	Sediment: 1991. – 1995.	Istraživanje je provedeno na četiri glavne francuske rijeke kako bi se analizirala prisutnost PCB-a u sedimentima. Identificirana su dva glavna trenda onečišćenja: brzi porast i naknadni pad PCB-ova na rijekama Seine i Loire od 1945. do 1980-ih, i umjereno povećanje s naknadnim padom na rijekama Rhône i Garonne nakon 1990-ih. Industrijske aktivnosti, kao i urbana područja, identificirani su kao glavni izvori onečišćenja. Ovi nalazi ukazuju na značajan doprinos onečišćenju europskih mora PCB-ovima.	36
PAH, PCB, OCP	Turska: rijeka Yeşilirmak	Sediment: 2020.	Studija je ispitivala prisutnost i izvore POPs-ova u sedimentima rijeke Yeşilirmak i priobalnom području Crnog mora. Iako koncentracije nisu bile alarmantno visoke u usporedbi s drugim svjetskim lokacijama, neki POPs-ovi, posebno DDT, i dalje predstavljaju rizik za vodeni život. Veće koncentracije onečišćujućih tvari uglavnom dolaze iz industrijskih postrojenja i luka. Studija zaključuje da su potrebna dodatna istraživanja za bolje razumijevanje utjecaja ovih onečišćujućih tvari na ekosustav.	37
PAH, PCB, OCP	Turska: akumulacijska jezera	Sediment: listopad 2020.	Istraživanje ispituje uzorke iz akumulacijskih jezera koja opskrbljuju Istanbul vodom, sa fokusom na POPs-ove i teške metale. Koriste se različiti indeksi za procjenu razine onečišćenja. Većina uzoraka pokazuje umjereno onečišćenje teškim metalima, dok su POPs-ovi generalno ispod dopuštenih razina. Studija ukazuje na potrebu za dodatnim nadzorom i upravljanjem kvalitetom vode u Istanbulu.	38
PCB	Kina: rijeka Lian	Tlo, sediment: 2016.	U slivu rijeke Lian u Kini, istraživanje je pokazalo visoke razine PCB-ova u tlu i sedimentima povezane s recikliranjem elektroničkog otpada. Najviše koncentracije pronađene su u novim i tradicionalnim područjima recikliranja u usporedbi s ruralnim zonama. Izvori PCB-a uglavnom potječu iz tehničkih mješavina proizvedenih u Japanu i SAD-u. Onečišćenje PCB-ovima utječe i na nizvodna i priobalna područja, predstavljajući ekotoksikološki rizik za ljude i vodene organizme.	39

2.6. *In silico* modeliranje

U današnje digitalno doba, stalna potraga za znanstvenim napretkom i inovacijama dovodi do evolucije tradicionalnih disciplina, stvarajući mostove između prirodnih znanosti i informacijskih tehnologija. Toksikologija, znanost o otrovima i njihovim potencijalnim učincima na žive organizme, nije izuzetak. Sa sve većim pritiscima da se smanji broj eksperimenata na životinjama i uz rastuću potrebu za efikasnim testiranjem novih kemijskih spojeva, potrebna je alternativa koja može brže i preciznije predvidjeti toksične učinke. Kao odgovor na ovaj izazov, prediktivna toksikologija razvila se kao spoj klasične toksikologije i računalne znanosti, pružajući alate koji omogućuju brže i pouzdanije procjene potencijalnih rizika. Korištenje računalnih algoritama i modela za predviđanje bioloških odgovora, posebno u kontekstu toksičnih učinaka, postaje sve češći pristup. U sljedećim odlomcima detaljno će se istražiti ova sveobuhvatna paradigma, njezine prednosti, izazovi i buduće perspektive.

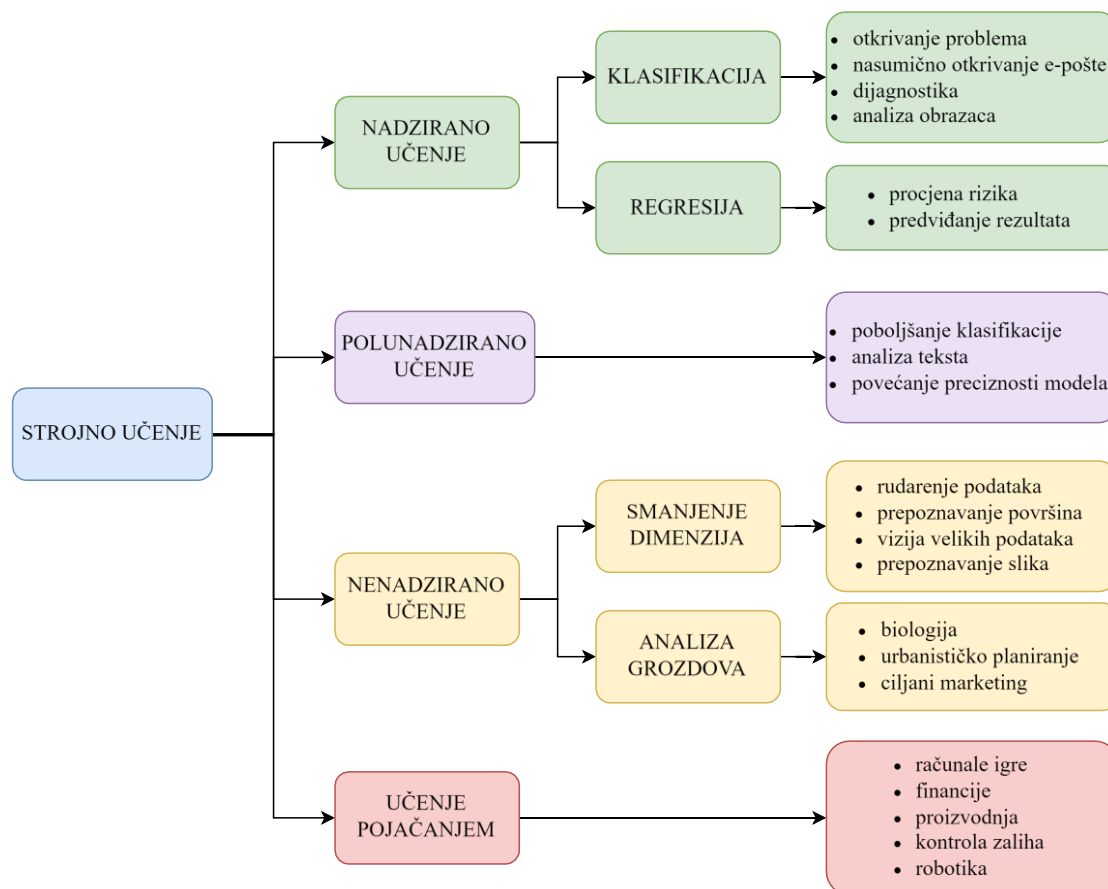
2.6.1. Strojno učenje

Strojno učenje (engl. *machine learning*) uključuje procese gdje se računala automatski treniraju za izvršavanje određenih zadataka pomoću algoritama. Ovaj pristup omogućava računalima da analiziraju i uče iz podataka, identificirajući obrasce i pravila bez izričitog programiranja. Jedan od ključnih primjera primjene strojnog učenja je automatsko učenje korisničkih preferencija, gdje se koristi niz algoritama za analizu velikih količina podataka radi izdvajanja općih pravila.⁸⁷ Ovi veliki skupovi podataka stvaraju okruženje idealno za strojno učenje, gdje se informacije redovito prikupljaju ili pohranjuju. Ovi skupovi podataka su često preveliki ili previše složeni za obradu putem standardnih aplikacija za obradu podataka, stoga su pristupi temeljeni na strojnom učenju neophodni za efikasnu analizu i interpretaciju.⁸⁸ Trenutačna upotreba pojma *big data* odnosi se na prediktivne analitičke sustave, analizu korisničkog ponašanja ili neke druge napredne metode analize podataka koje izvlače vrijednost iz velikih podataka, a rijetko se odnose na specifičnu veličinu skupa podataka. Na mnogo načina, depoziti velikih podataka izgrađeni su od strane korporacija s posebnim potrebama za obradom podataka, poput operativnih sustava koji su postupno proširivali veličine i broj

dostupnih skupova podataka. Za njihovu obradu potreban je softver za masivno paralelno izvođenje koji radi na desecima, stotinama ili čak tisućama servera.⁸⁹

Uz napredak tehnologije obrade velikih podataka i visokoučinkovitog računanja, strojno učenje postalo je ključna komponenta u otvaranju novih mogućnosti u različitim operativnim okruženjima. Ovo područje omogućuje računalima da razumiju i interpretiraju informacije bez detaljnog programiranja.⁹⁰ Svake godine, strojno učenje se širi na brojna istraživačka područja kao što su bioinformatika⁹¹, biokemija⁹², meteorologija⁹³, medicina⁹⁴, ekonomske znanosti⁹⁵, akvakultura⁹⁶, kemo-ekologija⁹⁷, robotičke znanosti⁹⁸ i klimatologija.⁹⁹ Broj algoritama za strojno učenje raste svake godine, a svaki algoritam se oslanja na tri ključne komponente: reprezentaciju, evaluaciju i optimizaciju. Postoje četiri osnovna tipa strojnog učenja (slika 10.)¹⁰⁰:

- nadzirano učenje, gdje podaci za treniranje sadrže specifične izlazne rezultate,
- nenadzirano učenje, gdje trenirani podaci ne uključuju predefimirane izlaze,
- polu-nadzirano učenje, s nekim predodređenim izlazima i
- učenje pojačanjem, koje predstavlja najnapredniji pristup.¹⁰¹



Slika 10. Osnovni tipovi strojnog učenja

2.6.2. Prediktivna toksikologija i njena primjena u regulatornom kontekstu

Prediktivna toksikologija označava uporabu računalno potpomognutih modela za procjenu bioloških odgovora, primarno usmjerenih prema toksičnim učincima, minimizirajući pritom potrebu za empirijskim eksperimentima. Temelji se na principu da struktura molekule određuje njezinu aktivnost (engl. *Structure-Activity Relationship*, SAR).¹⁰² Kada se taj odnos izmjeri i definira, naziva se „Kvantitativni odnos struktura i aktivnosti” (QSAR). QSAR modeli koriste podatke o toksičnosti različitih spojeva kako bi stvorili model koji povezuje toksičnost s molekularnim osobinama. Te osobine su definirane molekulskim deskriptorima, koji su numeričke vrijednosti koje opisuju strukturne karakteristike molekula, poput molarne mase, oblika, električnog naboja i slično. Ova metoda potom omogućuje predviđanje toksičnih profila novih, dosad neistraženih kemijskih spojeva.¹⁹

Regulatorni okviri, poput europske REACH regulative¹⁰³, insistiraju na detaljnom prikazivanju sigurnosnih informacija o kemijskim tvarima. Sukladno REACH-u, svaka kemijska supstanca distribuirana unutar europskih granica mora biti popraćena dokumentacijom koja jasno navodi fizikalno-kemijske, ekotoksikološke i toksikološke podatke. REACH potiče integraciju alternativnih metoda, uključujući i prediktivne modele koji trebaju zadovoljiti tri osnovna kriterija: (1) prepoznavanje obrazaca u podacima, (2) točno predviđanje rezultata iz novih eksperimenata i (3) usklađenost s ranije razvijenim modelima i teorijama.²¹ Ovi kriteriji su neophodni kako bi modeli bili prihvaćeni i korišteni u regulatorne svrhe, gdje je točnost i pouzdanost predviđanja od kritične važnosti.

Povijesno gledajući, početni QSAR modeli bili su jednostavniji, konstruirani s ograničenim brojem strukturno sličnih spojeva i oslanjali su se na jednostavne matematičke modele poput višeparametarske linearne regresije. Dostupnost ovih modela bila je uglavnom rezervirana za akademsku zajednicu kroz specijalizirane radove koji su se bavili deskriptorima dobivenim iz eksperimenata. No, s evolucijom QSAR-a kao alata za regulatornu toksikologiju, nastala je potreba za *user-friendly* modelima, što je rezultiralo razvojem autonomnih programskih rješenja. Uz širenje pristupa procesima predikcije, postala je ključna i optimizacija pouzdanosti izlaznih toksičnih profila, što zahtijeva uključivanje dodatnih metoda osiguranja transparentnosti evaluacijskih procesa.²⁰

Različiti autori koristili su složene modele za predviđanje budućih trendova PCB-ova, OCP-ova i PAH-ova, oslanjajući se na fizikalne, kemijske i mehanističke postavke. Lamon i sur.¹⁰⁴ istraživali su primjenu modela u kontekstu klimatskih promjena. Cowan-Ellsberry i sur.¹⁰⁵ primijenili su modele sudbine i izloženosti kako bi procijenili rizik od POPs-ova. Johnson i sur.¹⁰⁶ analizirali su biološke učinke POPs-ova te na evaluaciju ekološkog rizika u biološkim populacijama i vodenim ekosustavima. Kong i sur.⁸⁴ istraživali su kako POPs-ovi mogu utjecati na varijacije u meteorološkim parametrima kao što su brzina vjetra, temperatura i oborine, te na koncentraciju organskog ugljika u Baltičkom moru. Dudhagara i sur.¹⁰⁷ su PCA metodom identificirali kombinaciju petrogenih i pirogenih izvora PAH-ova u morskim sedimentima, dok su Santos i sur.¹⁰⁸ primijenili PCA za utvrđivanje izvora i procjenu ekoloških rizika povezanih s PAH-ovima u površinskim vodama rijeke Japarutuba u Brazilu. Bengtsson i Törneman¹⁰⁹ su koristili geostatističke metode i analize rizika kako bi procijenili prostornu distribuciju i rizike povezane s PAH-ovima u tlu onečišćenom krezotom na jugu Švedske. Abass i sur.¹¹⁰ koristili su toksikokinetičko modeliranje kako bi procijenili zdravstvene rizike povezane s PCB-153, ističući potrebu za daljnjim istraživanjima u svrhu unapređenja zdravlja populacije.³

Unatoč impresivnom napretku, prediktivna toksikologija suočava se s izazovima poput interpretabilnosti modela, procjene nesigurnosti i validacije predviđanja u realnim uvjetima. Budućnost prediktivne toksikologije vidi se u konvergenciji sa naprednim tehnologijama, poput dubokog učenja, te u integraciji više izvora podataka kako bi se postigla bolja preciznost i pouzdanost. Predviđa se da će ovi modeli postati središnji alat za podršku regulativnim procesima, pružajući pritom sve veću sigurnost za ljudsko zdravlje i okoliš.²²

2.6.3. VEGA QSAR

Pouzdanost modela (kvantitativnih) odnosa strukture i aktivnosti tvari ((Q)SAR) ključna je problematika koju je potrebno riješiti kako bi se povećala njihova prihvaćenost u procjeni rizika. Izazov je utvrditi može li se određeni (Q)SAR model koristiti za određenu tvar. Model se temelji na informacijama unutar svog skupa podataka za treniranje (engl. *training set*), pa se može očekivati da će model izgrađen na temelju specifičnih klasa tvari loše predviđati svojstva tvari iz ostalih

klasa. Dakle, ako je model razvijen za aniline, nije razumno primjenjivati ga na alkohole. Nadalje, postoje grupe kemikalija koje su teške za predviđanje. Jedan od razloga za teškoće predviđanja je što neke tvari imaju ponašanje koje je slabo zastupljeno u skupu podataka za treniranje, pa model ne može dobiti odgovarajuće informacije koje predstavljaju poseban učinak ovih tvari, koji je maskiran unutar većeg skupa tvari. Stoga regulatorna tijela zahtijevaju procjenu domene primjenjivosti modela (engl. *applicability domain*), primjerice u europskoj legislativi o industrijskim tvarima (uredba REACH)²⁵ i u načelima OECD-a za (Q)SAR.¹¹¹

Problematika toksičnosti nudi brojne izazove za algoritme umjetne inteligencije. Primarni problem je ograničena dostupnost informacija o uzrocima i mehanizmima toksičnosti za razne ishode, što komplicira deduktivne metode. Simbolički pristupi mogu pružiti „mehanička tumačenja”, koja nude osnovnu ideju o mogućem toksikološkom putu temeljenom na određenim kemijskim podskupinama. Međutim, čak i kada su strukturalna upozorenja (engl. *structural alerts*) poznata, njihova prisutnost ne jamči toksičnost; tako da njihova odsutnost ne znači automatsku sigurnost molekule. Stoga su razvijene dodatne metode, poput one u SARpy¹¹², kako bi se identificirala nova strukturalna upozorenja i „neutralne podstrukture” (engl. *neutral substructures*) koji mogu dodatno klasificirati sigurnost molekula. QSAR pristupi naginju probabilističkim metodama umjetne inteligencije, što može otežati interpretaciju rezultata. Uvijek postoji ravnoteža između točnosti predviđanja i jasnoće modela. Dok su jasni modeli ključni za stručne odluke, oni mogu biti neprecizni zbog generalizacija koje su potrebne za njihovu izradu, posebno kada podaci nisu obilni. Kako bi se izbjegao rizik od prekomjerne generalizacije, QSAR modeli često se oslanjaju na linearnu regresiju unutar specifične kemijske kategorije stoga nisu pouzdani izvan te specifične skupine.²¹

VEGAHUB,¹¹³ kao inkluzivna platforma, obuhvaća VEGU koja nudi preko 100 (Q)SAR modela, te dodatne alate za prioritizaciju, procjenu rizika i strategije prenošenja podataka (engl. *read-across*). Softver je dostupan korisnicima kao resurs otvorenog pristupa. U tablici 5. dan je pregled dostupnih alata za kemijsku sigurnost i ocjenu toksičnosti unutar VEGAHUB platforme.²⁰

U suvremenom kontekstu regulative kemijskih spojeva, VEGAHUB je postao ključna platforma koju Europska agencija za kemikalije (engl. *European Chemicals Agency*, ECHA) koristi za analizu tvari prethodno registriranih prema REACH uredbi. VEGAHUB je povezan s OECD QSAR Toolbox verzijom 4.4^{114,115}, a dostupan je i

kao samostalan alat za predviđanja na drugim platformama, poput AMBIT-a¹¹⁶ i CLiCC-a.¹¹⁷ Ključna komponenta VEGAHUB-a, VEGA, primjenjuje sofisticirane kvantitativne metrike za evaluaciju domene primjenjivosti zasnovane na multifaktorskoj analizi. Osim evaluacije kemijske sličnosti između ciljane i tvari iz skupa podataka za treniranje, platforma provodi dodatne analize specifične za krajnji ishod (engl. *endpoint*) i algoritam. Ove analize generiraju kvantitativne izlazne parametre koji služe za ocjenu pouzdanosti predviđanja za specifičnu tvar. Dodatno, algoritmi platforme kritički evaluiraju suglasnost između eksperimentalnih i predviđenih vrijednosti. Automatizacija ovog procesa omogućuje filtriranje predviđanja sa sumnjama vezanim za domenu primjenjivosti, asistirajući korisniku u identifikaciji potencijalnih anomalija ili neusklađenosti.²⁴ Metode i tehnike za analizu domene primjenjivosti unutar VEGA bile su tema akademskih rasprava^{20,118-124} i pokazale su se kao robustne i zadovoljavajuće u kontekstu prediktivne toksikologije.

Tablica 5. Pregled VEGAHUB alata za kemijsku sigurnost i ocjenu toksičnosti²⁰

Alat	Vrsta pristupa
VEGA QSAR	QSAR-ovi razvijeni s različitim metodama strojnog učenja na temelju molekularnih deskriptora i fragmenata.
ToxRead	Alat za podršku automatskom read-acrossu.
JANUS i PROMETHEUS	Alati za prioritizaciju spojeva prema njihovoj PBT sklonosti.
VEGA NRMEA	Modeli za 12 nuklearnih receptora na temelju fragmenata i podataka iz ToxCast/Tox21 i ChEMBL.
VERMEER Cosmolife	Softver za izvođenje <i>in silico</i> procjene rizika sastojaka kozmetičke formulacije.
ToxDelta	Softver za procjenu razlika između dvije kemijske strukture za Ames test temeljen na maksimalnoj zajedničkoj potstrukturi.
iQSAR	Alat za razvoj lokalnih modela na temelju kombinacije različitih metoda strojnog učenja.
CORAL	Razvoj QSAR modela na temelju Monte Carlo metoda koristeći SMILES string kao ulaz.
SARpy	Alat za razvoj klasifikacijskih modela na temelju identifikacije fragmenata.
QSARpy	Alat za razvoj kvantitativnih QSAR modela na temelju identifikacije fragmenata.

Razvijen iz bogate kolekcije *in silico* modela, VEGA QSAR¹²⁵ ima za cilj omogućiti javnu i neograničenu uporabu tih alata. Platforma ima korijene u EU-

financiranom projektu CAESAR (engl. *Computer-Assisted Evaluation of industrial chemical Substances According to Regulations*)¹²⁶, čija je inicijalna konceptualizacija i funkcionalnost postavljena prije više od desetljeća.²⁰ Zahvaljujući doprinosima raznih institucija iz Europe i SAD-a, VEGA QSAR nudi široki spektar modela. Ovi modeli obuhvaćaju različita svojstva, uključujući postojanost, logP, faktor biokoncentracije (engl. *Bioconcentration Factor*, BCF), ali i karcinogenost, mutagenost te senzibilizaciju kože. Mnogi modeli proizlaze direktno iz CAESAR projekta, dok su drugi dodani kako bi se simulirali standardi postavljeni od strane organizacija poput US EPA i talijanskog nacionalnog zavoda za zdravstvo (tal. *Istituto Superiore di Sanità*, ISS). Svi modeli su testirani, objavljeni u znanstvenoj literaturi i uspoređeni s komercijalnim alternativama, potvrđujući tako njihovu pouzdanost i primjenjivost.²¹ VEGA-QSAR predstavlja vrlo sveobuhvatan alat za predikciju i evaluaciju kemijskih spojeva. Osim što generira bogate izlazne izvještaje u PDF formatu i pregledne tablične podatke, VEGA-QSAR nudi višestruke metrike i metode za ocjenu pouzdanosti tih predikcija. Među njima je i indeks domene primjenjivosti (engl. *applicability domain index*), koji se koristi za kvantitativno ocjenjivanje pouzdanosti svake predikcije, omogućujući korisnicima da razumiju i kvantificiraju rizik povezan s predviđenim ishodima. Indeks domene primjenjivosti se kategorizira u tri razine pouzdanosti: visoku, umjerenu i nisku. VEGA-QSAR također koristi *read-across* pristup, gdje se slični spojevi iz velike baze podataka koriste kao referenca za potvrdu predikcija što korisnicima omogućuje bolje razumijevanje kako se predviđeni spojevi uklapaju u veći kontekst kemijskih sličnosti i razlika.²⁰ Dodatni elementi kao što su strukturalni alarmi korisni su za daljnju evaluaciju, posebno kada je u pitanju procjena toksičnosti. Strukturalni alarmi specifične strukturne značajke ili motivi unutar kemijskih spojeva koji su poznati po tome što često ukazuju na određena biološka ili toksikološka svojstva. U kontekstu VEGA QSAR-a, strukturalni alarmi služe kao dodatni pokazatelji koji mogu ukazivati na potencijalne rizike ili koristi određenog spoja. Na primjer, određene skupine, kao što su nitro-skupine ili halogenirani aromatski prstenovi, mogu biti strukturalni alarmi za toksičnost. Kada VEGA QSAR analizira molekulu, ovakvi alarmi se mogu identificirati i koristiti za dodatnu evaluaciju predikcija. Oni mogu upozoriti na potencijalno toksične ili reaktivna svojstva spoja. VEGA omogućuje dublji uvid, ne ograničavajući se samo na predviđanje.²⁰

Stvarna svrha VEGA platforme je olakšavanje procjene rizika kemijskih tvari. Iako *in silico* model može dati jedan rezultat, analiza sličnih tvari može pružiti suprotne podatke. Strukturalni alarmi pružaju dodatnu razinu analize. Broj integriranih modela u VEGA platformi se povećava, trenutno obuhvaćajući 112 modela za razne toksikološke i fizikokemijske parametre. U VEGA platformi se mogu pronaći modeli koji već postoje na drugim renomiranim platformama, ali su adaptirani za VEGA okruženje. Svi modeli su opisani u korisničkom priručniku, a modele je moguće karakterizirati koristeći QMRF format izvještavanja (engl. *QSAR Model Reporting Format*, QMRF). Ovo osigurava transparentnost i pravilnu dokumentaciju modela, što je nužno za regulatornu uporabu.²⁰

2.6.4. Analiza glavnih komponenta

Velike količine podataka koje se generiraju svakodnevno predstavljaju izazov za obradu i analizu. Kako bi se osiguralo da su podaci ne samo upravljivi već i korisni, važno je razviti tehnike koje mogu efikasno obraditi i interpretirati te podatke. Jedan od ključnih pristupa u tom kontekstu je smanjenje dimenzionalnosti, koji ima za cilj pretvoriti kompleksne, visokodimenzionalne podatkovne setove u sažetije i jednostavnije oblike, ne gubeći pritom bitnu informaciju. Posebno se izdvaja analiza glavnih komponenti, koja je postala prednjačka tehnika u ovom području.^{127,128}

