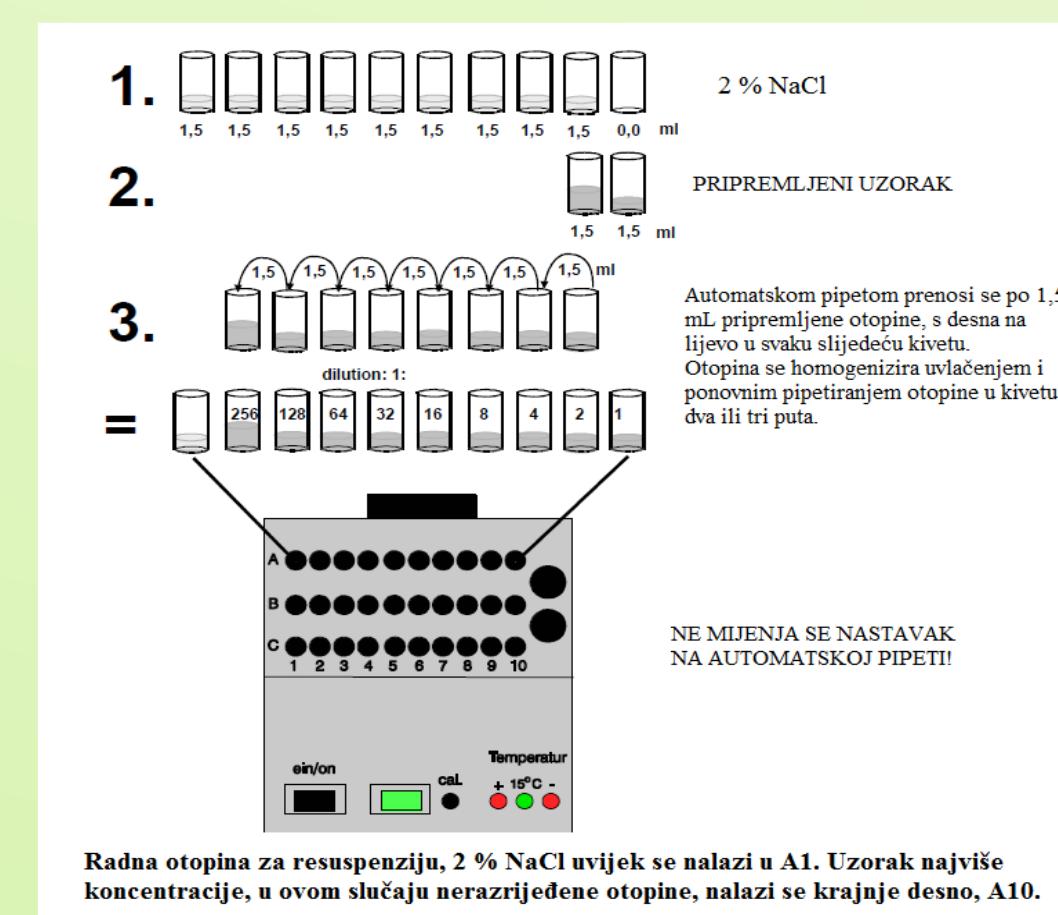
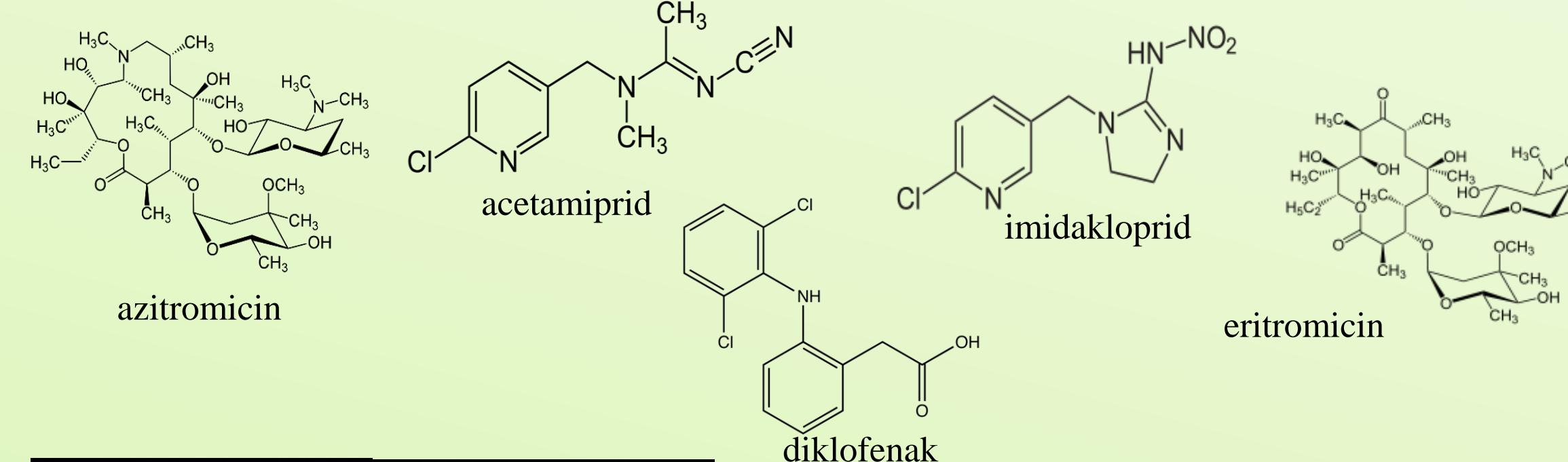




Popis praćenja za tvari za koje je potrebno praćenje diljem Unije kako je utvrđeno člankom 8.b Direktive 2008/105/EZ

Naziv tvari/skupine tvari	CAS broj (1)	EU broj (2)	Indikativna metoda analize (3) (4)	Najveća prihvatljiva granica detekcije metode (ng/l)
Etinilestradiol 17-alfa (EE2)	57-63-6	200-342-2	SPE velikog volumena – LC-MS-MS	0,035
Estradiol 17-beta (E2), estron (E1)	50-29-2; 53-16-7	200-023-8	SPE – LC-MS-MS	0,4
Diklofenak	1530-86-5	239-348-5	SPE – LC-MS-MS	10
2,6-diterc-butil-4-metilfenol	128-37-0	204-581-4	SPE – GC-MS	3 160
2-etilheksil-4-metoksicinamat	5466-77-3	226-773-7	SPE – LC-MS-MS ili GC-MS	6 000
Makrolidični antibiotici (6)			SPE