Tehnike smanjenja dimenzija nude niz prednosti: (i) smanjenje prostora za pohranu podataka, (ii) brži izračuni, (iii) uklanjanje nepotrebnih, bučnih i redundantnih podataka, (iv) optimizacija kvalitete podataka, (v) unaprjeđenje učinkovitosti i točnosti algoritma, (vi) omogućuje vizualizaciju podataka te (vii) pojednostavljuje klasifikaciju i povećava performance.¹²⁹ PCA predstavlja dominantnu tehniku za smanjenje dimenzionalnosti setova podataka. U procesu, odbacuju se manje važne komponente, što omogućava dvije prednosti: bolje razumijevanje složenosti podataka i pojednostavljenje prikaza.²⁶

Algoritmi za smanjenje dimenzionalnosti (engl. *dimensionality reduction*) ciljaju na minimizaciju razlika između distribucija različitih skupova podataka unutar latentnog prostora, čime se poboljšava transferno učenje.¹³⁰ Primjena ovih metoda na specifične uređaje pokazuje bolje performanse u usporedbi s pristupima koji ne koriste smanjenje dimenzionalnosti.¹³¹ Ove tehnike omogućavaju efikasniju analizu,

obradu i vizualizaciju podataka, što rezultira bržim izračunima, uklanjanjem buke i redundancije te optimizacijom kvalitete podataka.^{129,132} Tehnike se mogu kategorizirati u odabir i izdvajanje značajki, gdje odabir značajki reducira redundantne podatke za precizniju reprezentaciju, dok izdvajanje značajki identificira ključne informacije u sažetijem formatu.^{27,29} PCA prilagođava podatke standardizacijom, uzimajući u obzir različite jedinice mjerenja. Ova metoda, često povezana s korelacijskom matricom standardiziranih podataka, izračunava vektore vlastitih vrijednosti za maksimizaciju varijance.^{26,28} Rezultati PCA mogu varirati s obzirom na specifičnosti *dataset*-a, ali je posebno koristan za skupove podataka s varijabilnim mjerilima.^{133,134}

PCA analiza, koju su u ranoj literaturi definirali Karl Pearson¹³⁵ i Harold Hotelling¹³⁶, pronašla je svoju značajniju primjenu tek s širenjem suvremenih računalnih sustava desetljećima kasnije.¹³⁷ Danas se koristi u mnoštvu znanstvenih disciplina, uključujući neuroznanost¹³⁸, kvantitativne financije¹³⁹, pri čemu je najčešća primjena prepoznavanje lica¹⁴⁰ i druge primjene poput medicinske korelacije podataka.¹⁴¹ Središnji princip PCA temelji se na maksimiziranju zadržane varijance kroz linearnu kombinaciju originalnih varijabli. Ključne komponente (engl. *principal components*, PC) identificiraju te kombinacije, dok problematika vlastitih svojstvenih vrijednosti/vlastitih vektora pruža matematički okvir za njihovo rješavanje. PCA je računalno intenzivan postupak čija se primjena znatno proširila s dolaskom modernih računalnih sustava. Osim svoje primarne funkcije, PCA omogućuje i analizu setova podataka s visokom kolinearnošću, nedostajućim vrijednostima i kategoričkim podacima, čime se postavlja kao neophodan alat u analizi velikih podataka, posebno u kontekstu strojnog učenja.²⁶

3. EKSPERIMENTALNI DIO

Analitičke aktivnosti provedene su na Institutu za medicinska istraživanja u Zagrebu, Zavod za higijenu okoliša, u okviru rada projekta EnvironPollutHealth pod vodstvom dr. sc. Snježane Herceg Romanić. Ovaj integrirani pristup omogućio je sveobuhvatnu evaluaciju prisutnosti i koncentracija navedenih onečišćujućih tvari u riječnim sedimentima, koristeći napredne analitičke tehnike za osiguravanje visoke razine preciznosti i pouzdanosti rezultata. Također, u nastavku su detaljnije opisani ključni alati korišteni u ovom radu, s posebnim naglaskom na VEGA QSAR softver, *in silico* procjenu rizika te redukciju dimenzionalnosti i grupiranje podataka, koji su se pokazali kao iznimno korisni u analizi i interpretaciji ekotoksikoloških podataka.

3.1. Određivanje PCB-ova i OCP-ova u riječnom sedimentu

3.1.1. Uzorkovanje riječnih sedimenata

Uzorkovanje riječnih sedimenta provedeno je na 28 lokacija duž hrvatskih rijeka (tablica 6.) od svibnja 2020 do rujna 2021. godine. Na svakoj lokaciji uzeto je po četiri uzorka sedimenta s površine od 1 m², smještenih na uglovima imaginarnog kvadrata, pri čemu je svaki uzorak težio približno 0,5 kg. Uzorci su pohranjeni u hladnjaku na temperaturi od -18 °C do trenutka pripreme za analizu. Nakon odmrzavanja uzorci s iste lokacije su kombinirani i homogenizirani. Zbog visokog udjela vlage, sedimenti su sušeni na zraku pri sobnoj temperaturi tijekom četiri dana.

Tablica 6. Popis uzoraka

RIJEKA	LOKACIJA	LAT	LON	OPIS
Kupa	Kuželj	45.477734	14.806545	Kuželj, Gorski kotar
Kupa	Severin	45.428927	15.190848	Severin na Kupi, kupalište Klanac
Kupa	Jurovo	45.628944	15.301039	Jurovo - Jurovski Brod (utok Lahinje - lijevi pritok)
Kupa	HE	45.614388	15.476448	Ozalj
Kupa	Ozalj	45.614723	15.479833	Ozalj, gradsko kupalište
Kupa	Karlovac	45.496340	15.551701	centar Karlovca
Kupa	Petrinja	45.444949	16.270323	Petrinja (kupalište)
Kupa	Sisak	45.470357	16.385345	Sisak (Stari grad)
Kupica	Brod na Kupi	45.447729	14.853218	Iševnica, Gorski kotar
Kupčina	ZG županija	45.560677	15.737883	Zagrebačka županija
Korana	ušće u Kupu	45.500745	15.575217	
Korana	Slunj	45.121145	15.589586	Slunj, kupalište Rastoke
Korana	Karlovac	45.484183	15.559342	Karlovac - Foginovo kupalište
Mrežnica	Slapić	45.420562	15.482801	Belavići, kamp Slapić
Mrežnica	Duga Resa	45.445093	15.504593	Duga Resa, gradsko kupalište
Sava	Sisak	45.471534	16.387908	Sisak (Stari grad)
Sava	Zagreb	45.779541	16.012931	Zagreb (Savski Kamenji - toplana)
Orljava	Mijači	45.446224	17.473141	
Brzaja	Striježevica	45.466612	17.506494	
Vidak	Stubičke Toplice	45.975335	15.939999	
Mirna	Istra	45.357614	13.737686	
Mala Huba	Istra	45.401167	13.947612	
Boljunčica	Istra	45.262613	14.127370	
Neretva	Doljani	43.050950	17.661434	Metković, Doljani
Neretva	Unka	43.054255	17.655278	Metković, Unka
Neretva	most	43.054154	17.652171	Metković, most
Neretva	ušće	43.020129	17.447356	ušće
Plitvice	Prošćansko	44.864727	15.600791	Plitvička jezera (Prošćansko)

3.1.2. Karakterizacija riječnih sedimenata

Spojevi su izdvojeni iz mokrih uzoraka sedimenta ekstrakcijom potpomognutom mikrovalovima na sustavu za ubrzane mikrovalne reakcije MARS X snagom od 600 W (CEM Corp., Matthews, NC). Uzorak vlažnog sedimenta mase 5 g i 30 mL mješavine *n*-heksana i acetona u omjeru volumena 1 : 1 stavljeni su u posudu za ekstrakciju od PFA Teflona (GreenChem Plus, CEM, NC, SAD). Ekstrakcija je započela postupnim povećanjem temperature na 80 °C tijekom 5 minuta, nakon čega je slijedilo 10 minuta mikrovalnog zagrijavanja na 80 °C uz umjereno magnetsko miješanje. Nakon hlađenja na sobnu temperaturu, 25 mL ekstrakta odvaja se u graduirane epruvete. Ekstrakt je uparen u laganoj struji dušika i bez zagrijavanja kupelji do 3 mL, a formirani donji vodeni sloj je pažljivo uklonjen pomoću Pasteurove pipete. Organski sloj je zatim uparen do 1 mL i propušten kroz Florisil Bakerbond SPE kartušu, prethodno kondicioniranu s 10 mL *n*-heksana. Zadržani spojevi isprani su s kartuše s 10 mL *n*-heksana, a eluat je u laganoj struji dušika i bez zagrijavanja kupelji uparen do 1 mL. Budući da čišćenje ekstrakata sedimenta pomoću čvrstofazne ekstrakcije korištenjem Florisila nije dokazalo dovoljnu i jednaku učinkovitost za eliminaciju komponenata matrice koje ometaju GC analizu ciljnih analita, eluati su dodatno pročišćeni miješanjem s 1 mL koncentrirane sumporne kiseline te centrifugirani tijekom 5 minuta na 3500 rpm. Za uklanjanje sumpora, uzorke je bilo potrebno dodatno mućkati sa živom. Na odjeljeni sloj *n*-heksana kapalicom je dodano 1 mL žive. Sloj *n*-heksana odjeljen za GC analizu profiltiran kroz *syringe* filter veličine pora 0,2 µm.

Svi uzorci sedimenta analizirani su u dvostrukom primjerku. Ekstrakti sedimenta analizirani su paralelno na dvije plinske kromatografske kolone dužine 30m različitih polariteta (HP5 i HP1701) (Agilent, USA). Vrednovani su samo spojevi potvrđeni na obje kolone. Također, pripremljene su i analizirane slijepa probe. Maseni udjeli OCP-ova i PCB-ova u analiziranim sedimentima izračunati su kao prosjek dvaju ponavljanja. Za izračunavanje masenih udjela na osnovi suhe mase sedimenta (s.m.), sadržaj vlage u sedimentu određen je neposredno prije ekstrakcije sušenjem 2 g sedimenta na 110 °C tijekom tri sata do konstantne mase.

Nakon sušenja do konstantne mase na 110 °C, uzorci sedimenta su prosijani kroz sito pora 1 mm te je određen ukupni ugljik (TC) i anorganski ugljik (IC) koristeći analizator ukupnog organskog ugljika (TOC-VCPH) povezan s modulom za čvrste

uzorke SSM-5000A (Shimadzu, Kyoto, Japan). Sadržaj organskog ugljika (TOC) izračunat je kao razlika između TC i IC. pH vrijednost sedimenta mjerena je u supernatantu nakon noćne ekvibracije 2,5 g uzoraka sušenih na zraku s 15 mL destilirane vode koristeći pH/konduktometrijski mjerač SevenMulti™ opremljen s InLab® Expert Pro pH elektrodom (Mettler Toledo, Schwerzenbach, Švicarska). Isti supernatant analiziran je za električnu vodljivost (EC), koristeći InLab® 731 sonda za vodljivost, kao i za ukupni otopljeni ugljik (TDC) i otopljeni organski ugljik (DOC) koristeći TOC-VCPH analizator.

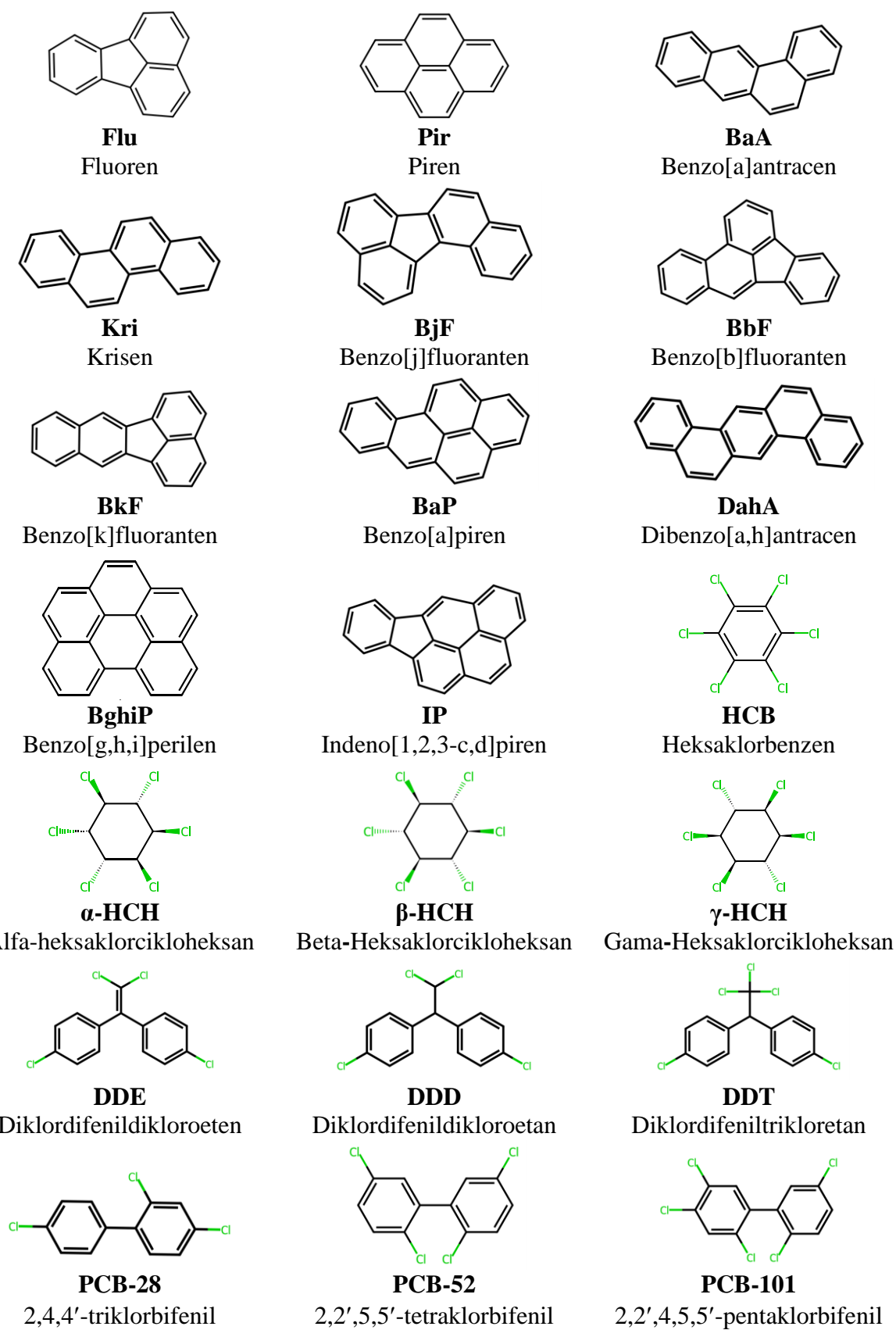
3.2. Određivanje PAH-a u riječnom sedimentu

Ekstrakcija PAH-a iz sedimentnih uzoraka izvedena je mješavinom otapala (toluen:cikloheksan 7:3) koristeći tehnologiju ubrzane ekstrakcije otapalom (Thermo Scientific™ Dionex™ ASE™ 350). U postupku je korišten 1 g uzorka sedimenta, koji je pomiješan s inertnim materijalom, dijatomejskom zemljom, radi poboljšanja protoka otapala i efikasnosti ekstrakcije. Uzorci su postavljeni u ekstrakcijske ćelije uređaja ASE 350, nakon čega je pokrenut postupak ekstrakcije pri temperaturi 125 °C i tlaku 1500 psi. Daljnja priprema uključivala je centrifugiranje dobivenog ekstrakta (30 mL) i uparavanje u vakuumu do suhog stanja. Nakon toga, uzorci su ponovno otopljeni u acetonitrilu. Koncentracije PAH-a određene su pomoću Agilent Infinity 1260 visoko učinkovite tekućinske kromatografije (HPLC) s detektorom fluorescencije. Za razdvajanje PAH-a korištena je Zorbax Eclipse PAH kolona (100 × 2,1 mm). Mobilna faza bila je acetonitril i voda (60 : 40), s protokom od 0,2 mL min⁻¹. Kalibracijske krivulje pripremljene su s komercijalnim standardom PAH (Supelco EPA 610 PAHs Mix).

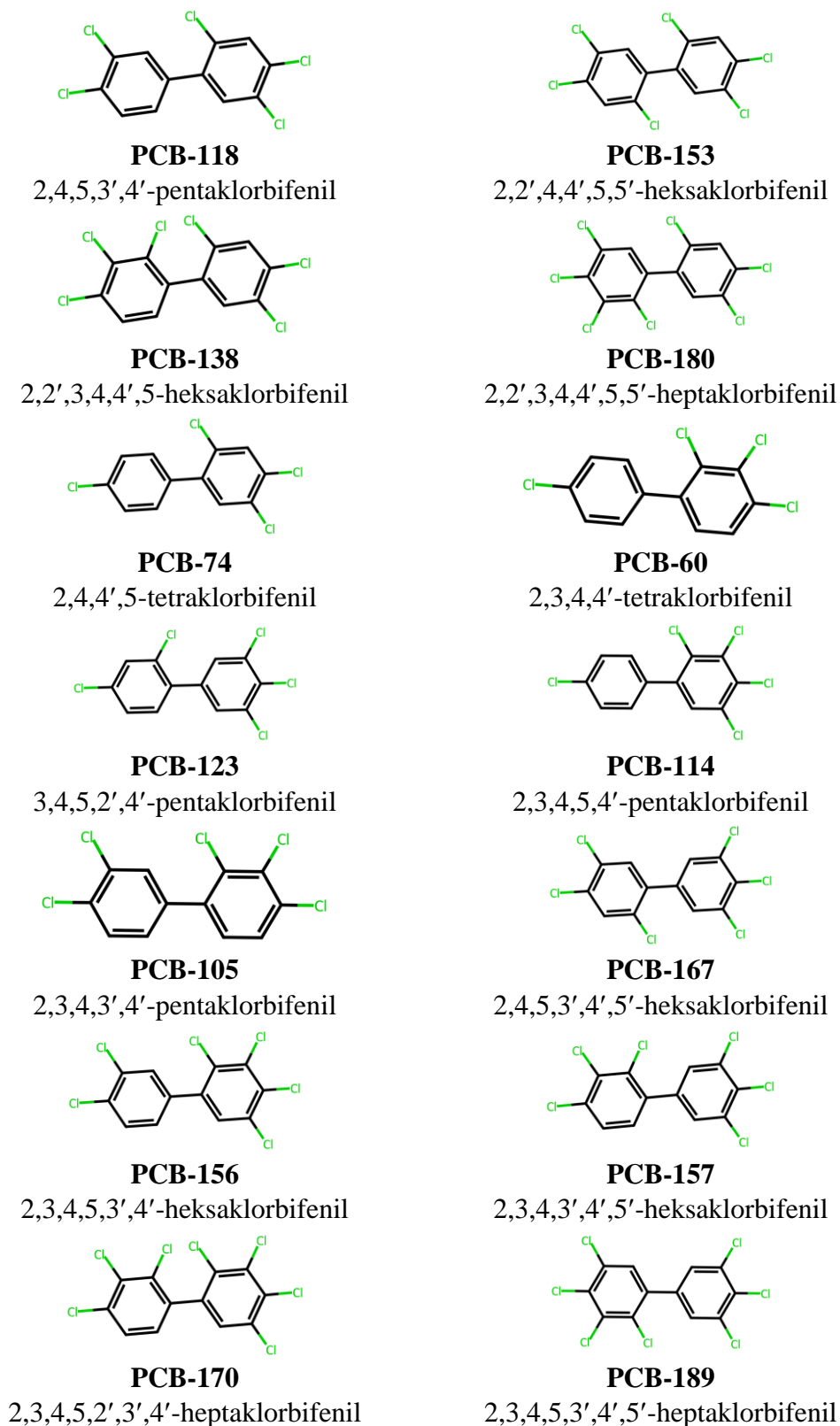
3.3. Modeliranje

3.3.1. VEGA QSAR alat

Za unos molekula u VEGA QSAR korišten je format sustava pojednostavljenog unosa molekularnih linija (engl. *Simplified Molecular Input Line Entry System*, SMILES)¹⁴², a molekularne strukture preuzete su iz baze podataka PubChem.¹⁴³ Na slici 11. prikazane su strukture molekula PAH-ova, OCP-ova i PCB-ova analiziranih u ovom radu te njihove kratice i nazivi.



Slika 11. Strukture molekula PAH-a, OCP-a, PCB-a analiziranih u ovom radu

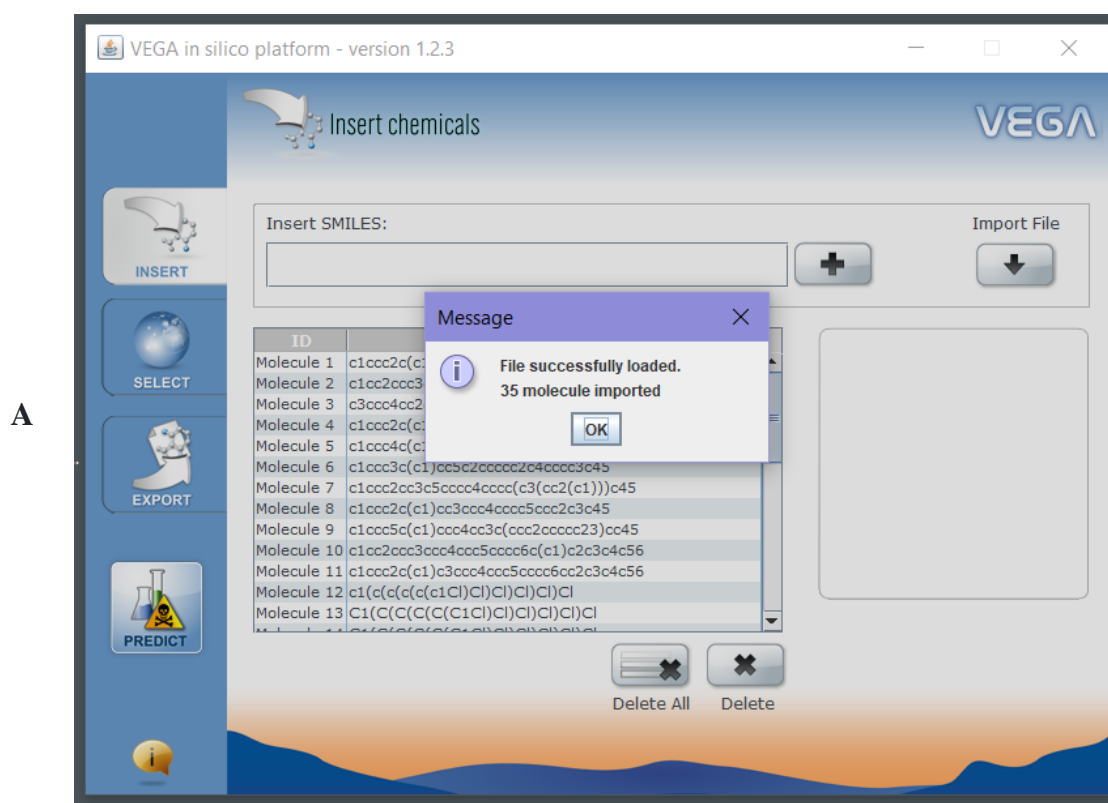


Slika 11. Strukture molekula PAH-a, OCP-a, PCB-a analiziranih u ovom radu

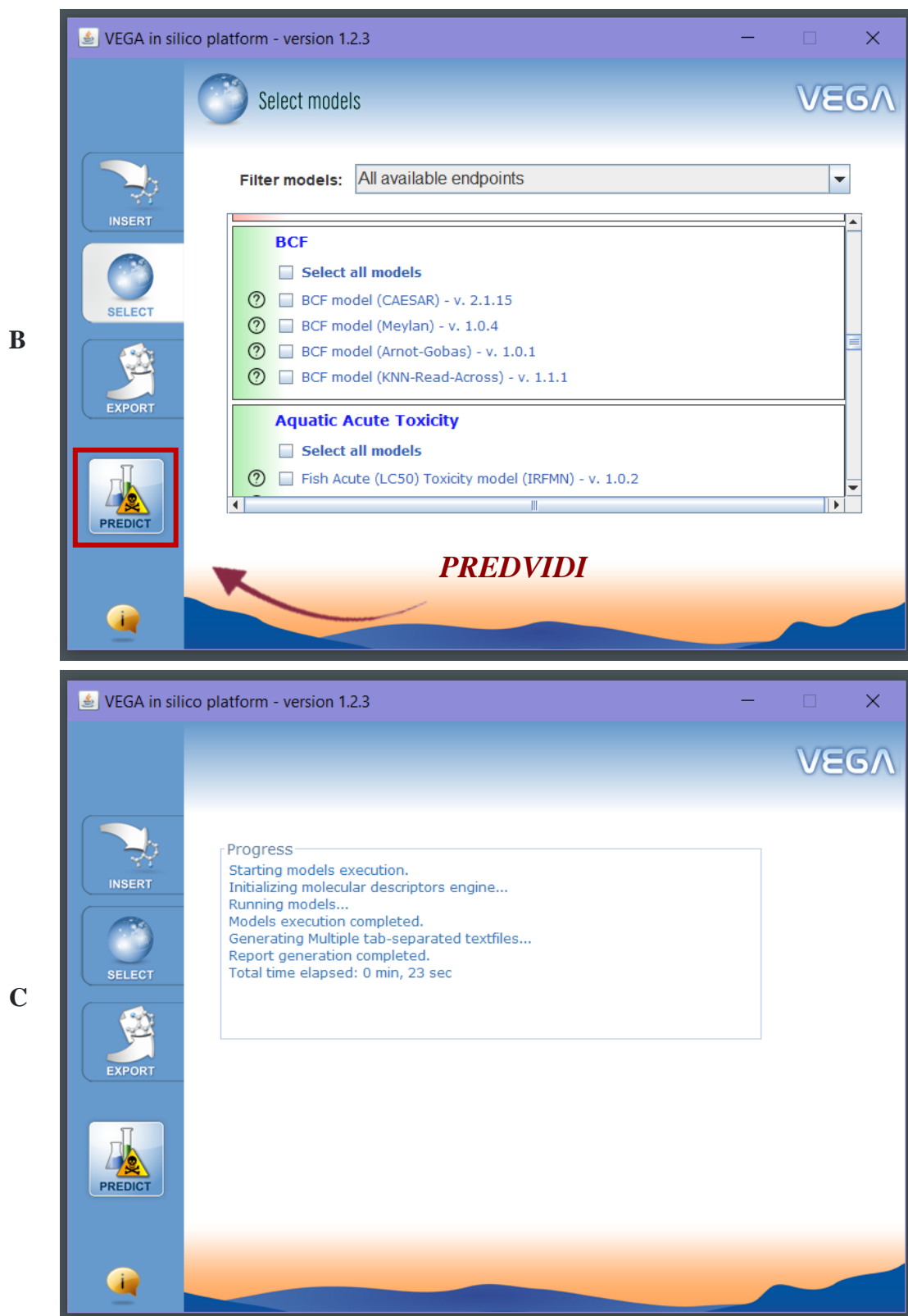
(nastavak)

Na slici 12. prikazan je proces rada unutar VEGA QSAR platforme.¹²⁵ U prvom koraku (slika 12.a), potrebno je unijeti popis identifikatora molekula u platformu. Kemijski spojevi su učitani kroz opciju Import File, a platforma je potvrdila uspješno učitavanje 35 molekula. Nadalje, korisnik pristupa odabiru modela za predviđanje (slika 12.b), birajući između 112 dostupnih modela one koji su relevantni za analizu. Nakon odabira modela, korisnik je spreman pokrenuti analizu klikom na gumb PREDICT označen crvenom strelicom. U posljednjoj fazi (slika 12.c), platforma demonstrira napredak u izvođenju modela, uključujući pokretanje algoritama za izračun molekularnih deskriptora i generiranje izvještaja. Završetak procesa signaliziran je porukom o uspješnosti, pri čemu se prikazuje vrijeme potrebno za generiranje podataka.

Ovaj pristup omogućuje korisnicima VEGA QSAR-a provođenje *in silico* procjene toksičnosti i istraživanje ekotoksikoloških svojstava kemijskih spojeva.



Slika 12. Proces rada unutar VEGA QSAR platforme: (A) unos popisa identifikatora molekula, (B) odabir modela i (C) pohrana rezultata



Slika 12. Proces rada unutar VEGA QSAR platforme: (A) unos popisa identifikatora molekula, (B) odabir modela i (C) pohrana rezultata (*nastavak*)

3.4. Procjena rizika

VEGA QSAR modeli za procjenu toksičnosti, postojanosti i bioakumulacije spojeva, primijenjeni su za PBTC analizu i izračunavanje toksičnih jedinica (*TU*), omogućujući dublje razumijevanje rizika koje postojana organska onečišćivala nose za okoliš i javno zdravlje. Analiza je provedena prema predloženoj metodologiji Babić i suradnika¹⁴⁴, gdje je metoda PBTr modificirana u metodu PBTC. Analiza podataka, uključujući PCA i HCA analizu za identifikaciju ključnih uzoraka i veza među spojevima, provedena je pomoću Pythona.¹⁴⁵ Ovaj pristup je omogućio uvid u distribuciju i potencijalne izvore onečišćenja.

3.4.1. Izbor VEGA QSAR modela

Za analizu postojanosti (P), korišteno je šest modela koji obuhvaćaju različite aspekte okolišnog ponašanja spojeva. To su: Ready Biodegradability model (IRFMN) (v. 1.0.10), 2 modela za postojanost u sedimentu (Persistence (sediment) model (IRFMN) (v. 1.0.1) i Persistence (sediment) quantitative model (IRFMN) (v. 1.0.1)), 2 modela za postojanost u vodi (Persistence (water) model (IRFMN) (v. 1.0.1) i Persistence (water) quantitative model (IRFMN) (v. 1.0.1)) te Air Half-Life (IRFMN-CORAL) (v. 1.0.1) model. Ovi modeli su neophodni za razumijevanje procesa razgradnje i zadržavanja spojeva u različitim okolišnim komponentama koje su ključne za procjenu rizika od POPs-ova. U domeni bioakumulacije (B), četiri modela pružaju uvide u sposobnost akumulacije spojeva u biološkim sustavima. To su: BCF model (CAESAR) (v. 2.1.15), BCF model (Meylan) (v. 1.0.4), BCF model (Arnot-Gobas) (v. 1.0.1) te BCF model (KNN-Read-Across) (v. 1.1.1). Za analizu toksičnosti (T), primijenjena su tri modela za procjenu učinaka na vodene organizme: Fathead Minnow LC50 96h (EPA) (v. 1.0.10), Daphnia Magna 48h (EPA) (v. 1.0.9) i Fish Acute LC50 (IRFMN) (v. 1.0.2). Ovi modeli su ključni za procjenu akutne toksičnosti spojeva i njihovih potencijalnih učinaka na različite vodene vrste. Za izračun logaritamske vrijednosti koeficijenta raspodjele oktanol-voda ($\log P$), korištena su tri modela: LogP model (Meylan-Kowwin) (v. 1.1.5.), LogP model (MLogP) (v. 1.0.1.) i LogP model (ALogP) (v. 1.0.1.).

3.4.2. Procjena toksičnosti *in silico* i prioritizacija PCB-ova, OCP-ova i PAH-ova

Primijenjena su dva pristupa za procjenu toksičnosti uzoraka sedimenta i prioritizaciju analiziranih spojeva: ocjenjivanje prema PBTC kriterijima^{146,147} te pristup baziran na toksičnim jedinicama (TU).¹⁴⁸ Obje procjene izračunate su koristeći koncentracije PCB-ova, OCP-ova i PAH-ova u sedimentima rijeke i parametre generirane pomoću *in silico* toksikoloških alata (VEGA QSAR).

3.4.2.1. Računanje toksikoloških jedinica

Za izračun toksičnosti LC_{50} (mg/L) odabrani su modeli Fathead Minnow LC_{50} 96h (EPA) (v. 1.0.10), *Daphnia Magna* 48h (EPA) (v. 1.0.9) i Fish Acute LC_{50} (IRFMN) (v. 1.0.2) iz VEGA QSAR-a²¹. Na temelju ovih modela, provedeno je integrirano rangiranje toksičnosti, pri čemu je izrađen prosječan rang (engl. *average rank*) kako bi se dobila uravnotežena procjena rizika iz različitih izvora.

Toksična jedinica (engl. *Toxic Unit*, TU) definirana je kao omjer koncentracije kemijskog spoja (c_i) i odabrane vrijednosti toksičnosti (jednadžba (1)).¹⁴⁸

$$TU_i = \frac{c_i}{LC_{50}} \quad (1)$$

Promatrani spoj imat će $TU = 1$, odnosno $\log TU = 0$, ukoliko je njegova koncentracija u vodi jednaka njegovoj LC_{50} vrijednosti. Za izračun specifičnog rizika lokacije, pretpostavljeno je ponašanje sustava prema aditivnom modelu (jednadžba (2)).^{149,150}

$$TU_{\text{SITE}} = \log \sum_{i=1}^n TU_i \quad (2)$$

Prema očekivanjima ravnoteže između ugljika u sedimentu i vode unutar pora sedimenta¹⁵¹, TU za sediment (jednadžba (3)) može se izračunati koristeći koncentracije spojeva mjerene u ekstraktima sedimenta na temelju vrijednosti njihovog koeficijenta raspodjele između sedimenta i vode u porama sedimenta, K_p (jednadžba (4))¹⁴⁸.

$$TU_{\text{sed}} = \frac{c_s}{K_p \cdot LC_{50}} \quad (3)$$

$$K_p = \frac{c_s}{c_d} = f_{oc} \cdot K_{oc} \quad (4)$$

Oznakom c_s označena je koncentracija tvari u sedimentu ($\mu\text{g}/\text{kg}$), a sa c_d koncentracija tvari u vodi koja se nalazi u porama sedimenta ($\mu\text{g}/\text{L}$). K_{oc} je koeficijent raspodjele za organski ugljik u sedimentu, a f_{oc} je maseni udio organskog ugljika u sedimentu, koji je mjeren na svih 28 lokacija. Jednadžba (4) se temelji na pretpostavci da je organski ugljik jedina važna faza za apsorpciju organskih onečišćivala.¹⁵² Raspodjela se temelji na pretpostavci postojanja ravnoteže između onečišćujuće tvari adsorbirane na česticama sedimentnog organskog ugljika i onečišćujuće tvari u vodi pora sedimenta. K_{oc} je izračunat prema jednadžbi (5).¹⁵³ LogP vrijednost dobivena je kao median vrijednost 3 VEGA QSAR modela (LogP model (Meylan-Kowwin) (v. 1.1.5.), LogP model (MLogP) (v. 1.0.1.), LogP model (ALogP) (v. 1.0.1.)).

$$\log K_{oc} = 1.3 \cdot \log P - 0.61 \quad (5)$$

3.4.2.2. Izračun PBTC ocjene

PBT ocjenjivanje je priznata metoda prioritizacije onečišćivala koja vrednuje analizirane spojeve temeljem njihove postojanosti, bioakumulacije i toksičnosti.^{146,147} Pojedinačni PBT bodovi su izračunati na osnovu podataka dobivenih iz VEGA QSAR-a za postojanost (6 različitih modela za postojanost), bioakumulaciju (4 BCF modela) i toksičnost (3 LC_{50} modela).

Zbog procjene rizika PCB-ova, OCP-ova i PAH-ova koja nije ovisna samo o njihovim individualnim PBT bodovima već i izmjerenoj koncentraciji, u ovom diplomskom radu upotrijebljena je prilagođena metoda Babić i suradnika¹⁴⁴ za određivanje PBTC ranga. PBTC rang je neparametarska metoda temeljena na ponderiranom aritmetičkom prosjeku pojedinačno dodijeljenih rangova, kako bi se prioritetizirali spojevi s najvišim rizikom za svako mjesto uzorkovanja. Jednadžbom (6) definiran je PBTC rang, gdje R_i predstavlja individualni rang za svaku od četiri komponente x - postojanost (P), bioakumulacija (B), toksičnost (T) i koncentracija (C), a w_i su težinski faktori. Svi težinski faktori postavljeni su na 1, budući da su sve

komponente jednako relevantni faktori koji doprinose potencijalnom riziku za vodene organizme.

$$PBTC = R \left(\frac{\sum_{i=1}^n R_i(x_i) \cdot w_i}{\sum_{i=1}^n w_i} \right), x \in \{P, B, T, C\} \quad (6)$$

3.4.3. Redukcija dimenzionalnosti i grupiranje podataka

3.4.3.1. Analiza glavnih komponenata

PCA analiza implementirana je s ciljem razlučivanja i karakterizacije koncentracija PCB-ova, OCP-ova i PAH-ova u sedimentima različitih lokacija. PCA omogućuje transformaciju kompleksnog skupa originalnih varijabli u novi set nekoreliranih glavnih komponenata, koje efektivno sažimaju ključne informacije skupa podataka uz maksimalno očuvanje varijance te pomažu u identifikaciji i vizualizaciji glavnih izvora varijacije i potencijalnih izvora onečišćenja. Metoda je implementirana korištenjem modula *sklearn.decomposition.PCA*¹⁵⁴ iz Pythonove biblioteke Scikit-Learn, za jasniju vizualizaciju i bolje razumijevanje strukturalnih veza i uzoraka varijabilnosti prisutnih u ekološkim podacima.

3.4.3.2. K-means grupiranje

K-means grupiranje¹⁵⁵ primijenjeno je kako bi se identificirale homogene grupe spojeva unutar PCA prostora, s ciljem boljeg razumijevanja grupnih obilježja i potencijalnih zajedničkih izvora onečišćenja. Broj klastera određen je analizom varijance unutar klastera, a rezultati su pomogli u interpretaciji ekoloških obrazaca prisutnih među uzorcima.

3.4.3.3. Hijerarhijska klaster analiza

Hijerarhijska klaster analiza (engl. *Hierarchical Cluster Analysis*, HCA) implementirana je za istraživanje veza između kemikalija, koristeći grupiranje eksperimentalnih podataka mjerenih koncentracija PCB-ova, OCP-ova i PAH-ova.^{156,157} Korištena mjera sličnosti bila je Pearsonova korelacijska udaljenost. Analiza je provedena koristeći funkciju *seaborn.clustermap*¹⁵⁸ iz Python biblioteke Seaborn, za istovremeno prikazivanje strukture klastera i distribucije podataka u intuitivnom i informativnom formatu.

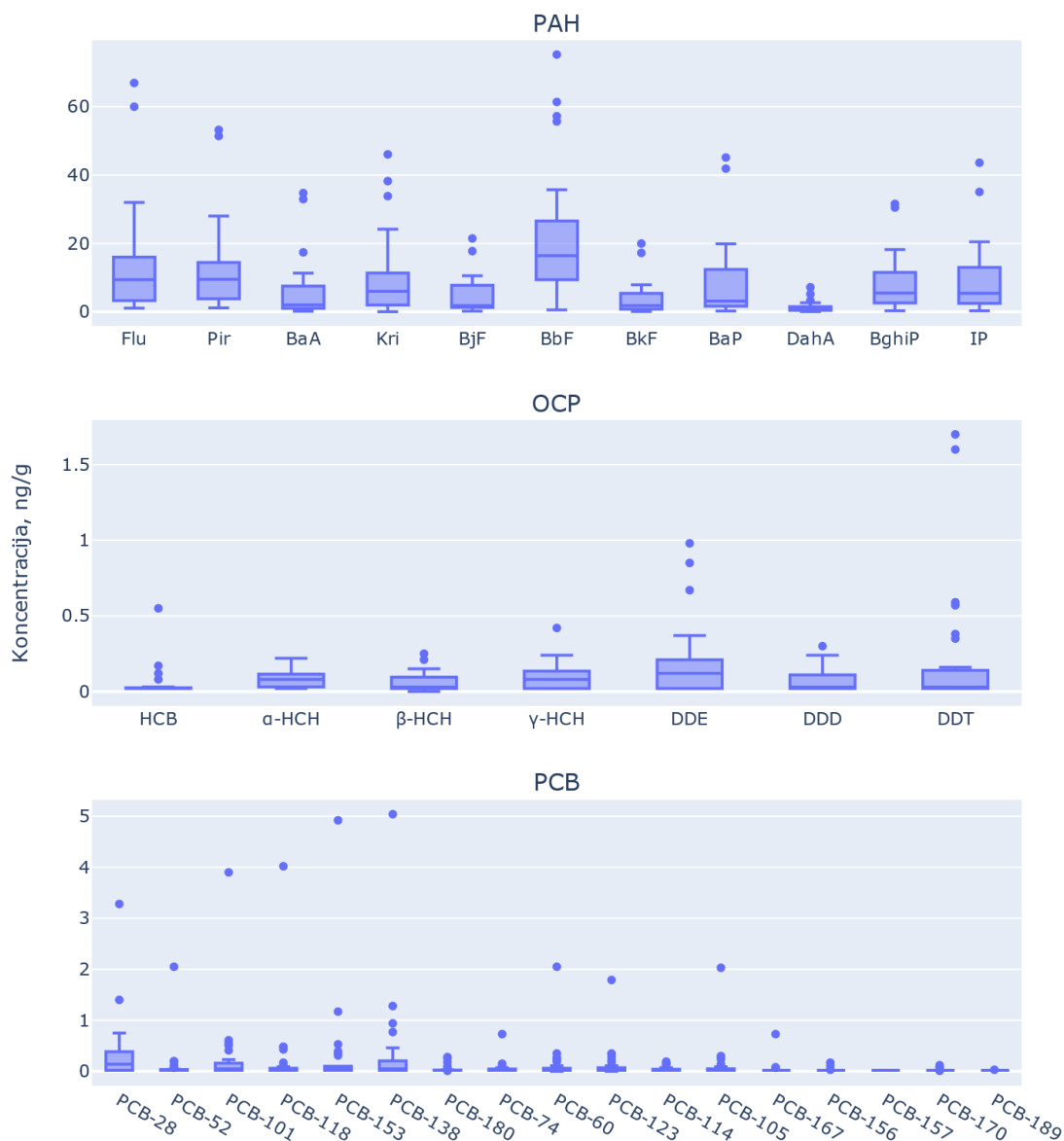
4. REZULTATI I RASPRAVA

Ovo poglavlje diplomskog rada usmjereno je na prezentaciju i analizu rezultata dobivenih korištenjem VEGA QSAR modela, kao i rezultate PBTC i TU metoda, s ciljem procjene toksičnosti, postojanosti i bioakumulacije spojeva. Rasprava je usmjerena na komparativnu analizu dobivenih rezultata s teorijskim konceptima i nalazima iz prethodnih istraživanja, naglašavajući doprinos i implikacije ovog rada.

4.1. Karakterizacija riječnih sedimenata

Razumijevanje značajnih koncentracija POPs-ova predstavlja ključan aspekt u procjeni njihovog potencijalnog utjecaja na okoliš i ljudsko zdravlje. Rezultati su predstavljeni slikom 13. i elektroničkim dodatkom E1¹⁵⁹ (koncentracije). Ovi rezultati pružaju detaljan uvid u prostornu distribuciju PCB-ova, OCP-ova i PAH-ova u Republici Hrvatskoj.

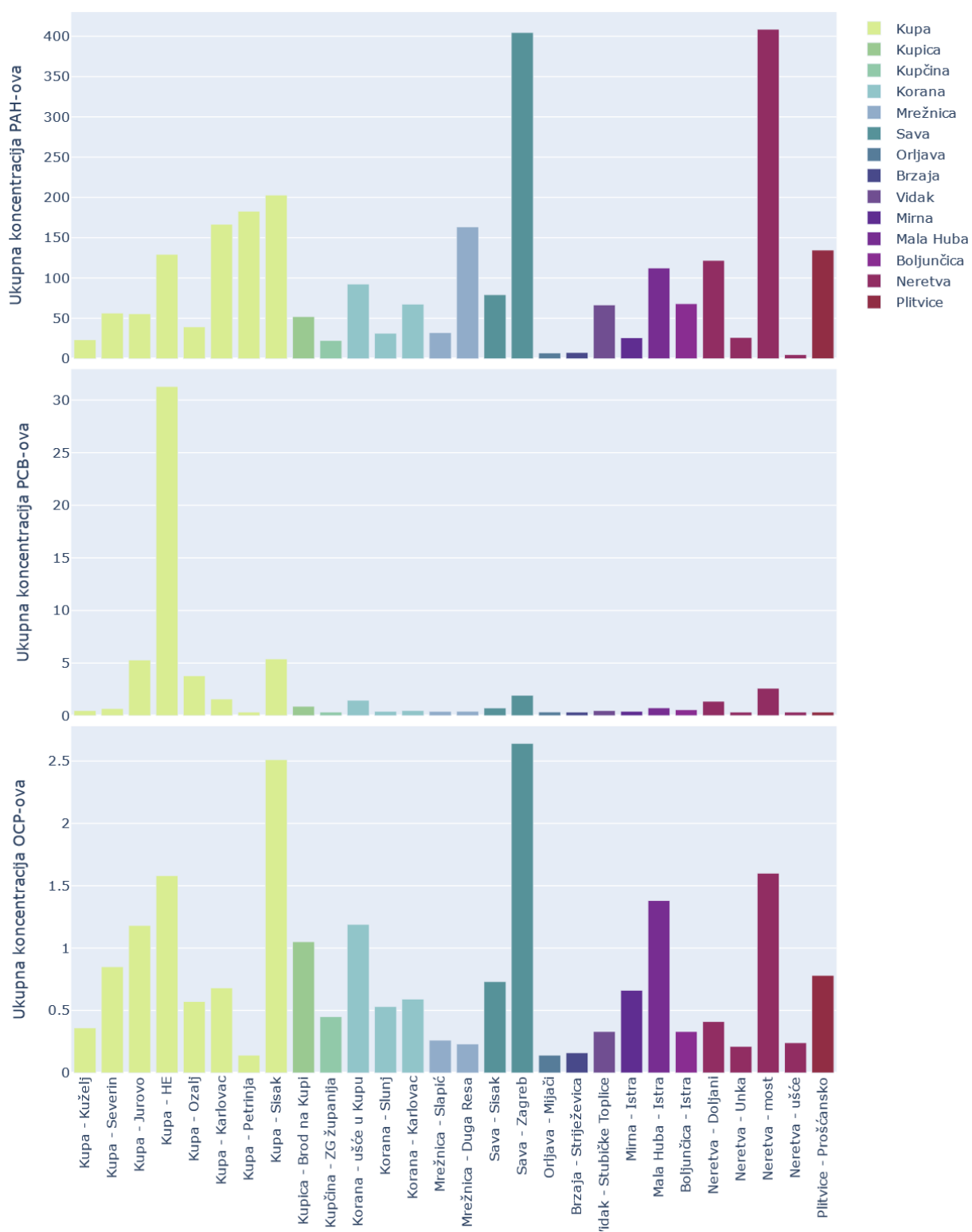
Slika 13. prikazuje distribuciju koncentracija PAH-ova, OCP-ova i PCB-ova po lokacijama. Ovaj vizualni prikaz omogućava uvid u raspon koncentracija, kao i uočavanje potencijalnih područja s višim razinama onečišćenja. Distribucije su prikazane kutijastim dijagramima (engl. *box-plot*) koji omogućavaju lakše uspoređivanje među lokacijama. Horizontalna os na svim grafovima označava specifične spojeve, dok vertikalna os prikazuje njihove koncentracije. Na gornjem grafu prikazane su koncentracije različitih PAH-ova. Svaka kutija predstavlja interkvartilni raspon (engl. *interquartile range*) koncentracija pojedinih PAH-ova, s linijom koja označava medijan. Točke iznad i ispod kutija predstavljaju izvanredne vrijednosti koje se ističu od tipičnog raspona. Koncentracije PAH-ova pokazuju znatno širi interkvartilni raspon u usporedbi s drugim spojevima, implicirajući na veću heterogenost u njihovim koncentracijama. Ovi grafovi omogućuju brzo uočavanje varijacija unutar i između spojeva, te identificiranje spojeva s ekstremno visokim ili niskim koncentracijama u usporedbi s ostalim spojevima.



Slika 13. Distribucije koncentracija PAH-ova, OCP-ova i PCB-ova

Visoke vrijednosti koncentracija PAH-ova identificirane su na lokacijama Neretva - most i Sava – Zagreb (slika 14.), s posebnim naglaskom na Flu, Pir, BaA, Kri, BjF, BbF, BkF, BaP, DahA, BghiP i IP. Visoke vrijednosti koncentracija OCP-a zabilježene su na više lokacija, s izraženim koncentracijama DDT-a i njegovih metabolita (DDE, DDD) na lokacijama kao što su Neretva – most i Kupa - Sisak. Također, zabilježene su i visoke koncentracije HCB-a i izomera α -HCH, β -HCH, γ -HCH na različitim lokacijama, uključujući Koranu - ušće u Kupu i Kupica – Brod na Kupu. Visoke koncentracije PCB-a posebno su izražene na lokacijama Kupa - Jurovo, Kupa – Sisak i Kupa - HE. Ovo uključuje različite kongenere PCB-ova, kao što su PCB-28, PCB-52, PCB-101, PCB-118, PCB-153, PCB-138, PCB-180, s najvišim

vrijednostima koncentracija zabilježenim za PCB-138 i PCB-153 na lokaciji Kupa - HE.



Slika 14. Ukupne koncentracije PAH-ova, PCB-ova i OCP-ova po lokacijama

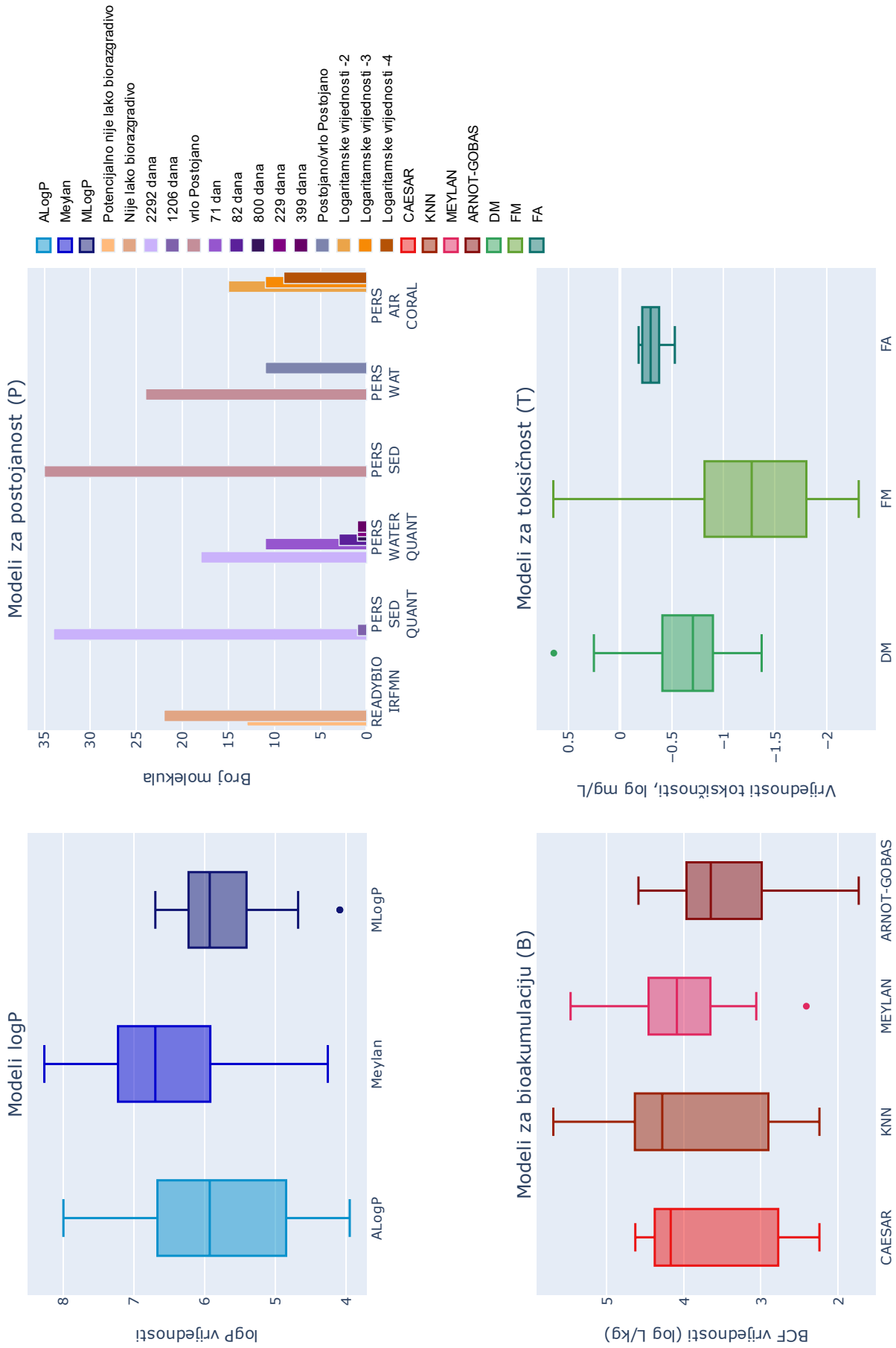
4.2. Procjena rizika

Procjena rizika ključan je aspekt modernog upravljanja okolišem i zdravstvene zaštite, pružajući stručnjacima metodologiju za identifikaciju, kvantifikaciju i upravljanje potencijalnim rizicima povezanim s kemikalijama i drugim onečišćujućim tvarima. Ovaj pristup je temelj ovog istraživačkog rada, usmjerenog na procjenu potencijalnih opasnosti koje spojevi kao što su PAH-ovi, OCP-ovi i PCB-ovi predstavljaju za ekosustave Hrvatske. Segment rada koji slijedi izlaže rezultate dobivene primjenom relevantnih metoda, s ciljem pružanja uvida u toksične, persistentne i bioakumulativne karakteristike istraživanih spojeva, čime se doprinosi širem kontekstu upravljanja rizicima i očuvanju okoliša.

4.2.1. VEGA QSAR modeli

Rezultati VEGA QSAR modela prikazani su za svaki od 16 odabranih modela u elektroničkom dodatku E2¹⁵⁹ (VEGA QSAR modeli) za procjenu postojanosti, bioakumulacije, toksičnosti i logP, omogućujući dublje uvide u specifične karakteristike i ponašanja analiziranih spojeva.

Na slici 15. sažeto su predstavljeni glavni rezultati svakog modela. Za izračun logP korištena su tri modela. Ovi modeli su pružili vitalne podatke potrebne za razumijevanje kako se spojevi distribuiraju između vodenih i organskih faza, što je važno za predviđanje njihovog ponašanja u okolišu. Za analizu postojanosti (P), primijenjeno je šest različitih modela. Ovi modeli su omogućili sveobuhvatno razumijevanje kako se spojevi razgrađuju i zadržavaju u različitim okolišnim medijima, što je ključno za procjenu rizika. Svaki model pruža jedinstven uvid u specifične aspekte postojanosti spojeva u vodi, sedimentu i zraku. U domeni bioakumulacije (B), četiri modela su korištena za procjenu sposobnosti akumulacije spojeva u biološkim sustavima. Ovi modeli su dali važne informacije o potencijalnoj tendenciji spojeva da se akumuliraju u živim organizmima, što je ključno za razumijevanje njihovih dugoročnih ekoloških utjecaja. Za toksičnost (T), korištena su tri modela za procjenu učinaka na vodene organizme. Rezultati ovih modela su ključni za procjenu akutne toksičnosti spojeva, omogućujući bolje razumijevanje potencijalnih rizika za različite vodene vrste. Ovime je osigurana transparentnost i pristupačnost podataka za daljnje analize.



Slika 15. Predviđanja 16 VEGA QSAR modela

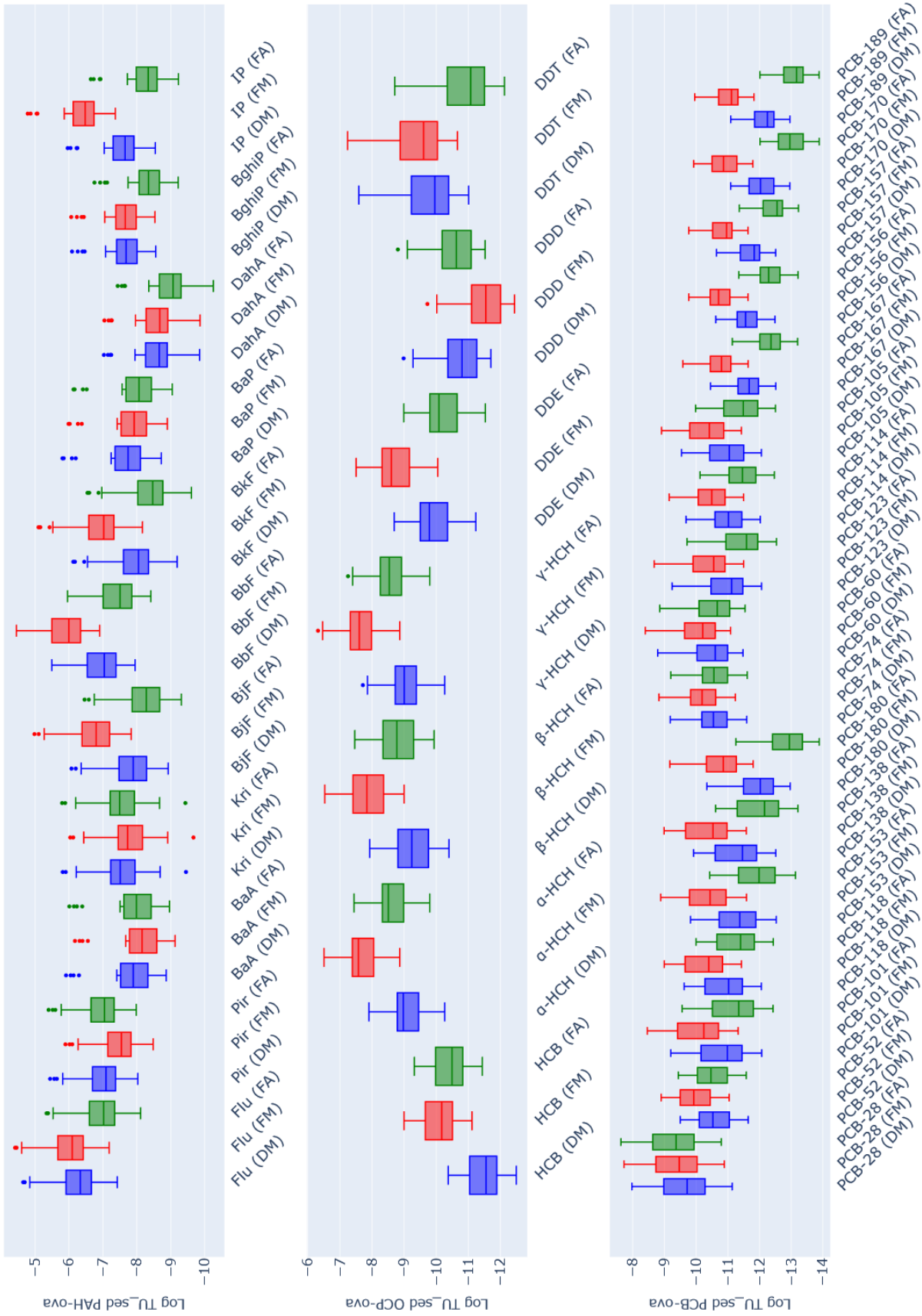
4.2.2. Prioritizacija uzoraka sedimenta: metoda TU

U procesu prioritizacije uzoraka sedimenta na temelju evaluacije toksičnosti, primijenjen je koncept toksičnih jedinica (TU). U elektroničkom dodatku E3¹⁵⁹ (metoda TU) prikazani su rezultati za pojedinačne modele toksičnosti te rezultati procijenjene prosječne toksičnosti TU_{site} za pojedninu lokaciju.

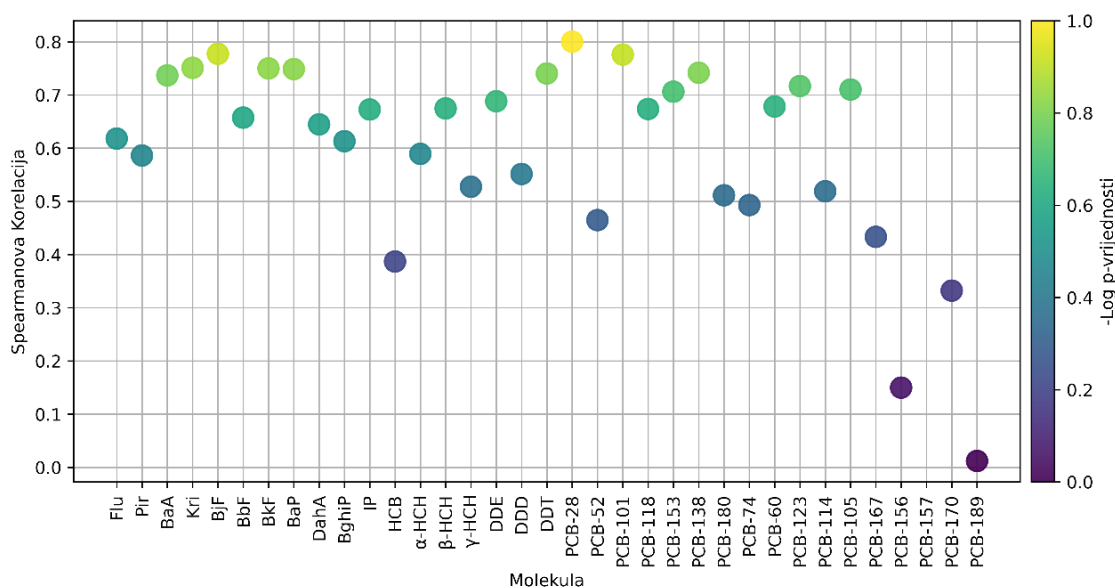
Slika 16. prikazuje seriju kutijastih dijagrama, svaki prikazujući logaritamske vrijednosti toksičnosti određenih spojeva izraženu kroz tri različita modela toksičnosti za TU_{sed} . Ovi dijagrami omogućuju vizualni prikaz distribucije toksičnih vrijednosti i ističu varijacije unutar i među grupama spojeva. Ovi nalazi imaju važne implikacije za ekotoksikološku procjenu i upravljanje rizicima.

PAH-ovi, prikazani na prvom grafu, imaju širok raspon toksičnosti, s pojedinim spojevima poput Flu, BbF i IP koji značajno premašuju medijan, što sugerira potencijalno veći rizik za okoliš na određenim lokacijama. Visoka varijabilnost toksičnosti kod nekih spojeva naglašava potrebu za detaljnijom analizom ovih PAH-ova. Većina OCP-a ima relativno nisku razinu toksičnosti. Međutim, izomeri HCH ističu se svojom visokom toksičnošću, što može zahtijevati posebnu pažnju. S obzirom na široko korištenje i dugotrajnost OCP-ova u okolišu, identifikacija visoke toksičnosti HCH izomera upućuje na potrebu za njihovim detaljnijim praćenjem i možda revizijom postojećih smjernica za ove spojeve. Također, većina PCB-a ima nisku toksičnost, ali PCB-28 se izdvaja s visokim razinama toksičnosti prema sva tri modela, što upućuje na potencijalne rizike povezane s tim spojem. Raspršenost točaka za neke PCB-ove ukazuje na varijabilnost u toksičnosti koja bi mogla biti povezana s različitim kongenerima ili uvjetima izloženosti.

Slika 17. ilustrira korelaciju između koncentracija različitih molekula i procijenjene toksičnosti TU_{sed} . Molekule su prikazane na apscisi, dok ordinata pokazuje vrijednost Spearmanovog koeficijenta korelacije između toksičnosti i koncentracije za svaku molekulu. Boje točaka odražavaju negativni logaritam vrijednosti p , gdje više vrijednosti indiciraju statistički značajniju korelaciju. Vrijednost p služi kao indikator slučajnosti ili statističke značajnosti promatrane korelacije između dviju varijabli.



Slika 16. Distribucije TU_{sed} PAH-ova, OCP-ova i PCB-ova za modele Daphnia Magna (DM), Fathead Minnow (FM) i Fish Acute (FA)



Slika 17. Korelacija toksičnosti i koncentracija

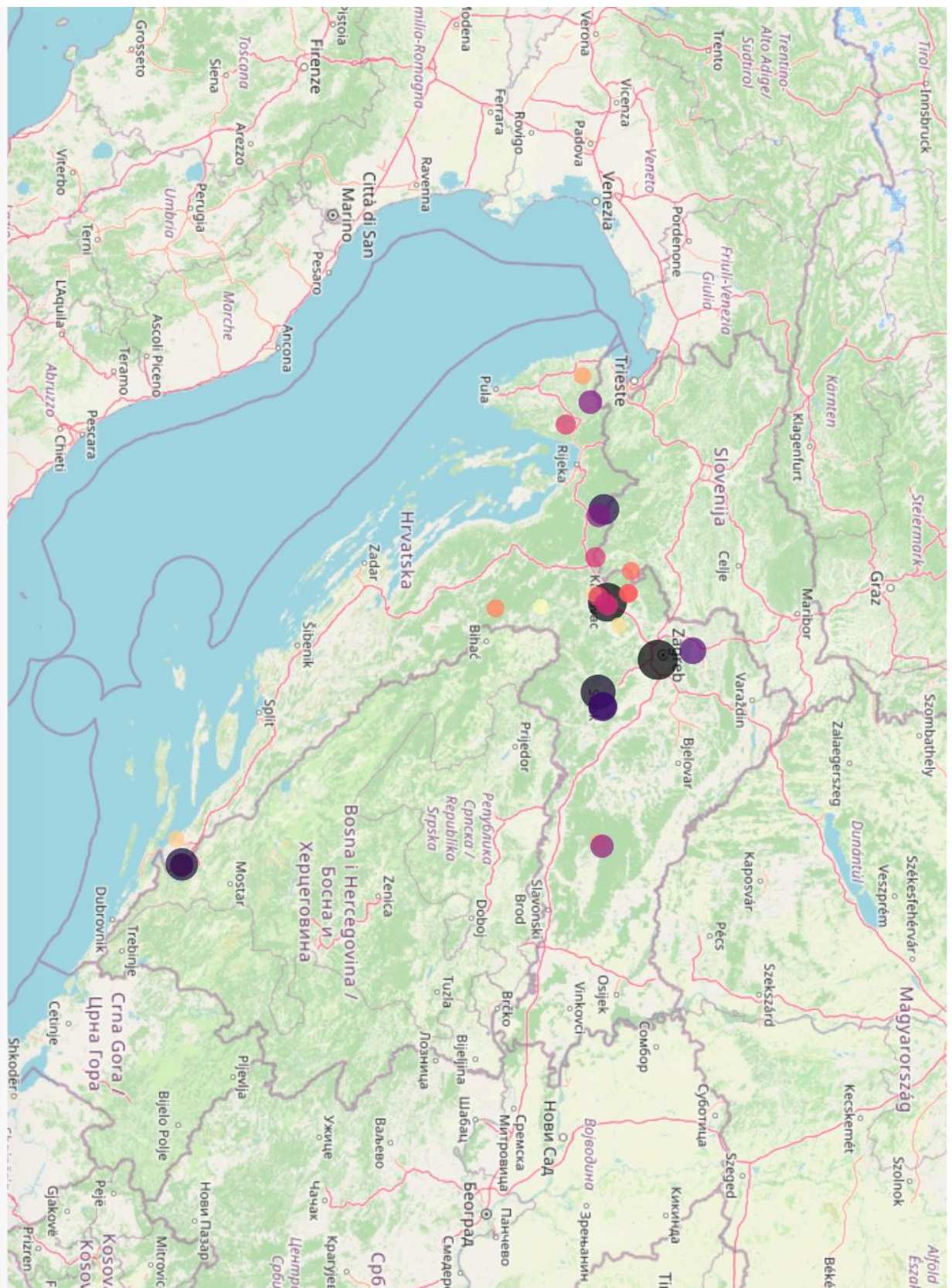
Molekula PCB-28 ističe se najvišom Spearmanovom korelacijom (0,80) s vrlo niskom p -vrijednošću ($3,22 \cdot 10^{-7}$), što ukazuje na izrazito jaku i statistički značajnu korelaciju između toksičnosti i koncentracije. Također, molekule BjF, BaP, Kri, i BkF pokazuju visoke korelacijske vrijednosti (iznad 0,74) sa vrlo niskim p -vrijednostima ($< 10^{-6}$), što ih također čini statistički vrlo značajnima. Na nižem kraju spektra, molekula PCB-156 ima znatno nižu korelaciju (0,15) i vrlo visoku p -vrijednost (0,45), što ukazuje na to da nema značajnu korelaciju između toksičnosti i koncentracije. PCB-189 ima najnižu korelaciju (0,012) s vrlo visokom p -vrijednošću (0,95), što sugerira da je korelacija izuzetno slaba i statistički neznačajna.

Većina molekula pokazuje značajnu korelaciju između toksičnosti i koncentracije, pri čemu je velika većina njih statistički izrazito značajna s p -vrijednostima manjima od 1% praga značajnosti ($p < 0.01$). To uključuje molekule kao što su Flu, Pir, BaA, Kri, BjF, BbF, BkF, BaP, DahA, BghiP, IP, α -HCH, β -HCH, γ -HCH, DDE, DDD, DDT, PCB-28, PCB-101, PCB-118, PCB-153, PCB-138, PCB-60, PCB-123, PCB-114 i PCB-105. Ove molekule demonstriraju izrazito snažnu korelaciju, sugerirajući visoku statističku značajnost veze između toksičnosti i koncentracije. S druge strane, molekule HCB, PCB-52, PCB-180 i PCB-74 pokazuju statističku značajnost unutar 5% praga značajnosti ($p < 0.05$), s p -vrijednostima koje ukazuju na značajnu, ali manje izraženu korelaciju u usporedbi s prethodno navedenim skupinama. Ovo ih stavlja u kategoriju molekula čija je veza između toksičnosti i koncentracije statistički potvrđena, ali s nešto manjom stupnjem

sigurnosti. Međutim, molekule PCB-167, PCB-156, PCB-170 i PCB-189 ne pokazuju statistički značajnu korelaciju, s p -vrijednostima većim od 5% praga ($p > 0.05$). To ukazuje na to da za te molekule nije pronađena značajna veza između toksičnosti i koncentracije unutar standardno prihvaćenih okvira statističke značajnosti.

Visoka Spearmanova korelacija sugerira da s povećanjem koncentracije raste i toksičnost molekula, što implicira snažan odnos, ali to nije nužno uzročno-posljedični odnos. Očekivano je da će veće koncentracije biti povezane s većom toksičnošću, jer veće količine toksičnih supstanci obično imaju snažniji toksični učinak na biološke sustave. Međutim, točna priroda ovog odnosa može ovisiti o mnogim faktorima, uključujući vrstu toksina, način na koji se toksin raspodjeljuje u okolišu ili organizmu, i specifične mehanizme djelovanja toksina. Na primjer, neke supstance mogu imati nelinearan odnos između koncentracije i toksičnosti, s pragovima ispod kojih nema značajnog toksičnog učinka, ili s platoima iznad kojih se toksični učinci ne povećavaju značajno. Za razumijevanje stvarnog biološkog ili ekološkog učinka potrebno je dublje proučavanje specifičnih svojstava i djelovanja svake pojedine supstance.¹⁶⁰

Na slici 18. prikazana je karta Hrvatske s prostornim rezultatima toksičnosti uslijed prisutnosti PCB-ova, OCP-ova i PAH-ova na mjerenim lokacijama. Svaka točka na karti obojena je u skladu s prosječnim rangom te lokacije prema ukupnoj toksičnosti, izraženoj kroz TU_{site} na toj lokaciji, prema boji koja je prikazana u legendi na desnoj strani. Niži rang na skali, koji je prikazan tamnijim nijansama ljubičaste i plave boje, predstavlja mjesta s većim rizikom, dok viši rang, prikazan svjetlijim nijansama narančaste i žute, predstavlja manje rizične lokacije. Na karti se može primijetiti da su lokacije s najvećim rizikom, prema prosječnom rangom toksičnosti TU_{site} , koncentrirane uz tokove rijeka Kupe, Save i Neretve. Primjerice, Sava – Zagreb pokazuje najniži prosječni rang toksičnosti, što ukazuje na najveći rizik. Slično tome, urbanom centru Karlovca na Kupi također je dodijeljen nizak rang. Ostale lokacije na Kupi kao što su Petrinja i Sisak također pokazuju relativno visoku toksičnost. Nasuprot tome, obalna područja i otoci, kao što su oni u Istri, te lokacije duž Neretve, izuzev lokacije most, imaju tendenciju prikazivanja manjeg ekološkog rizika. Detaljan rang ukupne toksičnosti po lokacijama dan je tablicom 7.



Slika 18. Procijenjene toksičnosti zbog prisutstva PCB-ova, OCP-ova i PAH-ova na području Republike Hrvatske

Tablica 7. Prosječni rang toksičnosti TU_{site} za svaku lokaciju

RIJEKA	LOKACIJA	TU_{site} prosječni rang
Sava	Zagreb	1.3
Kupa	Karlovac	1.7
Kupa	Petrinja	3.0
Neretva	most	4.0
Kupa	Kuželj	5.0
Sava	Sisak	6.0
Kupa	Sisak	7.3
Vidak	Stubičke Toplice	7.7
Kupica	Brod na Kupu	10.7
Mala Huba	Istra	10.7
Neretva	Unka	11.0
Brzaja	Striježevica	11.3
Neretva	Doljani	12.0
Korana	Karlovac	14.7
Kupa	Severin	15.7
Boljunčica	Istra	16.0
Korana	ušće u Kupu	16.7
Mrežnica	Duga Resa	17.3
Kupa	Ozalj	18.3
Kupa	Jurovo	20.0
Plitvice	Prošćansko	21.0
Kupa	HE	22.0
Mirna	Istra	22.7
Orljava	Mijači	24.0
Neretva	ušće	25.3
Kupčina	ZG županija	26.3
Mrežnica	Slapić	26.3
Korana	Slunj	28.0

Usporedba različitih skala toksičnosti između PAH-ova, OCP-ova i PCB-ova ukazuje na to da PAH-ovi predstavljaju najveću toksičnu prijetnju u ovom istraživanju zbog viših koncentracija. Budući da su OCP-ovi i PCB-ovi poznati po svojoj postojanosti i sklonosti bioakumulaciji, njihova toksičnost, čak i na niskim razinama, ne smije se zanemariti u kontekstu dugoročne ekološke sigurnosti. Ovi podaci ističu važnost integriranog pristupa u ekotoksikološkoj evaluaciji koja uključuje analizu različitih klasa spojeva i njihovih specifičnih rizika, kao i potrebu za razvojem ciljanih strategija za praćenje i redukciju onečišćenja.

Dva izdvojena primjera, Neretva s povišenim vrijednostima PAH-ova i Kupa s varijabilnim koncentracijama PCB-ova, demonstriraju kompleksnost ekoloških utjecaja i dinamiku toksičnosti u slatkovodnim sustavima. Slike 19. i 20. prikazuju promjene koncentracija i toksičnosti promatranih onečišćujućih tvari posebno duž dvije rijeke – Neretva i Kupa - redosljedom od izvora prema ušću.

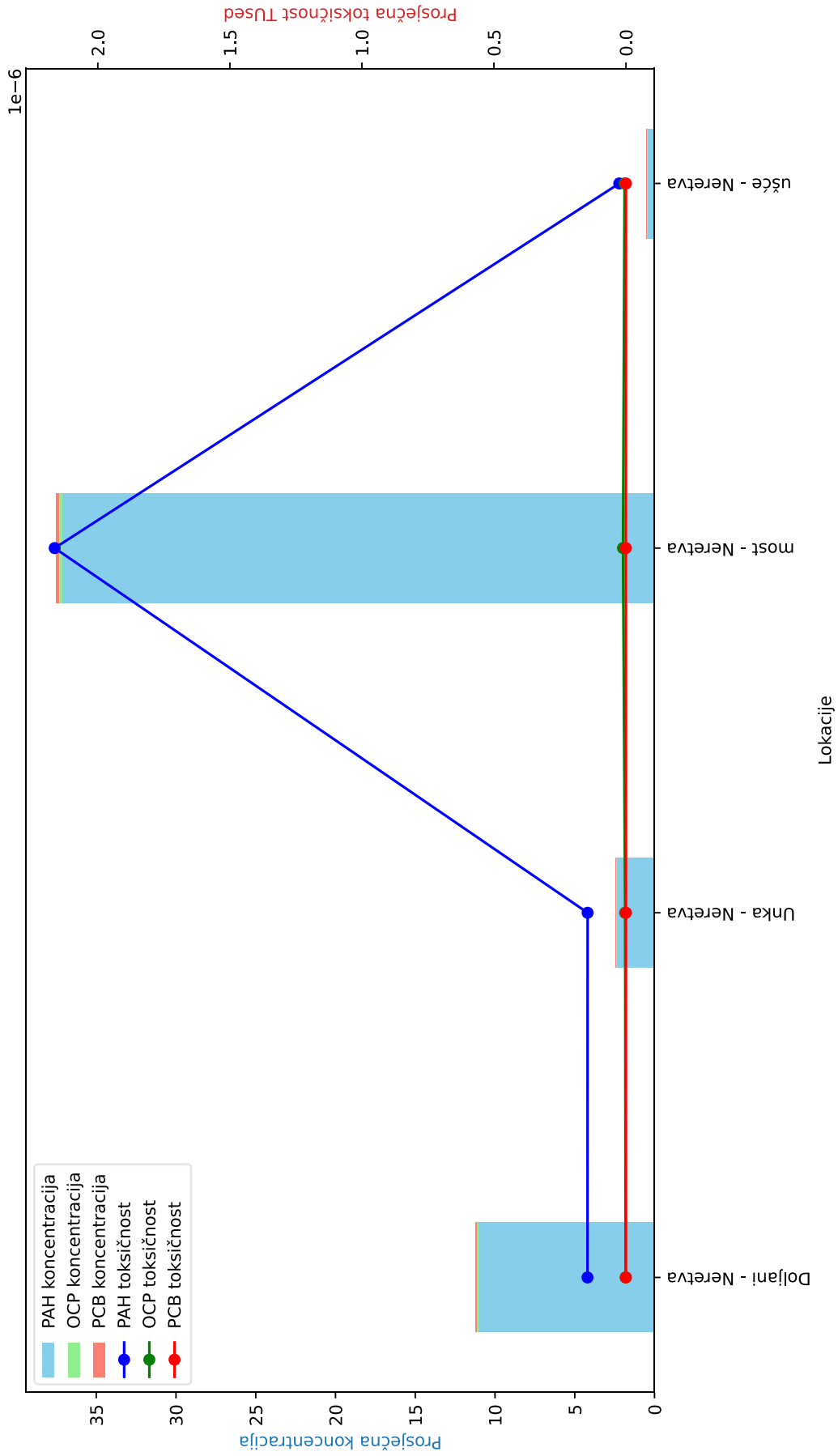
Za rijeku Neretvu, slika 19. pokazuje značajan vrhunac u koncentraciji i toksičnosti PAH-ova na lokaciji Neretva - most, što može ukazivati na značajan izvor onečišćenja PAH-ovima u tom području, zbog povećanog prometa i izgaranja goriva. Koncentracije OCP-ova i PCB-ova također su na ovoj lokaciji više nego na ostalima.

Na slici 20., za rijeku Kupu, primjetno je da postoje oscilacije u koncentracijama i toksičnosti, s nekoliko vrhunaca toksičnosti PAH-ova (na lokacijama Karlovac i Petrinja) koji se ne podudaraju uvijek s vrhuncima koncentracije. Vrhunac toksičnosti bez odgovarajućeg vrhunca koncentracije može ukazivati na prisutnost posebno toksičnih spojeva ili na složene interakcije između različitih spojeva koje rezultiraju većom toksičnošću. Lokacija u neposrednoj blizini hidroelektrane ističe se visokim koncentracijama PCB-ova, što ukazuje na potencijalnu ekološku zabrinutost.

Na slici 21. prikazan je odnos između TOC-a i koncentracija promatranih tvari na istraživanim lokacijama. Svaka točka na grafu predstavlja pojedinu lokaciju, označenu jedinstvenom bojom i simbolom kako je prikazano u legendi. Lokacije koje se izdvajaju visokim vrijednostima TOC-a za sve promatrane onečišćujuće tvari su Korana - Slunj, Kupa - HE, Mrežnica - Duga Resa i Prošćansko jezero na Plitvičkim jezerima.

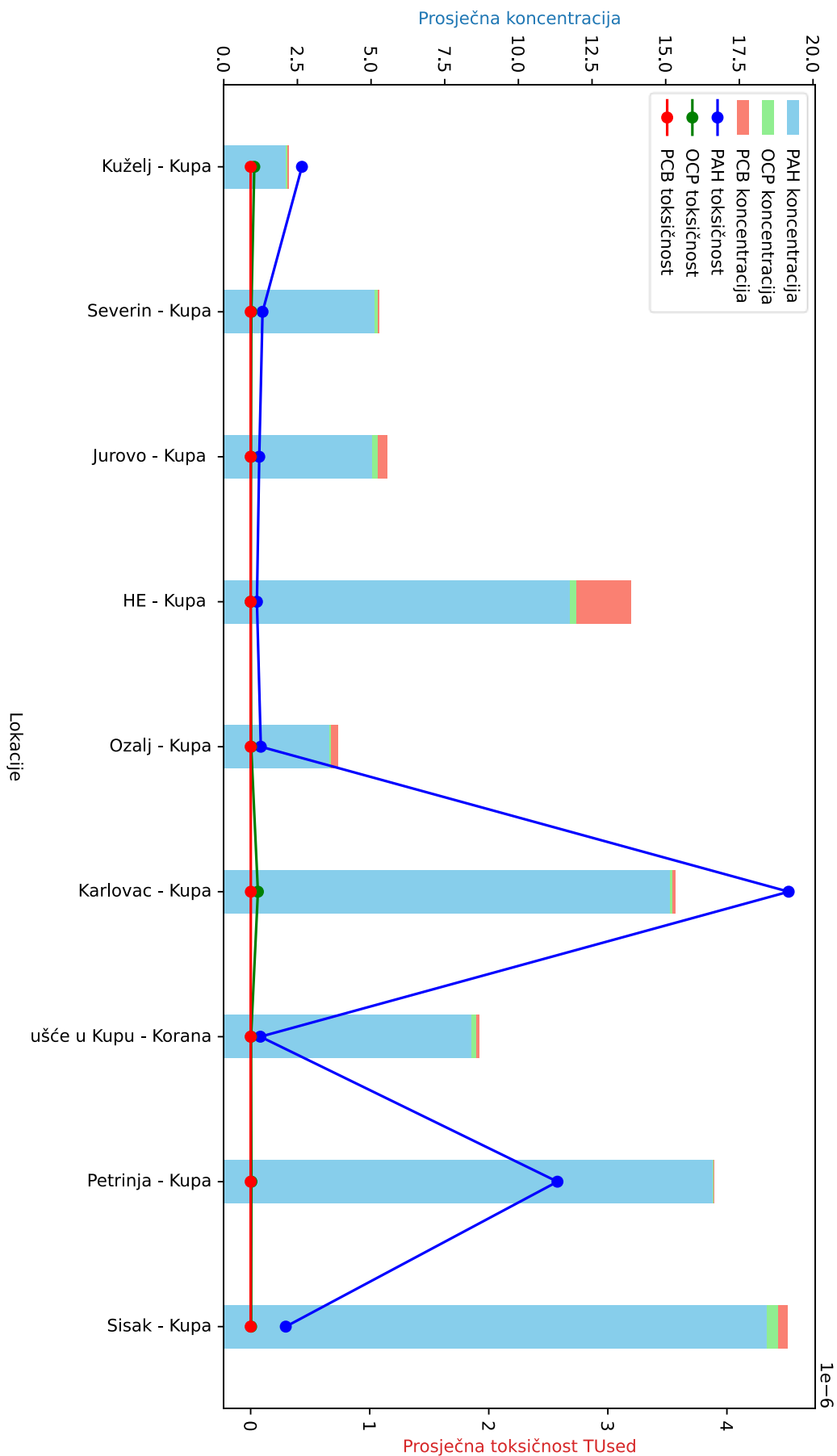
Lokacija HE na rijeci Kupi odlikuje se visokom akumulacijom PCB-ova i OCP-ova, što se može pripisati značajnoj prisutnosti organske tvari u sedimentu, evidentiranoj kroz povećani udio TOC-a. Ovaj fenomen sugerira da organska tvar u sedimentu služi kao agens za adsorpciju i koncentraciju lipofilnih spojeva kao što su PCB-ovi i OCP-ovi, čime se potencira njihovo zadržavanje u okolišu.

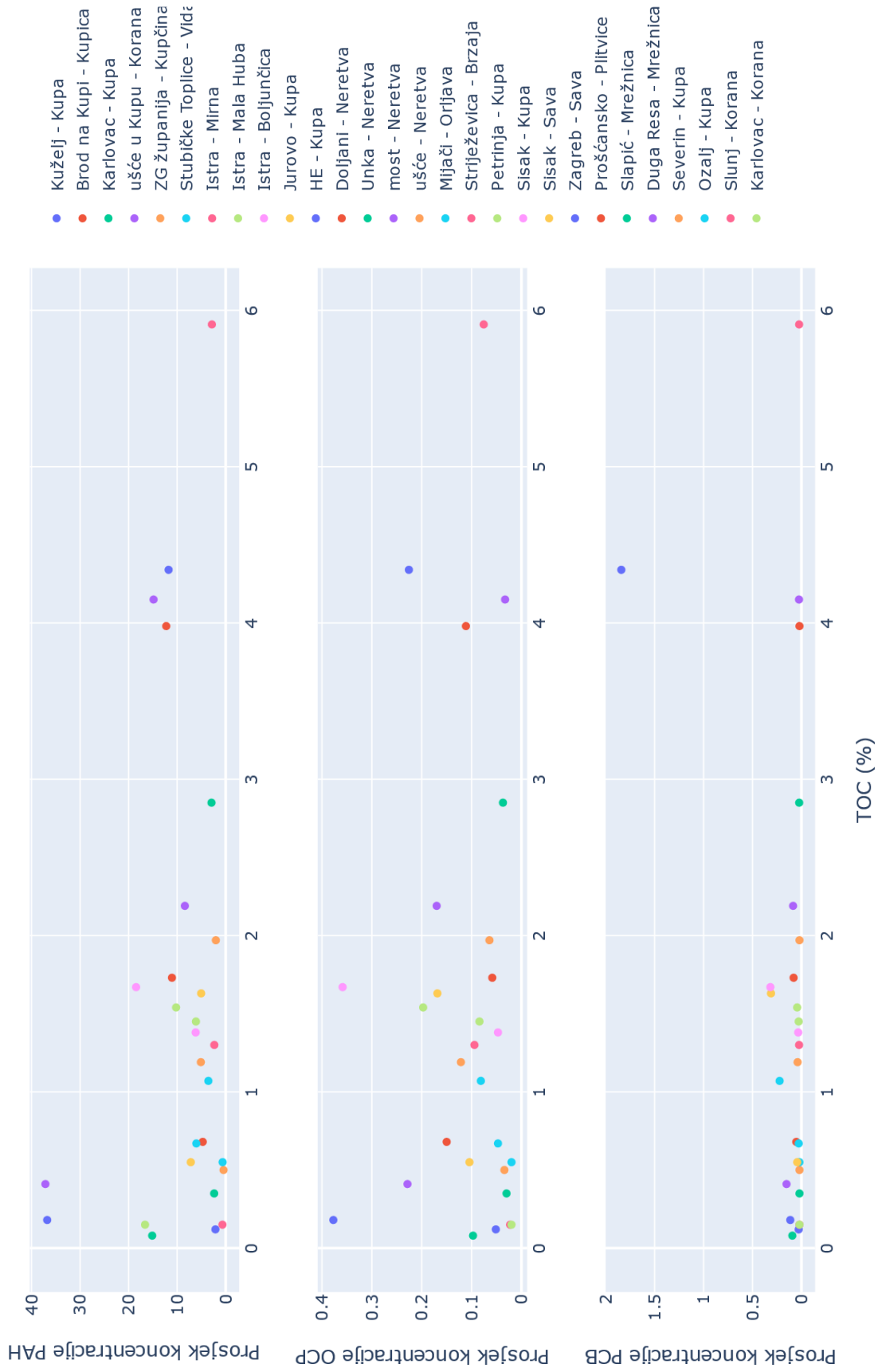
Iako pojedinačna mjerenja TOC-a ne pružaju sveobuhvatni uvid, ona ipak ukazuju na važnost organske tvari kao ključnog faktora u dinamici akumulacije onečišćujućih spojeva. Ovi preliminarni podaci mogu biti korisni za utvrđivanje prioriteta u daljnjim istraživanjima, monitoringu i sanacijskim aktivnostima, s naglaskom na važnost TOC-a u razumijevanju distribucije onečišćujućih tvari u vodenim ekosustavima.



Slika 19. Prikaz koncentracijskih i toksičnih profila za PAH-ove, OCP-ove i PCB-ove duž toka rijeke Neretve

Slika 20. Prikaz koncentracijskih i toksičnih profila za PAH-ove, OCP-ove i PCB-ove duž toka rijeke Kupe





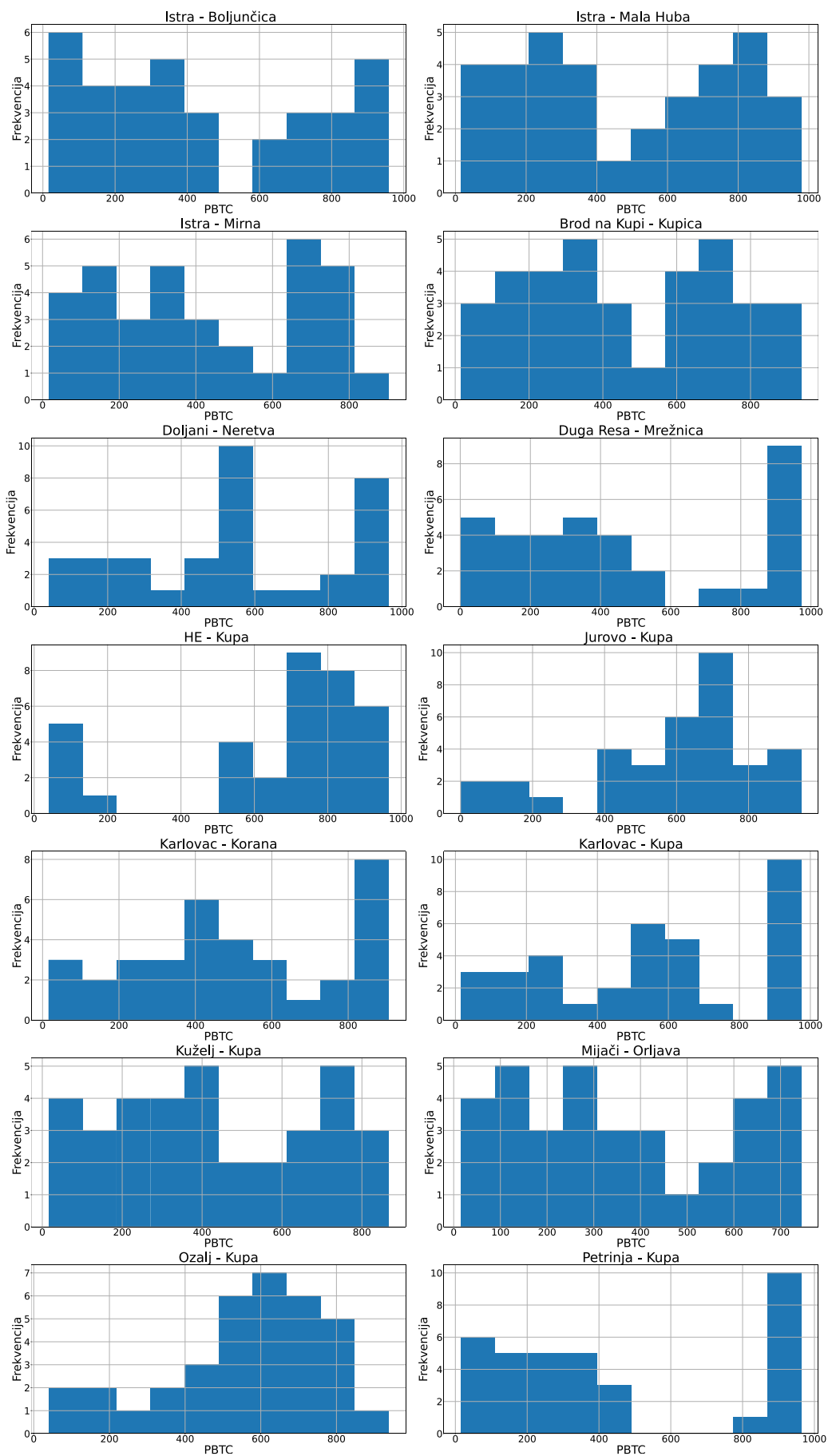
Slika 21. Prosječne koncentracije PAH-ova, OCP-ova i PCB-ova u odnosu na udio organske tvari u sedimentu na istraživanim lokacijama

4.2.3. Prioritizacija uzoraka sedimenta: metoda PBTC

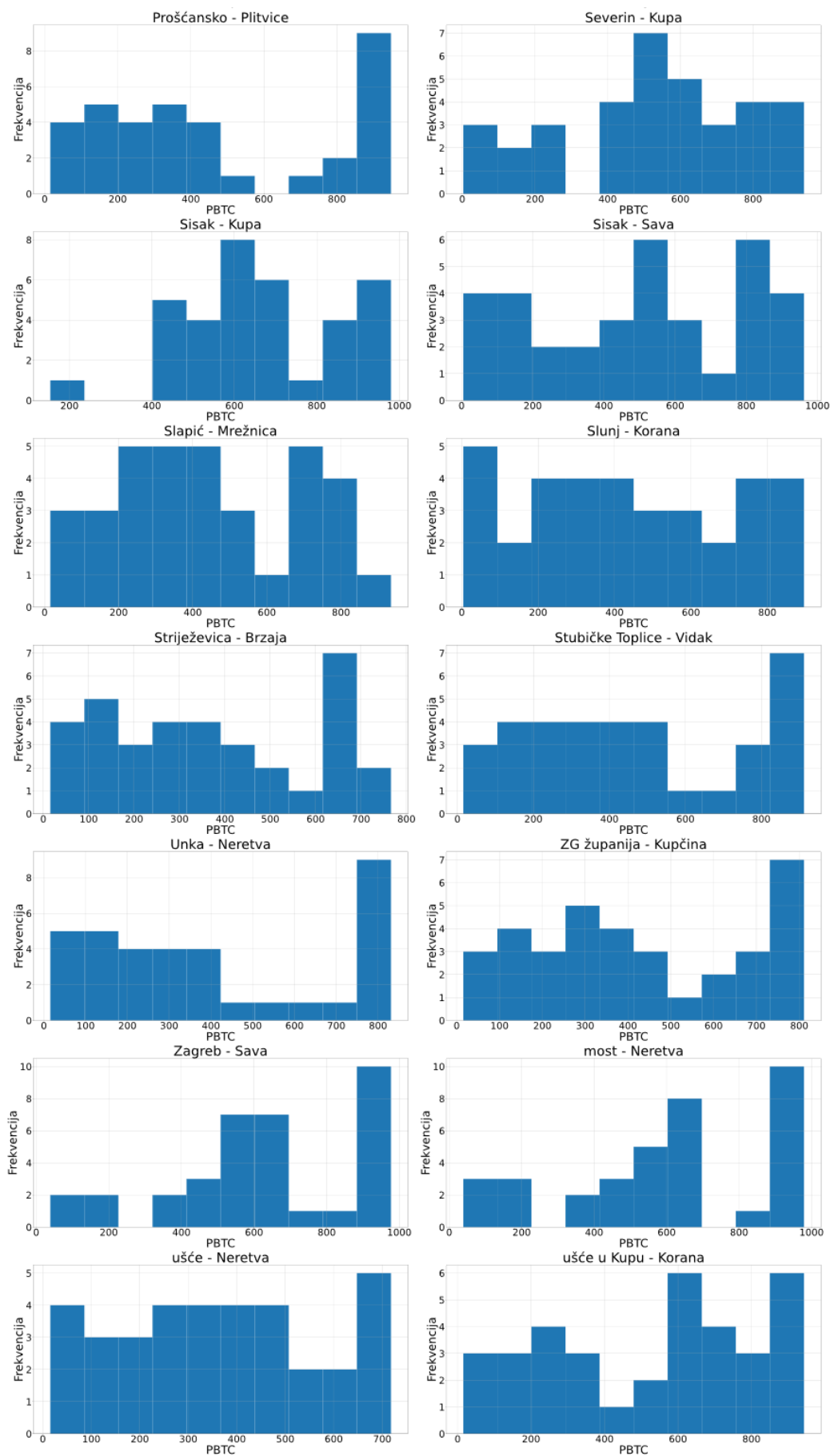
U okviru postupka prioritizacije uzoraka sedimenta prema procijenjenoj toksičnosti, korištena je metoda PBTC, koja integrira četiri kritična svojstva onečišćujućih tvari: postojanost (P), bioakumulaciju (B), toksičnost (T) i koncentraciju (C). U elektroničkom dodatku E4¹⁵⁹ (metoda PBTC) prikazani su pojedinačni rezultati za P, B i T te PBTC ocjena.

Slika 22. prikazuje histogram distribucija PBTC ocjena koje su dobivene rangiranjem P, B, T i C za svaku promatranu lokaciju. Svaki histogram specifično prikazuje učestalost pojedinih PBTC ocjena za promatrane spojeve na svakoj lokaciji. Horizontalna os svakog histograma kvantificira raspon PBTC ocjena, dok vertikalna os ukazuje na frekvenciju pojave molekula unutar tih raspona. Histogrami su organizirani u matricu, omogućavajući komparativnu analizu različitih skupova podataka.

Analizom distribucije PBTC ocjena, uočava se da prevladava umjerena postojanost, bioakumulacija, toksičnost i koncentracija kod većine promatranih spojeva, što odražava generalno srednje razine ekološkog rizika na većini lokacija. Ipak, neke lokacije posebno se ističu visokim PBTC vrijednostima, sugerirajući povećanu razinu ekološke opasnosti. To je posebno izraženo u slučaju lokacija Neretva - most, Sava - Zagreb te Kupa - Karlovac, koje demonstriraju visoke vrijednosti i indikaciju prisutnosti spojeva s potencijalno značajnim ekološkim rizikom. Pored PBTC metode, ove lokacije izdvajaju se i metodom TU, pružajući dodatnu potvrdu o potrebi za povećanim nadzorom i evaluacijom potencijalnih ekoloških utjecaja.

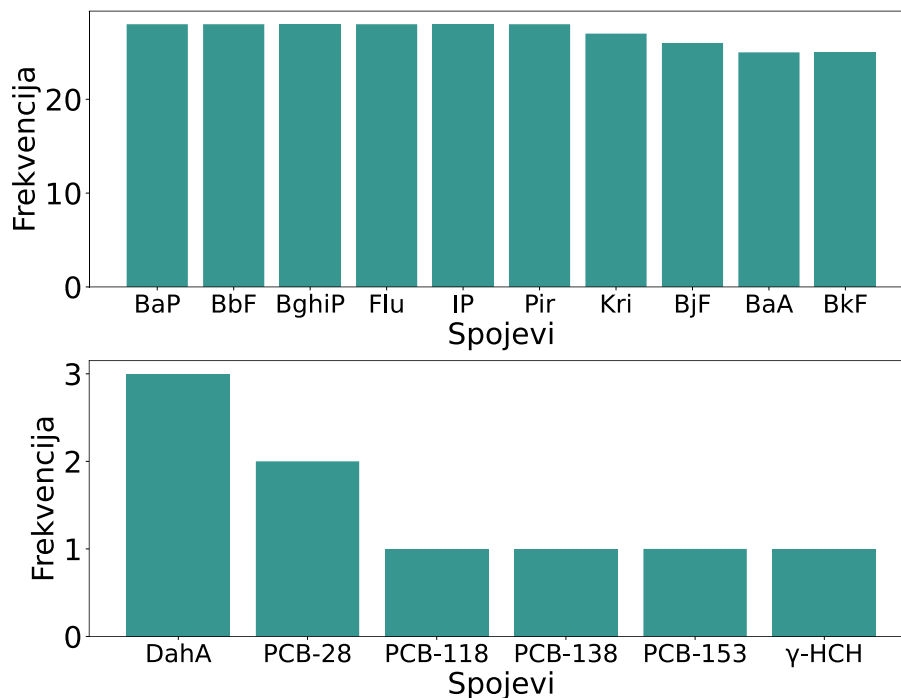


Slika 22. Histogram distribucija PBTC ocjena



Slika 22. Histogram distribucija PBTC ocjena (nastavak)

Slika 23. prikazuje spojeve rangirane među prvih deset s najvećim rizikom prema PBTC ocjeni, uz njihovu frekvenciju pojavljivanja na različitim lokacijama. Među njima, PAH-ovi kao što su BaP, BbF, BghiP, Flu, IP i Pir ističu se time što su konzistentno prisutni među deset spojeva s najvećim rizikom na svim lokacijama.



Slika 23. Učestalost pojavljivanja prvih 10 molekula na promatranim lokacijama

4.2.4. Redukcija dimenzionalnosti i grupiranje podataka

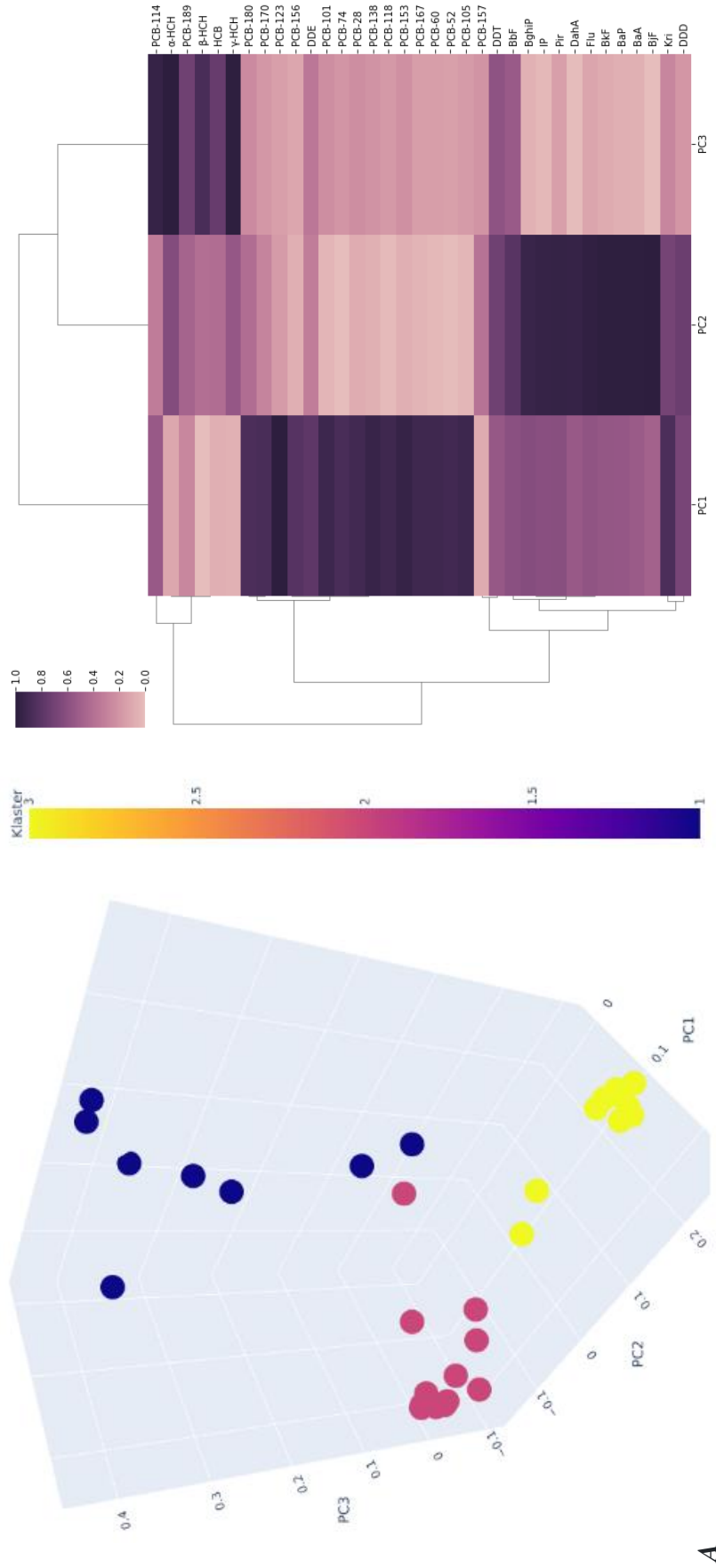
Na slici 24. A prikazana je distribucija podataka o koncentracijama PCB-ova, OCP-ova i PAH-ova u sedimentu. Točke su obojene prema njihovoj pripadnosti određenom klasteru, što je prikazano u bojama na skali s desne strane, gdje klasteri ukazuju na slične koncentracijske profile. PC1, PC2, i PC3 predstavljaju tri glavne komponente koje zajedno objašnjavaju većinu varijance u skupu podataka o koncentraciji onečišćujućih tvari. PC1 predstavlja najveći dio varijance, dok PC2 i PC3 predstavljaju dodatne, manje varijacije.

Visoki pozitivni učinci većine PCB spojeva na PC1 mogu ukazivati na to da ovi spojevi dijele zajednički izvor ili slične puteve izlaganja u okolišu. To bi moglo biti rezultat industrijskih aktivnosti, nepravilnog odlaganja otpada ili drugih antropogenih aktivnosti koje emitiraju PCB-ove. Pozitivni učinci PAH spojeva na PC2 sugeriraju da ovaj set spojeva može imati drugačiji izvor u odnosu na PCB-ove. Mogući izvori PAH-ova uključuju nepotpuno sagorijevanje organskog materijala, kao što su izgaranje fosilnih goriva, prometna emisija, industrijska proizvodnja ili prirodni požari. Značajni učinci određenih PCB-ova i OCP-ova na PC3 mogu ukazivati na to

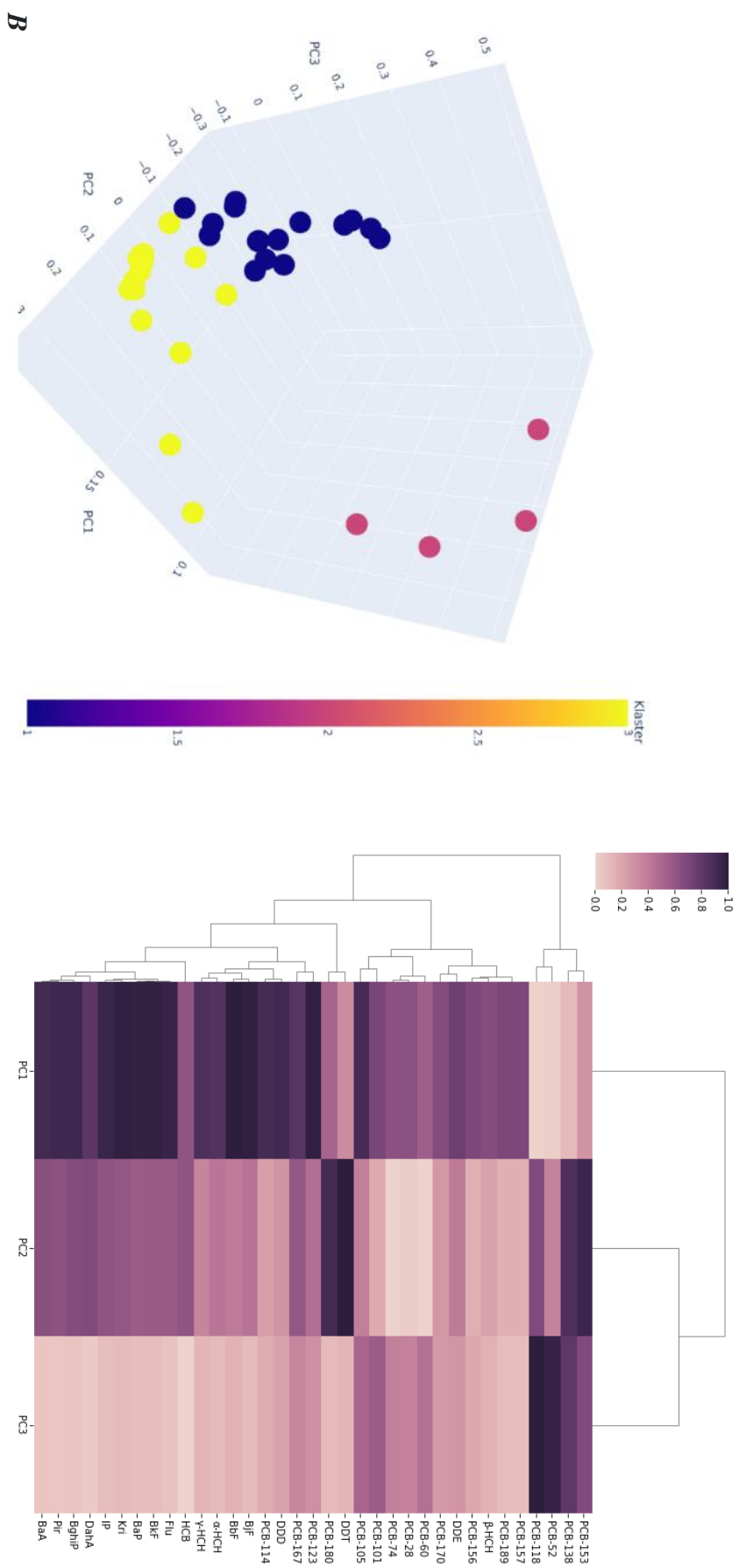
da ovi spojevi imaju jedinstvene karakteristike ili izvore koje ih razlikuju od ostalih spojeva unutar iste kategorije. Na primjer, visoki učinci α -HCH i γ -HCH na PC3 mogu odražavati specifične upotrebe ili povijest upotrebe ovih pesticida.

Klasteri koji su se formirali mogu pomoći u identificiranju grupa spojeva koji imaju slične profile i možda dijele zajedničke izvore onečišćenja. Na primjer, spojevi u Klasteru 1 su uglavnom PCB-ovi, što ukazuje na potencijalno slične izvore i puteve emisije. PAH su uglavnom grupirani u Klaster 2, osim BbF-a koji je u Klasteru 3, što može ukazivati na to da BbF ima drugačije ponašanje ili izvor u odnosu na ostale PAH-ove. OCP spojevi su raspršeni kroz sva tri klastera, ali posebno izraženo u Klasteru 3, što može ukazivati na različite puteve izlaganja ili razgradnje u okolišu. Izolirani spojevi poput PCB-114 i PCB-189, koji se izdvajaju u PC3, mogu imati jedinstvena svojstva ili izvore koji zahtijevaju posebnu pažnju. Ovo može biti pokazatelj da ovi spojevi potječu iz specifičnih, možda lokaliziranih izvora, koji se razlikuju od onih koji su odgovorni za većinu ostalih PCB-ova. Vrijednosti blizu nule za PCB-157 ukazuju na to da ovaj spoj ne doprinosi značajno varijanci koja je uhvaćena niti u jednoj od prvih triju komponenata jer je koncentracija ovog spoja u uzorcima konstantna te ne varira kao kod drugih spojeva.

Slika 24. B fokusira se na toksičnost spojeva, gdje graf prikazuje kako se uzorci razlikuju s obzirom na njihovu toksičnost. Klasteri ovdje predstavljaju različite razine toksičnosti, gdje svaka boja ukazuje na različite toksikološke profile. Grupiranje u PCA analizi toksičnosti može ukazivati na sličnost u načinu na koji te tvari utječu na organizme ili ekosustave. Na primjer, tvari koje djeluju na slične biološke puteve ili imaju slične mehanizme toksičnosti mogu imati slične učinke na PCA. Također, PCA može pomoći u razlikovanju tvari koje predstavljaju veći rizik od onih koje su manje toksične. Tvari koje imaju visoke učinke na glavnoj komponenti koja objašnjava veliki dio varijabilnosti toksičnosti mogu biti od posebnog interesa za daljnje ispitivanje i regulaciju. Upravljanje rizicima može se usmjeriti na one tvari koje se ističu u PCA analizi toksičnosti, jer su one možda najznačajnije s obzirom na potencijalne štetne učinke. Važno je napomenuti da PCA i klaster analiza pružaju samo indikacije koje treba potkrijepiti dodatnim istraživanjima i eksperimentima. Toksičnost može biti utjecana mnogim faktorima, uključujući dozu, put izlaganja, trajanje izlaganja i specifične učinke na različite vrste ili unutar različitih ekosustava. Interpretacija PCA rezultata trebala bi uvijek uzeti u obzir ove složenosti.



Slika 24. Rezultati PCA i HCA za koncentracije (A) i toksičnost (B)



SIKKA 24. Rezultati PCA i HCA za koncentracije (A) i toksičnost (B) (nastavak)

U tablici 8. detaljno su prikazane glavne komponente PCA analize za koncentracije i toksičnost. Ukupno, rezultati PCA analize pružaju uvid u potencijalne izvore i puteve kojima onečišćujuće tvari ulaze u okoliš. Razumijevanje ovih uzoraka je ključno za razvijanje strategija za smanjenje onečišćenja. Također, ovi rezultati mogu biti korisni za daljnje istraživanje koje bi moglo uključivati detaljne studije izvora emisije i njihove pridonose koncentracijama onečišćujućih tvari u različitim okolišnim matriksima.

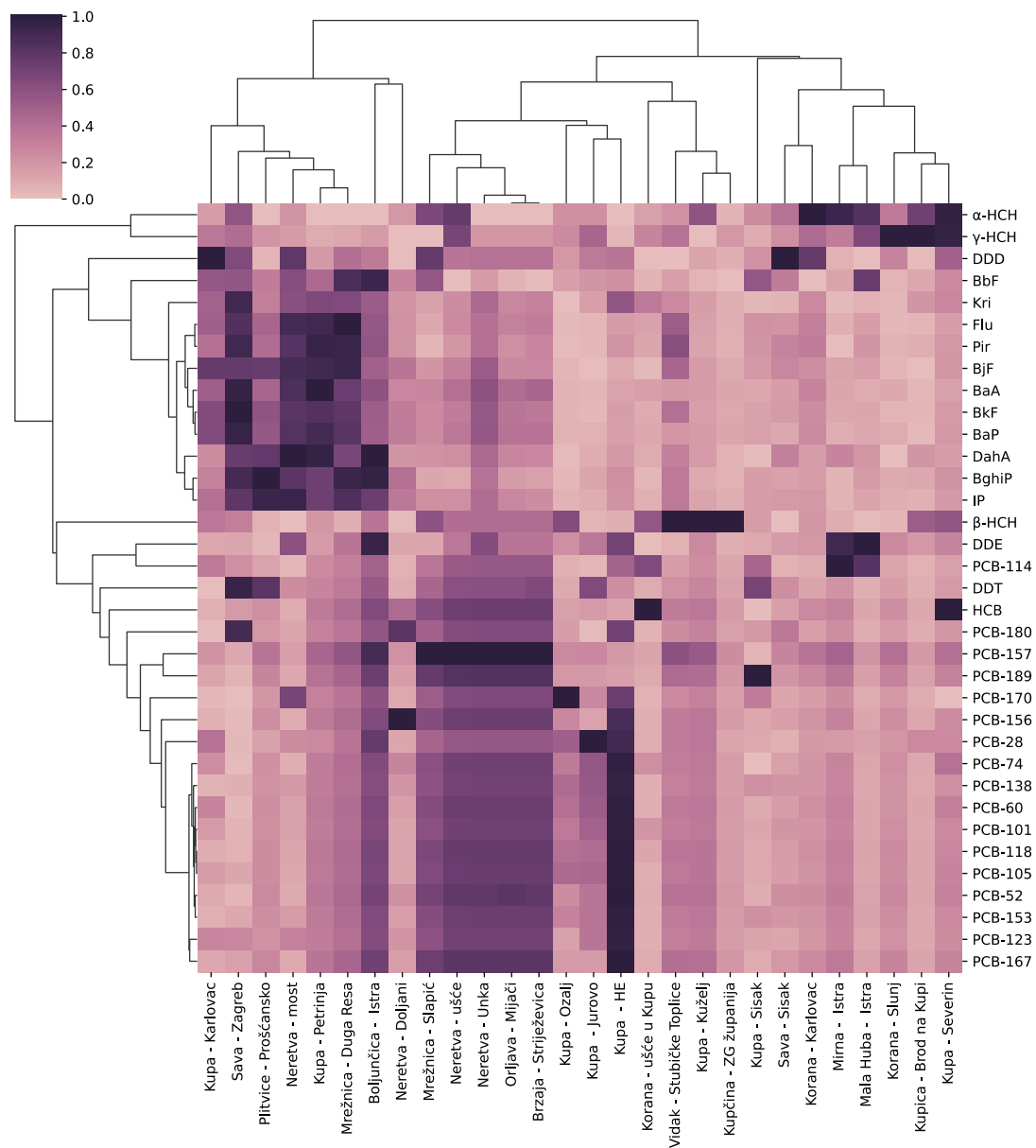
Tablica 8. Rezultati PCA i kmeans grupiranja za koncentracije i toksičnosti TU_{sed} onečišćujućih tvari za PC1, PC2 i PC3

onečišćujuća tvar	koncentracija				toksičnost			
	PC1	PC2	PC3	Klaster	PC1	PC2	PC3	Klaster
Flu	0.13177	0.26484	-0.04890	1	0.11058	0.04716	-0.05779	3
Pir	0.14134	0.25787	-0.03376	1	0.10884	0.06649	-0.06462	3
BaA	0.11770	0.26954	-0.07755	1	0.10781	0.07380	-0.06295	3
Kri	0.20875	0.13753	0.03872	1	0.11226	0.05595	-0.04898	3
BjF	0.10743	0.27437	-0.11389	1	0.11239	-0.00487	-0.04774	3
BbF	0.13939	0.19103	0.17658	3	0.11352	-0.02060	-0.03023	1
BkF	0.12694	0.26779	-0.06597	1	0.11201	0.04791	-0.05281	3
BaP	0.12484	0.26821	-0.07312	1	0.11180	0.04404	-0.05327	3
DahA	0.12175	0.25247	-0.11024	1	0.10215	0.08618	-0.06996	3
BghiP	0.14412	0.24721	-0.08052	1	0.10886	0.08100	-0.06006	3
IP	0.14027	0.25334	-0.09909	1	0.11024	0.06109	-0.05203	3
HCB	-0.00457	0.01351	0.29957	3	0.08956	0.06091	-0.08410	3
α-HCH	0.00479	0.11111	0.43642	3	0.10393	-0.00719	-0.04548	3
β-HCH	-0.02432	0.01065	0.36592	3	0.09242	-0.08695	-0.03051	1
γ-HCH	-0.00750	0.07566	0.43033	3	0.10543	-0.03584	-0.03684	1
DDE	0.19062	-0.02189	0.08366	2	0.09827	-0.01836	0.01707	1
DDD	0.15935	0.15442	-0.00879	1	0.10812	-0.06293	-0.00434	1
DDT	0.12396	0.14788	0.20606	3	0.07121	0.20595	-0.03798	3
PCB-28	0.21958	-0.13142	0.01476	2	0.09115	-0.15494	0.05250	1
PCB-52	0.22051	-0.16497	-0.03455	2	0.05305	-0.03343	0.27458	2
PCB-101	0.22613	-0.15250	0.01418	2	0.09540	-0.10215	0.12793	1
PCB-118	0.22370	-0.16042	-0.01631	2	0.05173	0.08577	0.29054	2
PCB-153	0.23346	-0.13766	0.00828	2	0.06911	0.18124	0.16831	2
PCB-138	0.23201	-0.13965	0.00356	2	0.05818	0.15638	0.21629	2
PCB-180	0.20989	0.01702	0.02427	2	0.08373	0.16953	-0.04510	3
PCB-74	0.21333	-0.16896	-0.00352	2	0.09071	-0.16631	0.05725	1
PCB-60	0.22385	-0.15842	-0.02978	2	0.08558	-0.16626	0.08453	1
PCB-123	0.24684	-0.09462	-0.03137	2	0.11222	0.00629	0.02645	1
PCB-114	0.12107	-0.02080	0.41253	3	0.10718	-0.08333	-0.02026	1
PCB-105	0.22635	-0.15375	-0.02031	2	0.10684	-0.02587	0.10713	1
PCB-167	0.22494	-0.14831	-0.02675	2	0.10312	0.05756	0.04324	3
PCB-156	0.19686	-0.13672	-0.05173	2	0.09451	-0.10833	-0.01524	1
PCB-157	0.00000	0.00000	0.00000	2	0.09440	-0.11094	-0.05046	1
PCB-170	0.21214	-0.04030	-0.01376	2	0.09273	-0.06992	0.01023	1
PCB-189	0.04804	0.03973	0.28148	3	0.09449	-0.11061	-0.04912	1

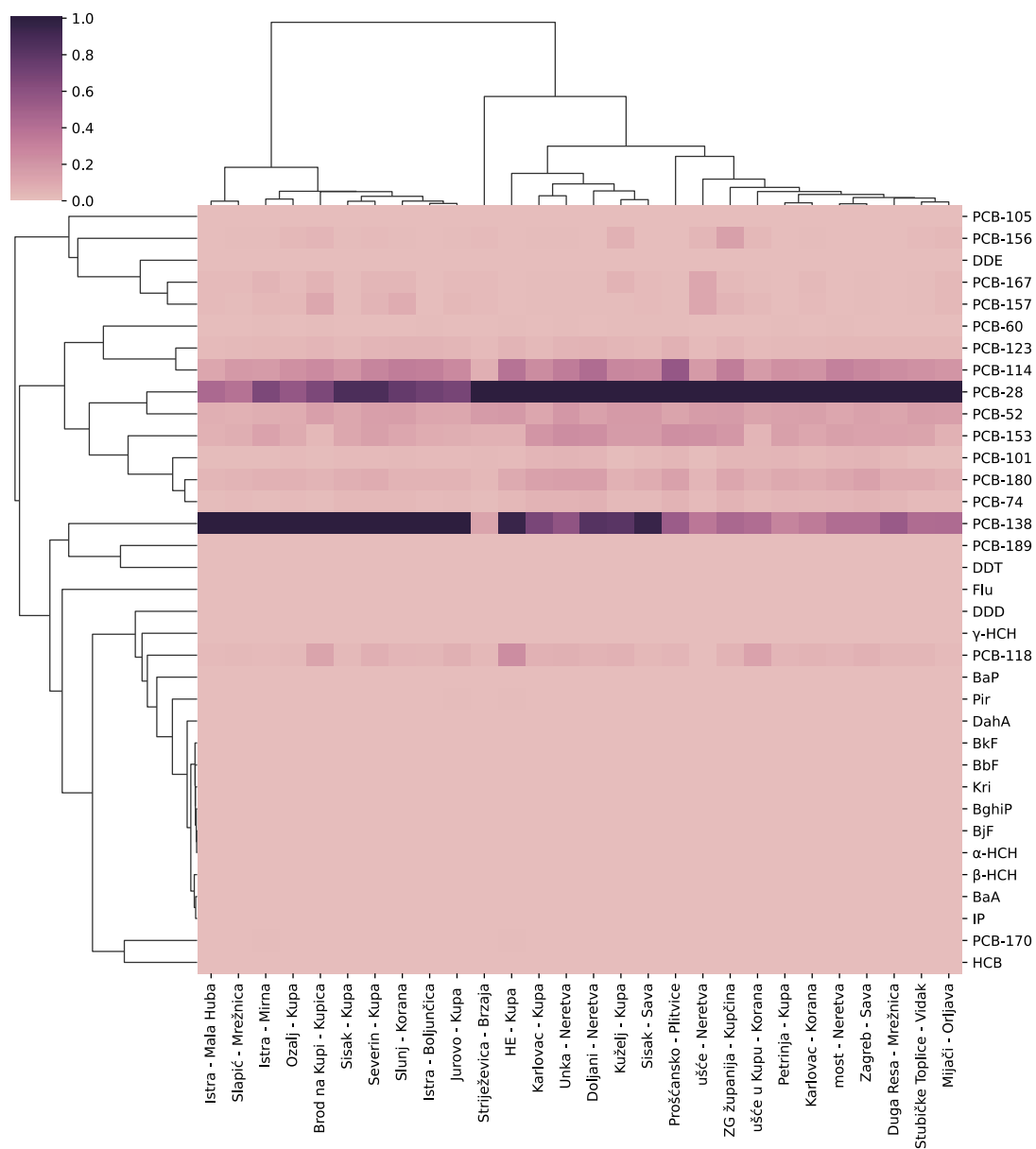
Nakon što PCA identificira glavne komponente, te komponente korištene su za dodatnu HCA što omogućava HCA da se fokusira na najvažnije varijable i smanjuje šum koji bi mogao ometati grupiranje. Korištenjem rezultata PCA u HCA, moguće je grupirati slične onečišćujuće tvari i lokacije na temelju njihovih učitaka na glavnim komponentama. PCA pokazuje da su određeni PCB spojevi slični po svojim učincima na PC1, dok HCA otkriva hijerarhijsku strukturu među tim PCB spojevima, dodatno potvrđujući njihovu sličnost. Rezultati HCA prikazani na dendrogramima (slika 24.) omogućuju vizualnu interpretaciju grupa koje su identificirane. Dok PCA pruža informacije o glavnim smjerovima varijance, HCA daje dodatne informacije o sličnosti među promatranim uzorcima i varijablama, dopunjavajući PCA time što nudi jasniju sliku o grupama koje su formirane. PCA i HCA zajedno mogu dati holistički uvid u distribuciju i izvore onečišćujućih tvari.

HCA primijenjena na tri različita seta podataka: koncentraciji onečišćujućih tvari, njihovoj toksičnosti i PBTC ocjeni, pruža uvid u složene odnose među onečišćujućim tvarima te njihovim distribucijama i potencijalnim utjecajima na različitim lokacijama. Ova analiza vizualizirana je kroz dendrograme i toplinske karte koje kvantificiraju intenzitete koncentracija, toksičnosti i PBTC ocjena za onečišćujuće tvari na promatranim lokacijama te su prikazani slikama 25., 26. i 27.

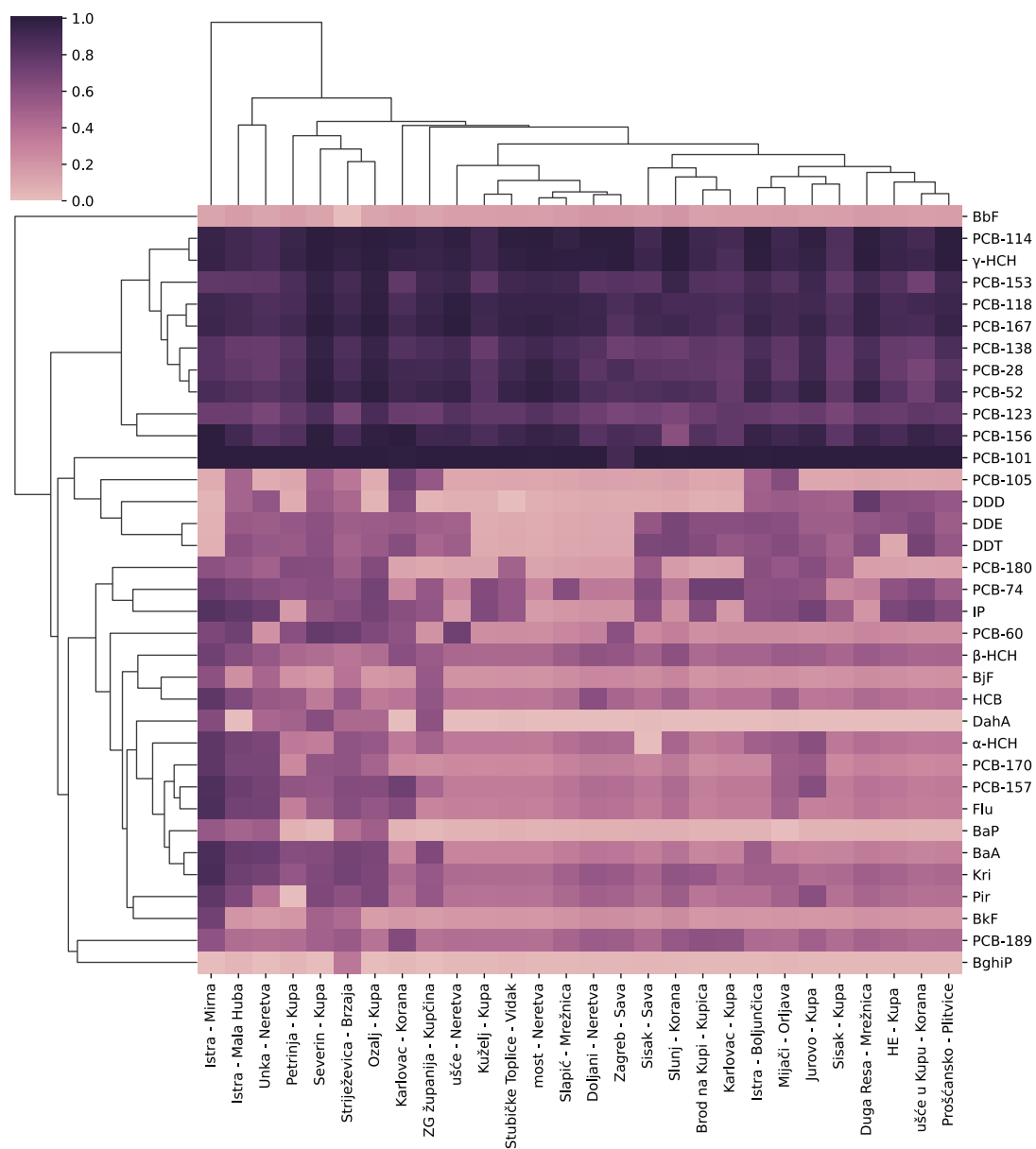
Prvi dendrogram (slika 25.) ističe grupiranje po koncentracijama, sugerirajući zajedničke izvore ili procese distribucije za određene onečišćujuće tvari, s posebnim naglaskom na industrijski utjecaj na koncentracije PAH-ova i PCB-ova te specifične lokacije poput Kupa - HE s visokim profilima onečišćenja. Drugi dendrogram (slika 26.) analizira toksičnost tvari, otkrivajući skupine s potencijalno sličnim mehanizmima djelovanja i ukazuje na posebno relevantne onečišćujuće tvari za procjenu ekološkog rizika, poput PCB-28, PCB-138 i PCB-114. Toplinska karta uz dendrogram ilustrira različite razine toksičnosti onečišćujućih tvari na promatranim lokacijama, pružajući uvid u potencijalne ekološke rizike i prioritete za monitoring i sanaciju. Treći dendrogram (slika 27.) se fokusira na PBTC ocjene, grupirajući tvari i lokacije prema riziku povezanom s persistentnošću, bioakumulacijom i toksičnošću, ističući onečišćujuće tvari i područja koja zahtijevaju intenzivniji monitoring i sanaciju. Ove analize su ključne za razumijevanje ekoloških utjecaja onečišćujućih tvari i razvoj ciljanih strategija zaštite okoliša.



Slika 25. Dendrogram dobiven HCA-om koncentracija PAH-ova, OCP-ova i PCB-ova



Slika 26. Dendrogram dobiven HCA-om toksičnosti (TU_{sed}) PAH-ova, OCP-ova i PCB-ova



Slika 27. Dendrogram dobiven HCA-om PBTC ocjena PAH-ova, OCP-ova i PCB-ova

5. ZAKLJUČAK

Ovo istraživanje obuhvaća temeljitu analizu distribucije i toksičnosti POPs-ova, uključujući PCB-ove, OCP-ove i PAH-ove, u sedimentima hrvatskih rijeka. Kroz primjenu VEGA QSAR modela, te PBTC i TU metoda, uspješno su kvantificirane i vizualizirane različite razine koncentracija, toksičnosti, postojanosti i potencijala za bioakumulaciju ovih spojeva. Istraživanje je pokazalo značajnu varijabilnost u koncentracijama i toksičnosti spojeva među različitim lokacijama, ističući rijeke Kupu, Savu i Neretvu kao područja koja zahtijevaju posebnu pažnju zbog potencijalno visokog ekološkog rizika. PAH-ovi su posebno prepoznati kao spojevi s najvećom toksičnošću, što ukazuje na potrebu za njihovim detaljnim praćenjem i upravljanjem. Iako su OCP-ovi i PCB-ovi pokazali umjerenu do nisku toksičnost, njihova izražena perzistentnost i sklonost ka bioakumulaciji naglašavaju važnost kontinuiranog nadzora. Ova studija također ističe važnost integriranog pristupa u ekotoksikološkoj evaluaciji, koji uzima u obzir različite kategorije spojeva i njihove specifične rizike. Posebna pažnja trebala bi se usmjeriti na spojeve s visokom toksičnošću, koji bi trebali biti u središtu programa zaštite javnog zdravlja i okoliša, s posebnim naglaskom na monitoring izloženosti ljudi i divljih vrsta te razvoj strategija za smanjenje emisija i izlaganja.

Korelacije između toksičnosti i koncentracije određenih spojeva naglašavaju monotonu vezu koja može imati važne ekološke i zdravstvene posljedice. Iako visoka korelacija ne implicira nužno uzročno-posljedičnu vezu, ona ukazuje na potrebu za temeljitijim razumijevanjem djelovanja svake pojedine tvari. Analiza otkriva da različite razine toksičnosti među spojevima unutar iste kategorije zahtijevaju pojedinačne procjene rizika. Generički pristupi, koji tretiraju sve spojeve unutar grupe kao jednake, mogu rezultirati netočnim procjenama rizika.

Iako ovo istraživanje pruža temeljne uvide, suočava se s ograničenjima poput nedostatka podataka. Ovo ističe potrebu za sveobuhvatnijim monitoringom na više lokacija i tijekom dužeg vremenskog perioda. Takav prošireni pristup omogućit će detaljnije razumijevanje dinamike i utjecaja POPs-ova na ekosustave i zdravlje ljudi. Zaključci ovog rada potiču na daljnju raspravu i istraživanje, s ciljem oblikovanja učinkovitih politika i strategija za upravljanje rizicima povezanim s perzistentnim organskim onečišćujućim tvarima, istovremeno naglašavajući važnost kontinuiranog istraživanja i proaktivnih mjera zaštite.

6. LITERATURA

1. UNEP, Stockholmska Konvencija, dostupno na: <https://chm.pops.int/TheConvention/ThePOPs/tabid/673/Default.aspx>. (pristupljeno 17.12.2023.).
2. M. S. El-Shahawi, A. Hamza, A. S. Bashammakh, W. T. Al-Saggaf, An overview on the accumulation, distribution, transformations, toxicity and analytical methods for the monitoring of persistent organic pollutants, *Talanta*, 80(5) (2010) 1587-1597.
3. O. M. L. Alharbi, A. A. Basheer, R. A. Khattab, I. Ali, Health and environmental effects of persistent organic pollutants, *J Mol Liq*, 263 (2018) 442-453.
4. S. Stanišić, G. Jovanović, M. Perišić, S. Herceg Romanić, T. Milićević, A. Stojić, Explaining the Environmental Fate of PAHs in Indoor and Outdoor Environments by the Use of Artificial Intelligence u: Warren L. Gregoire, *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Sources, Exposure and Health Effects*, Nova Science Publishers, Inc., 2022. 1-36.
5. K. C. Jones, Persistent Organic Pollutants (POPs) and Related Chemicals in the Global Environment: Some Personal Reflections, *Environ Sci Technol*, 55(14) (2021) 9400-9412.
6. M. Scheringer, Long-range transport of organic chemicals in the environment, *Environ Toxicol Chem*, 28(4) (2009) 677.
7. N. Eckley, Traveling toxics: The science, policy, an management of persistent organic pollutants, *Environ Sci Policy Sustain Dev*, 43(7) (2001) 24-36.
8. R. Carson, *Silent Spring*, Houghton Mifflin, Boston, Massachusetts, SAD, 1962.
9. A. B. Patel, S. Shaikh, K. R. Jain, C. Desai, D. Madamwar, Polycyclic aromatic hydrocarbons: Sources, toxicity, and remediation approaches, *Front Microbiol*, 11 (2020) 562813.
10. L. Famiyeh, K. Chen, J. Xu et al., A review on analysis methods, source identification, and cancer risk evaluation of atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons, *Sci Total Environ*, 789 (2021) 147741.
11. Konvencija o dalekosežnom prekograničnom onečišćenju zraka, dostupno na: <https://eur-lex.europa.eu/HR/legal-content/summary/geneva-convention-on-long-range-transboundary-air-pollution.html> (pristupljeno 17.12.2023.).

12. Aarhuski protokol, dostupno na: <https://unece.org/environment-policy/air/protocol-persistent-organic-pollutants-pops> (pristupljeno 17.12.2023.).
13. Izvješće komisije europskom parlamentu, vijeću, europskom gospodarskom i socijalnom odboru i odboru regija, prvo izvješće „izgledi za čisti zrak”, Europska Komisija, 2018. dostupno na: <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=COM:2018:0446:FIN:HR:PDF> (pristupljeno 17.12.2023.).
14. Direktiva o kvaliteti zraka 2008/50/EZ, dostupno na: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32008L0050> (pristupljeno 17.12.2023.).
15. Direktiva (EU) 2016/2284 o nacionalnim gornjim granicama emisija, dostupno na: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/PDF/?uri=OJ:L:2016:344:FULL&from=FR> (pristupljeno 17.12.2023.).
16. Direktiva (EU) 2015/2193 o ograničenju emisija određenih onečišćujućih tvari u zrak iz srednjih uređaja za loženje, dostupno na: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32015L2193> (pristupljeno 17.12.2023.).
17. Međunarodna konvencija o sprječavanju onečišćenja mora s brodova, MARPOL, dostupno na: <https://www.imo.org/en/KnowledgeCentre/ConferencesMeetings/pages/Marpol.aspx> (pristupljeno 17.12.2023.).
18. N. Brown, Chemoinformatics—an introduction for computer scientists, *ACM Comput Surv*, 41(2) (2009) 1-38.
19. G. Gini, QSAR Methods u: E. Benfenati, In Silico Methods for Predicting Drug Toxicity, Vol 1425, *Methods in Molecular Biology*, Springer New York, 2016. 1-20.
20. A. Roncaglioni, A. Lombardo, E. Benfenati, The VEGAHUB Platform: The Philosophy and the Tools, *Altern Lab Anim*, 50(2) (2022) 121-135.
21. E. Benfenati, A. Manganaro, G. Gini, VEGA-QSAR: AI inside a platform for predictive toxicology, PAI 2013, Conference Location Turin, Italy, 1107 (2013) 21-28.
22. Y. Oh Lee, B. Sung, In Silico Platforms for Predictive Ecotoxicology: From Machine Learning to Deep Learning u: K. Roy, *Chemometrics and Cheminformatics in Aquatic Toxicology*, 1. izdanje, Wiley, 2021. 453-471.

23. J. C. Dearden, The History and Development of Quantitative Structure-Activity Relationships (QSARs), *Int J Quant Struct-Prop Relatsh*, 2(2) (2017) 36-46.
24. A. Danieli, E. Colombo, G. Raitano, et al., The VEGA Tool to Check the Applicability Domain Gives Greater Confidence in the Prediction of In Silico Models, *Int J Mol Sci*, 24(12) (2023) 9894.
25. Regulation (EC) No 1907/2006 of the European Parliament and of the Council of 18 December 2006 concerning the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH), establishing a European Chemicals Agency, amending Directive 1999/45/EC and repealing Council Regulation (EEC) No 793/93 and Commission Regulation (EC) No 1488/94 as well as Council Directive 76/769/EEC and Commission Directives 91/155/EEC, 93/67/EEC, 93/105/EC and 2000/21/EC Dostupno online: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A02006R1907-20230806> (pristupljeno 7. rujna 2023).
26. B. M. Salih Hassan, A. M. Abdulazeez, A Review of Principal Component Analysis Algorithm for Dimensionality Reduction, *J Soft Comput Data Min*, 2(01) (2021).
27. N. Abd-alsabour, On the Role of Dimensionality Reduction, *J Comput*, (2018) 571-579.
28. H. Abdi, L. J. Williams, Principal component analysis, *Wiley Interdiscip Rev Comput Stat*, 2(4) (2010) 433-459.
29. D. M. Abdulqader, A. M. Abdulazeez, D. Q. Zeebaree, Machine Learning Supervised Algorithms of Gene Selection: A Review, *Machine Learning*, (2020) 62(03).
30. S. Squadrone, M. Prearo, R. Nespoli, T. Scanzio, M. C. Abete, PCDD/Fs, DL-PCBs and NDL-PCBs in European catfish from a northern Italian lake: the contribution of an alien species to human exposure, *Ecotoxicol Environ Saf*, 125 (2016) 170-175.
31. S. Squadrone, L. Favaro, M. Prearo, B. Vivaldi, P. Brizio, M. C. Abete, NDL-PCBs in muscle of the European catfish (*Silurus glanis*): An alert from Italian rivers, *Chemosphere*, 93(3) (2013) 521-525.
32. M. Pezdirc, E. Heath, L. Bizjak Mali, B. Bulog, PCB accumulation and tissue distribution in cave salamander (*Proteus anguinus anguinus*, Amphibia, Urodela) in the polluted karstic hinterland of the Krupa River, Slovenia, *Chemosphere*, 84(7) (2011) 987-993.

33. V. Luigi, M. Giuseppe, R. Claudio, Emerging and priority contaminants with endocrine active potentials in sediments and fish from the River Po (Italy), *Environ Sci Pollut Res*, 22(18) (2015) 14050-14066.
34. E. De Rosa, P. Montuori, M. Triassi, A. Masucci, A. Nardone, Occurrence and Distribution of Persistent Organic Pollutants (POPs) from Sele River, Southern Italy: Analysis of Polychlorinated Biphenyls and Organochlorine Pesticides in a Water–Sediment System, *Toxics*, 10(11) (2022) 662.
35. L. Marziali, L. Guzzella, F. Salerno, et al., Twenty-year sediment contamination trends in some tributaries of Lake Maggiore (Northern Italy): relation with anthropogenic factors, *Environ Sci Pollut Res*, 28(28) (2021) 38193-38208.
36. A. M. Dendievel, B. Mourier, A. Coynel, et al., Spatio-temporal assessment of the polychlorinated biphenyl (PCB) sediment contamination in four major French river corridors (1945–2018), *Earth Syst Sci Data*, 12(2) (2020) 1153-1170.
37. B. Dinç, A. Çelebi, G. Avaz, et al., Spatial distribution and source identification of persistent organic pollutants in the sediments of the Yeşilırmak River and coastal area in the Black Sea, *Mar Pollut Bull*, 172 (2021) 112884.
38. B. Güzel, O. Canlı, E. Aslan, Spatial distribution, source identification and ecological risk assessment of POPs and heavy metals in lake sediments of Istanbul, Turkey, *Mar Pollut Bull*, 175 (2022) 113172.
39. J. Shi, L. Huang, E. Sanganyado, et al., Spatial distribution and ecological risks of polychlorinated biphenyls in a river basin affected by traditional and emerging electronic waste recycling in South China, *Ecotoxicol Environ Saf*, 243 (2022) 114010.
40. J. Ščančar, E. Heath, T. Zuliani, et al., Elements and Persistent Organic Pollutants in the Sediments of the Sava River u: R. Milačič, J. Ščančar, M. Paunović, *The Sava River*, Vol 31, *The Handbook of Environmental Chemistry*, Springer Berlin Heidelberg, 2015. 95-121.
41. E. Heath, J. Ščančar, T. Zuliani, R. Milačič, A complex investigation of the extent of pollution in sediments of the Sava River: part 2: persistent organic pollutants, *Environ Monit Assess*, 163(1-4) (2010) 277-293.
42. M. Picer, S. Perkov, N. Picer, Contamination of Bela Krajina, Slovenia with polychlorinated biphenyls 1. Levels of some high molecular chlorinated hydrocarbons in the water and fish of the Kupa River in Croatia, *Water Air Soil Pollut*, 82(3-4) (1995) 559-581.

43. S. Frančišković-Bilinski, H. Bilinski, S. Širac, Organic pollutants in stream sediments of Kupa River drainage basin, *Fresenius Environmental Bulletin*, 14(4) (2005) 282-290.
44. G. Vuković, S. Herceg Romanić, Ž. Babić, et al., Persistent organic pollutants (POPs) in edible fish species from different fishing zones of Croatian Adriatic, *Mar Pollut Bull*, 137 (2018) 71-80.
45. T. Milićević, S. H. Romanić, A. Popović, et al., Human health risks and benefits assessment based on OCPs, PCBs, toxic elements and fatty acids in the pelagic fish species from the Adriatic Sea, *Chemosphere*, 287 (2022) 132068.
46. Z. Kljaković-Gašpić, S. Herceg Romanić, D. Klinčić, V. Tičina, Chlorinated compounds in the muscle tissue of fish from the Croatian Adriatic: preliminary data on contamination and the associated health risks, *Arch Ind Hyg Toxicol*, 66(4) (2015) 299-308.
47. M. Dvorščak, S. Fingler, G. Mendaš, S. Stipičević, Ž. Vasilić, V. Drevenkar, Distribution of Organochlorine Pesticide and Polychlorinated Biphenyl Residues in Lake Sediment Cores from the Plitvice Lakes National Park (Croatia), *Arch Environ Contam Toxicol*, 77(4) (2019) 537-548.
48. M. Brborić, J. Radonić, M. Vojinović Miloradov, S. Pap, M. Turk Sekulić, Organochlorine contamination in sediments collected from a rural-, urban- and industrial-impacted aquatic system (Danube, Serbia), *Holist Approach Environ*, 10(2) (2020) 41-47.
49. B. D. Škrbić, K. Kadokami, I. Antić, G. Jovanović, Micro-pollutants in sediment samples in the middle Danube region, Serbia: occurrence and risk assessment, *Environ Sci Pollut Res*, 25(1) (2018) 260-273.
50. S. H. Romanić, G. Vuković, D. Klinčić, et al., Organochlorine pesticides (OCPs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) in Cyprinidae fish: Towards hints of their arrangements using advanced classification methods, *Environ Res*, 165 (2018) 349-357.
51. Stockholmska Konvencija, All POPs listed in the Stockholm Convention, dostupno na:
<https://www.pops.int/TheConvention/ThePOPs/AllPOPs/tabid/2509/Default.aspx>, (pristupljeno 8.9.2023).
52. K. Von Stackelberg, PCBs u: J. O. Nriagu, *Encyclopedia of Environmental Health*, Elsevier, Amsterdam, 2011. 346-356.

53. S. A. Mills III, D. I. Thal, J. Barney, A summary of the 209 PCB congener nomenclature, *Chemosphere*, 68(9) (2007) 1603-1612.
54. P. De Voogt, U. A. Th. Brinkman, Production, properties and usage of polychlorinated biphenyls u: R. D. Kimbrough, A. A. Jensen, *Halogenated Biphenyls, Terphenyls, Naphthalenes, Dibenzodioxins and Related Products*, Elsevier, Amsterdam, 1989. 3-45.
55. Toxicological Profile for Polychlorinated Biphenyls (PCBs), Atlanta (GA): Agency for Toxic Substances and Disease Registry (US), 2000 Nov. 4, Chemical and physical information, CRC Press, 2002. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK587431/>.
56. R. Jayaraj, P. Megha, P. Sreedev, Review Article. Organochlorine pesticides, their toxic effects on living organisms and their fate in the environment, *Interdiscip Toxicol*, 9(3-4) (2016) 90-100.
57. World Health Organization, DDT and its Derivatives, *Environmental Health Criteria* 9, Geneva (1979) 1-170.
58. World Health Organization, Alpha- and Beta-hexachlorocyclohexanes, *Environmental Health Criteria* 123, Geneva (1992) 1-170.
59. World Health Organization, Lindane, *Environmental Health Criteria* 124, Geneva (1991) 1-208.
60. World Health Organization, Hexachlorobenzene, *Environmental Health Criteria* 195, Geneva (1997) 1-160.
61. L. Zhang, L. Yang, Q. Zhou, et al., Size distribution of particulate polycyclic aromatic hydrocarbons in fresh combustion smoke and ambient air: A review, *J Environ Sci*, 88 (2020) 370-384.
62. O. C. Ifegwu, C. Anyakora, Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, *Advances in Clinical Chemistry*, 72 (2015) 277-304.
63. A. Beyer, D. Mackay, M. Matthies, F. Wania, E. Webster, Assessing Long-Range Transport Potential of Persistent Organic Pollutants, *Environ Sci Technol*, 34(4) (2000) 699-703.
64. H. Wöhrnschimmel, M. MacLeod, K. Hungerbühler, Emissions, Fate and Transport of Persistent Organic Pollutants to the Arctic in a Changing Global Climate, *Environ Sci Technol*, 47(5) (2013) 2323-2330.

65. B. C. Kelly, M. G. Ikonomou, J. D. Blair, A. E. Morin, F. A. P. C. Gobas, Food Web Specific Biomagnification of Persistent Organic Pollutants, *Science*, 317(5835) (2007) 236-239.
66. S. Corsolini, N. Ademollo, T. Romeo, S. Greco, S. Focardi, Persistent organic pollutants in edible fish: a human and environmental health problem, *Microchem J*, 79(1-2) (2005) 115-123.
67. M. M. Storelli, G. Barone, G. O. Marcotrigiano, Polychlorinated biphenyls and other chlorinated organic contaminants in the tissues of Mediterranean loggerhead turtle *Caretta caretta*, *Sci Total Environ*, 373(2-3) (2007) 456-463.
68. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM), Scientific Opinion on the risk for public health related to the presence of mercury and methylmercury in food, *EFSA J*. 10(12) (2012) 2985.
69. R. Gioia, L. Nizzetto, R. Lohmann, J. Dachs, C. Temme, K. C. Jones, Polychlorinated Biphenyls (PCBs) in Air and Seawater of the Atlantic Ocean: Sources, Trends and Processes, *Environ Sci Technol*, 42(5) (2008) 1416-1422.
70. B. Gasic, C. Moeckel, M. MacLeod, et al., Measuring and Modeling Short-Term Variability of PCBs in Air and Characterization of Urban Source Strength in Zurich, Switzerland, *Environ Sci Technol*, 43(3) (2009) 769-776.
71. H. Hung, G. O. Thomas, K. C. Jones, D. Mackay, Grass–Air Exchange of Polychlorinated Biphenyls, *Environ Sci Technol*, 35(20) (2001) 4066-4073.
72. C. Moeckel, G. O. Thomas, J. L. Barber, K. C. Jones, Uptake and Storage of PCBs by Plant Cuticles, *Environ Sci Technol*, 42(1) (2008) 100-105.
73. L. Nizzetto, C. Pastore, X. Liu, et al., Accumulation Parameters and Seasonal Trends for PCBs in Temperate and Boreal Forest Plant Species, *Environ Sci Technol*, 42(16) (2008) 5911-5916.
74. S. N. Meijer, W. A. Ockenden, A. Sweetman, K. Breivik, J. O. Grimalt, K. C. Jones, Global Distribution and Budget of PCBs and HCB in Background Surface Soils: Implications for Sources and Environmental Processes, *Environ Sci Technol*, 37(4) (2003) 667-672.
75. A. J. Sweetman, M. D. Valle, K. Prevedouros, K. C. Jones, The role of soil organic carbon in the global cycling of persistent organic pollutants (POPs): interpreting and modelling field data, *Chemosphere*, 60(7) (2005) 959-972.

76. L. Nizzetto, M. Macleod, K. Borgå, et al., Past, Present, and Future Controls on Levels of Persistent Organic Pollutants in the Global Environment, *Environ Sci Technol*, 44(17) (2010) 6526-6531.
77. R. A. Hites, T. M. Holsen, Temporal trends of PCBs and DDTs in Great Lakes fish compared to those in air, *Sci Total Environ*, 646 (2019) 1413-1418.
78. U. Beck, *Risk Society: Towards a New Modernity*, Sage Publications, 1992.
79. C. H. Walker, *Organic Pollutants: An Ecotoxicological Perspective*, drugo izdanje, CRC Press, 2008.
80. F. O. Adeola, Boon or Bane? The Environmental and Health Impacts of Persistent Organic Pollutants (POPs), *Human Ecology Review*, (2004) 27-35.
81. M. H. Wong, M. A. Armour, R. Naidu, M. Man, Persistent toxic substances: sources, fates and effects, *Rev Environ Health*, 27(4) (2012) 207-213.
82. R. J. Letcher, J. O. Bustnes, R. Dietz, et al., Exposure and effects assessment of persistent organohalogen contaminants in arctic wildlife and fish, *Sci Total Environ*, 408(15) (2010) 2995-3043.
83. B. M. Jenssen, Endocrine-Disrupting Chemicals and Climate Change: A Worst-Case Combination for Arctic Marine Mammals and Seabirds?, *Environ Health Perspect*, 114(Suppl 1) (2006) 76-80.
84. D. Kong, M. MacLeod, I. T. Cousins, Modelling the influence of climate change on the chemical concentrations in the Baltic Sea region with the POPCYCLING-Baltic model, *Chemosphere*, 110 (2014) 31-40.
85. J. Komprda, K. Komprdová, M. Sářka, M. Možný, L. Nizzetto, Influence of Climate and Land Use Change on Spatially Resolved Volatilization of Persistent Organic Pollutants (POPs) from Background Soils, *Environ Sci Technol*, 47(13) (2013) 7052-7059.
86. V. Drevenkar, S. Fingler, Pesticidi i drugi perzistentni organoklorovi spojevi u okolišu u nas, *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju*, 51(Supplement) (2000) 59-73.
87. I. Goodfellow, Y. Bengio, A. Courville, *Deep Learning*, The MIT Press, 2016.
88. V. Mayer-Schönberger, K. Cukier, *Big Data: A Revolution That Will Transform How We Live, Work, and Think*, Houghton Mifflin Harcourt, 2013.
89. F. Provost, T. Fawcett, *Data Science for Business: What You Need to Know about Data Mining and Data-Analytic Thinking*, prvo izdanje, O'Reilly, 2013.

90. A. L. Samuel, Some studies in machine learning using the game of checkers, *IBM Journal of research and development*, 3(3) (1959) 210-229.
91. S. D. Mackowiak, H. Zaubler, C. Bielow, et al., Extensive identification and analysis of conserved small ORFs in animals, *Genome Biol*, 16(1) (2015) 179.
92. J. Wildenhain, M. Spitzer, S. Dolma, et al., Prediction of Synergism from Chemical-Genetic Interactions by Machine Learning, *Cell Syst*, 1(6) (2015) 383-395.
93. S. Cramer, M. Kampouridis, A. A. Freitas, A. K. Alexandridis, An extensive evaluation of seven machine learning methods for rainfall prediction in weather derivatives, *Expert Syst Appl*, 85 (2017) 169-181.
94. B. Zhang, X. He, F. Ouyang, et al., Radiomic machine-learning classifiers for prognostic biomarkers of advanced nasopharyngeal carcinoma, *Cancer Lett*, 403 (2017) 21-27.
95. M. Zounemat-Kermani, A. Ramezani-Charmahineh, R. Razavi, M. Alizamir, T. B. M. J. Ouarda, Machine Learning and Water Economy: a New Approach to Predicting Dams Water Sales Revenue, *Water Resour Manag*, 34(6) (2020) 1893-1911.
96. X. A. López-Cortés, F. M. Nachtigall, V. R. Olate, et al., Fast detection of pathogens in salmon farming industry, *Aquaculture*, 470 (2017) 17-24.
97. J. B. O. Mitchell, Machine learning methods in chemoinformatics, *WIREs Comput Mol Sci*, 4(5) (2014) 468-481.
98. N. Saito, K. Kim, S. Murata, T. Ogata, S. Sugano, Tool-Use Model Considering Tool Selection by a Robot Using Deep Learning, 2018 IEEE-RAS 18th International Conference on Humanoid Robots (Humanoids), IEEE, 2018. 270-276.
99. W. S. Ashley, A. M. Haberlie, J. Strohm, A Climatology of Quasi-Linear Convective Systems and Their Hazards in the United States, *Weather Forecast*, 34(6) (2019) 1605-1631.
100. S. Shalev-Shwartz, S. Ben-David, *Understanding machine learning: From theory to algorithms*, Cambridge university press, 2014.
101. D. Team, *Learn Types of Machine Learning Algorithms with Ultimate Use Cases*, Data Flair, 2019. Dostupno na: <https://data-flair.training/blogs/types-of-machine-learning-algorithms/>.

102. A. Mohapatra, Software tools for toxicology and risk assessment u: Information Resources in Toxicology, Elsevier, 2020. 791-812.
103. E. S. Williams, J. Panko, D. J. Paustenbach, The European Union's REACH regulation: a review of its history and requirements, *Crit Rev Toxicol*, 39(7) (2009) 553-575.
104. L. Lamon, M. Dalla Valle, A. Critto, A. Marcomini, Introducing an integrated climate change perspective in POPs modelling, monitoring and regulation, *Environ Pollut*, 157(7) (2009) 1971-1980.
105. C. E. Cowan-Ellsberry, M. S. McLachlan, J. A. Arnot, M. MacLeod, T. E. McKone, F. Wania, Modeling Exposure to Persistent Chemicals in Hazard and Risk Assessment, *Integr Environ Assess Manag*, 5(4) (2009) 662.
106. L. L. Johnson, B. F. Anulacion, M. R. Arkoosh, et al., Effects of Legacy Persistent Organic Pollutants (POPs) in Fish—Current and Future Challenges u: K. B. Tierney, A. P. Farrell, C. J. Brauner, *Fish Physiology*, Vol 33, Elsevier, 2013. 53-140.
107. D. R. Dudhagara, R. K. Rajpara, J. K. Bhatt, H. B. Gosai, B. K. Sachaniya, B. P. Dave, Distribution, sources and ecological risk assessment of PAHs in historically contaminated surface sediments at Bhavnagar coast, Gujarat, India, *Environ Pollut*, 213 (2016) 338-346.
108. E. Santos, M. R. R. Souza, A. R. Vilela Junior, L. S. Soares, M. Frena, M. R. Alexandre, Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in superficial water from a tropical estuarine system: Distribution, seasonal variations, sources and ecological risk assessment, *Mar Pollut Bull*, 127 (2018) 352-358.
109. G. Bengtsson, N. Törneman, A Spatial Approach to Environmental Risk Assessment of PAH Contamination, *Risk Anal*, 29(1) (2009) 48-61.
110. K. Abass, A. Huusko, P. Nieminen, et al., Estimation of health risk by using toxicokinetic modelling: A case study of polychlorinated biphenyl PCB153, *J Hazard Mater*, 261 (2013) 1-10.
111. OECD, Organisation for Economic Co-operation and Development. OECD Principles for the Validation, for Regulatory Purpose, of (Q)SAR Models. 2004. Dostupno online: <https://www.oecd.org/env/ehs/risk-assessment/validationofqsarmodels.htm>.

112. T. Ferrari, D. Cattaneo, G. Gini, N. Golbamaki Bakhtyari, A. Manganaro, E. Benfenati, Automatic knowledge extraction from chemical structures: the case of mutagenicity prediction, *SAR QSAR Environ Res*, 24(5) (2013) 365-383.
113. VEGAHUB, dostupno na: <https://www.vegahub.eu/>.
114. OECD QSAR TOOLBOX, dostupno na: <https://www.oecd.org/chemicalsafety/risk-assessment/oecd-qsar-toolbox.htm>.
115. VEGAHUB. Implementation of VEGA QSAR models into QSAR Toolbox, dostupno na: <https://www.vegahub.eu/implementation-of-vega-qsar-models-into-qsar-toolbox/>.
116. AMBIT—Cheminformatics Data Management System, dostupno na: <https://cefic-iri.org/toolbox/ambit/>, (pristupljeno 7.9.2023).
117. Chemical Life Cycle Collaborative—CLiCC, dostupno na: <https://clicc.ucsb.edu/>, (pristupljeno 7.9.2023).
118. E. Benfenati, Q. Chaudhry, G. Gini, J. L. Dorne, Integrating in silico models and read-across methods for predicting toxicity of chemicals: A step-wise strategy, *Environ Int*, 131 (2019) 105060.
119. E. Benfenati, A. Lombardo, VEGAHUB for Ecotoxicological QSAR Modeling u: K. Roy, *Ecotoxicological QSARs, Methods in Pharmacology and Toxicology*, Springer US, 2020. 759-787.
120. G. Selvestrel, G. J. Lavado, A. P. Toropova, et al., Monte Carlo Models for Sub-Chronic Repeated-Dose Toxicity: Systemic and Organ-Specific Toxicity, *Int J Mol Sci*, 23(12) (2022) 6615.
121. F. Pizzo, D. Gadaleta, E. Benfenati, In Silico Models for Repeated-Dose Toxicity (RDT): Prediction of the No Observed Adverse Effect Level (NOAEL) and Lowest Observed Adverse Effect Level (LOAEL) for Drugs u: E. Benfenati, *In Silico Methods for Predicting Drug Toxicity, Vol 2425, Methods in Molecular Biology*, Springer US, 2022. 241-258.
122. E. Mombelli, G. Raitano, E. Benfenati, In Silico Prediction of Chemically Induced Mutagenicity: A Weight of Evidence Approach Integrating Information from QSAR Models and Read-Across Predictions u: E. Benfenati, *In Silico Methods for Predicting Drug Toxicity, Vol 2425, Methods in Molecular Biology*, Springer US, 2022. 149-183.
123. S. Manganelli, A. Gamba, E. Colombo, E. Benfenati, Using VEGAHUB Within a Weight-of-Evidence Strategy u: E. Benfenati, *In Silico Methods for Predicting*

- Drug Toxicity, Vol 2425, Methods in Molecular Biology, Springer US, 2022. 479-495.
124. A. Golbamaki, E. Benfenati, A. Roncaglioni, In Silico Methods for Carcinogenicity Assessment u: E. Benfenati, *In Silico Methods for Predicting Drug Toxicity*, Vol 2425, Methods in Molecular Biology, Springer US, 2022. 201-215.
125. VEGA QSAR, dostupno na: <https://www.vegahub.eu/portfolio-item/vega-qsar/> (pristupljeno 4.7.2023).
126. CAESAR project, dostupno na: <http://www.caesar-project.eu/>.
127. C. Cheng, Principal component analysis (PCA) explained visually with zero math, Medium, Towards Data Science, 2022.
128. Z. Jaadi, A step-by-step explanation of principal component analysis (PCA), Retrieved June, 7(2021), 470.
129. L. Liu, M. T. Özsu, Encyclopedia of Database Systems, Springer, 2009.
130. S. J. Pan, J. T. Kwok, Q. Yang, Transfer learning via dimensionality reduction, *AAAI*, 8 (2008) 677-682.
131. Y. Lin, X. Zhu, Z. Zheng, Z. Dou, R. Zhou, The individual identification method of wireless device based on dimensionality reduction and machine learning, *J Supercomput*, 75(6) (2019) 3010-3027.
132. R. Zebari, A. Abdulazeez, D. Zeebaree, D. Zebari, J. Saeed, A Comprehensive Review of Dimensionality Reduction Techniques for Feature Selection and Feature Extraction, *J Appl Sci Technol Trends*, 1(2) (2020) 56-70.
133. T. Fujiwara, O. H. Kwon, K. L. Ma, Supporting Analysis of Dimensionality Reduction Results with Contrastive Learning, *IEEE Trans Vis Comput Graph*, 26(1) (2020) 45-55.
134. J. E. Jackson, A User's Guide to Principal Components, prvo izdanje, Wiley, 1991.
135. K. Pearson, LIII. On lines and planes of closest fit to systems of points in space, *Lond Edinb Dublin Philos Mag J Sci*, 2(11) (1901) 559-572.
136. H. Hotelling, Analysis of a complex of statistical variables into principal components, *J Educ Psychol*, 24(6) (1933) 417-441.
137. I. T. Jolliffe, Principal Component Analysis for Special Types of Data, drugo izdanje, Springer, 2002. 338-372.

138. X. Zhuang, Z. Yang, D. Cordes, A technical review of canonical correlation analysis for neuroscience applications, *Hum Brain Mapp*, 41(13) (2020) 3807-3833.
139. P. F. Dai, X. Xiong, W. X. Zhou, A global economic policy uncertainty index from principal component analysis, *Finance Res Lett*, 40 (2021) 101686.
140. M. Wang, L. Song, K. Sun, Z. Jia, F-2D-QPCA: A Quaternion Principal Component Analysis Method for Color Face Recognition, *IEEE Access*, 8 (2020) 217437-217446.
141. J. Zhang, W. Cui, X. Guo, B. Wang, Z. Wang, Classification of digital pathological images of non-Hodgkin's lymphoma subtypes based on the fusion of transfer learning and principal component analysis, *Med Phys*, 47(9) (2020) 4241-4253.
142. D. Weininger, A. Weininger, J. L. Weininger, SMILES. 2. Algorithm for generation of unique SMILES notation, *J Chem Inf Comput Sci*, 29(2) (1989) 97-101.
143. PubChem baza podataka, dostupno na: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>.
144. S. Babić, J. Barišić, D. Stipaničev, et al., Assessment of river sediment toxicity: Combining empirical zebrafish embryotoxicity testing with in silico toxicity characterization, *Sci Total Environ*, 643 (2018) 435-450.
145. Python, dostupno na: <https://www.python.org/>.
146. F. Pizzo, A. Lombardo, M. Brandt, A. Manganaro, E. Benfenati, A new integrated in silico strategy for the assessment and prioritization of persistence of chemicals under REACH, *Environ Int*, 88 (2016) 250-260.
147. F. Pizzo, A. Lombardo, A. Manganaro, et al., Integrated in silico strategy for PBT assessment and prioritization under REACH, *Environ Res*, 151 (2016) 478-492.
148. M. Kuzmanovic, A. Ginebreda, M. Petrovic, D. Barceló, Contaminants of Emerging Concern in Mediterranean Watersheds u: M. Petrovic, S. Sabater, A. Elosegi, D. Barceló, *Emerging Contaminants in River Ecosystems*, Vol 46, *The Handbook of Environmental Chemistry*, Springer International Publishing, 2015. 27-45. doi:10.1007/698_2015_5016
149. T. Backhaus, M. Faust, Predictive Environmental Risk Assessment of Chemical Mixtures: A Conceptual Framework, *Environ Sci Technol*, 46(5) (2012) 2564-2573.

150. A. Ginebreda, M. Kuzmanovic, H. Guasch, et al., Assessment of multi-chemical pollution in aquatic ecosystems using toxic units: Compound prioritization, mixture characterization and relationships with biological descriptors, *Sci Total Environ*, 468-469 (2014) 715-723.
151. D. M. Di Toro, C. S. Zarba, D. J. Hansen, et al., Technical basis for establishing sediment quality criteria for nonionic organic chemicals using equilibrium partitioning, *Environ Toxicol Chem*, 10(12) (1991) 1541-1583.
152. P. A. Inostroza, R. Massei, R. Wild, M. Krauss, W. Brack, Chemical activity and distribution of emerging pollutants: Insights from a multi-compartment analysis of a freshwater system, *Environ Pollut*, 231 (2017) 339-347.
153. R. Seth, D. Mackay, J. Muncke, Estimating the Organic Carbon Partition Coefficient and Its Variability for Hydrophobic Chemicals, *Environ Sci Technol*, 33(14) (1999) 2390-2394.
154. Dokumentacija sklearn.decomposition.PCA, dostupno na: <https://scikit-learn.org/stable/modules/generated/sklearn.decomposition.PCA.html>.
155. Dokumentacija sklearn.cluster.KMeans, dostupno na: <https://scikit-learn.org/stable/modules/generated/sklearn.cluster.KMeans.html>.
156. A. L. Schroeder, D. Martinović-Weigelt, G. T. Ankley, et al., Prior knowledge-based approach for associating contaminants with biological effects: A case study in the St. Croix River basin, MN, WI, USA, *Environ Pollut*, 221 (2017) 427-436.
157. F. Ustaoglu, Md. S. Islam, Potential toxic elements in sediment of some rivers at Giresun, Northeast Turkey: A preliminary assessment for ecotoxicological status and health risk, *Ecol Indic*, 113 (2020) 106237.
158. Dokumentacija seaborn.clustermap, dostupno na: <https://seaborn.pydata.org/generated/seaborn.clustermap.html>.
159. I. Terzić, Elektronički dodatak [Diplomski rad] [Data set], Zenodo, 2024. Dostupno na: <https://doi.org/10.5281/zenodo.10728785>.
160. H. Stiborova, M. Kolar, J. Vrkoslavova, et al., Linking toxicity profiles to pollutants in sludge and sediments, *J Hazard Mater*, 321 (2017) 672-680.

7. POPIS KRATICA I SIMBOLA

POPIS KRATICA

- ADI – indeks domene primjenjivosti (engl. Applicability Domain Index)
- BCF – faktor biokoncentracije (engl. bioconcentration factor)
- CAESAR – računalom potpomognuta evaluacija industrijskih kemijskih tvari prema regulativama (engl. Computer-Assisted Evaluation of industrial chemical Substances According to Regulations)
- ECHA – europska agencija za kemikalije (engl. European Chemicals Agency)
- GC-MS – plinska kromatografija spregnuta s masenom spektrometrijom (engl. Gas Chromatography – Mass Spectrometry)
- HCA – hijerarhijska klaster analiza (engl. Hierarchical Cluster Analysis)
- IPEN – međunarodna mreža za eliminaciju POP-ova (engl. International POPs Elimination Network)
- ISS – talijanski nacionalni zavod za zdravstvo (tal. Istituto Superiore di Sanità)
- IUPAC – međunarodna unija za čistu i primijenjenu kemiju (engl. International Union for Pure and Applied Chemistry)
- OCP – organoklorini pesticidi (engl. organochlorine pesticides)
- PAH – policiklički aromatski ugljikovodici (engl. polycyclic aromatic hydrocarbons)
- PBTC – postojanost, bioakumulacija, toksičnost i koncentracija (engl. persistence, bioaccumulation, toxicity and concentration)
- PC – ključne komponente (engl. Principal Components)
- PCA – analiza glavnih komponenata (engl. Principal Component Analysis)
- PCB – poliklorirani bifenili (engl. polychlorinated biphenyls)
- POP – postojana organska onečišćivala (engl. persistent organic pollutants)
- QMRF – format izvještavanja QSAR modela (engl. QSAR Model Reporting Format)
- QSAR – kvantitativni odnos struktura i aktivnosti tvari (engl. Quantitative Structure-Activity Relationship)
- SAR – odnos struktura i aktivnosti (engl. Structure-Activity Relationship)
- SMILES – sustav pojednostavljenog unosa molekularnih linija (engl. Simplified Molecular Input Line Entry System)
- TU – toksična jedinica (engl. Toxic Unit)

UNECE – ekonomska komisija Ujedinjenih naroda za Europu (engl. United Nations Economic Commission for Europe)

UNEP – program Ujedinjenih naroda za okoliš (engl. United Nations Environment Programme)

US EPA – američka agencija za zaštitu okoliša (engl. United States Environmental Protection Agency)

WHO – svjetska zdravstvena organizacija (engl. World Health Organization)

POPIS SIMBOLA

c_d – koncentracija kemijskog spoja u vodi koja se nalazi u porama sedimenta

c_i – koncentracija kemijskog spoja

c_s – koncentracija kemijskog spoja u sedimentu

f_{oc} – maseni udio organskog ugljika u sedimentu

K_{oc} – koeficijent raspodjele za organski ugljik u sedimentu

K_p – koeficijent raspodjele između sedimenta i vode u porama sedimenta

LC_{50} – koncentracija ispitivane tvari koja uzrokuje smrtnost od 50%

$\log P$ – logaritam koeficijenta raspodjele, $\log K_{ow}$

R_i - individualni rang za svaku ispitivanu komponentu

TU_i – toksična jedinica

TU_{sed} - procijenjena toksična jedinica u sedimentu

TU_{SITE} – procijenjena toksična jedinica za pojedinu lokaciju

w_i – težinski faktor

8. ELEKTRONIČKI DODATAK

Cjelokupni softverski kôd implementiran u okviru ovog diplomskog rada objavljen je na GitHub repozitoriju, dostupan za akademsku analizu i recenziju na poveznici <https://github.com/IvanaTerzic/Diplomski>. Za lakši pristup spomenutom repozitoriju, generiran je QR kôd prikazan na slici 28.



Slika 28. QR kôd GitHub repozitorija

Elektronički dodaci ovog rada mogu se preuzeti iz javnog repozitorija¹⁵⁹ na poveznici <https://doi.org/10.5281/zenodo.10728785>.

Tablica 9. Popis elektroničkih dodataka

Oznaka elektroničkog dodatka	Opis
E1 (koncentracije)	Podatci koncentracija za svaku lokaciju
E2 (VEGA QSAR modeli)	Podatci 16 VEGA QSAR modela
E3 (metoda TU)	Podatci korišteni za procjenu toksičnosti
E4 (metoda PBTC)	Podatci korišteni za procjenu PBTC ocjene

ŽIVOTOPIS

Ivana Terzić (djevojački Nađ) ██████████ Nakon završetka Prirodoslovne škole Vladimira Preloga u Zagrebu, smjer prirodoslovna gimnazija, nastavila je svoje obrazovanje na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu, gdje trenutno studira na diplomskom studiju Ekoinženjerstvo. Tijekom svog studija, stekla je vrijedno praktično iskustvo kako kroz različite kolegije tako i kroz stručnu praksu na Institutu Ruđer Bošković, gdje je radila u Zavodu za eksperimentalnu fiziku unutar Laboratorija za nuklearne analitičke metode. Također, bila je demonstrator u Mikrobiološkom laboratoriju na svom fakultetu, gdje je pomagala studentima u različitim mikrobiološkim tehnikama. Njezine digitalne vještine uključuju napredno korištenje Microsoft Office paketa, SCIENTIST-a, SuperPro Designer-a te osnovno znanje programiranja u Pythonu. Pored akademskih obveza, trenutno je studentski zaposlena u tvrtki chemical codes d.o.o., gdje stječe praktično iskustvo i dodatno razvija svoje vještine ključne za buduću karijeru. Osim akademskog uspjeha i radnog iskustva, pokazuje iznimnu motivaciju i sposobnost za timski rad. Pažnja za detalje, analitičko i kritičko razmišljanje, te kreativnost ističu je kao pouzdanu i sposobnu mladu profesionalnu osobu. Ivana balansira svoje profesionalne i akademske obaveze s osobnim životom, provodeći kvalitetno vrijeme sa svojom kćerkom Julijom. U budućnosti planira nastaviti svoje obrazovanje upisom na doktorski studij, s ciljem daljnjeg usavršavanja u području ekotoksikologije i kemoinformatike. Ambiciozna i posvećena, teži daljnjem usavršavanju i postizanju izvrsnosti u svojoj struci.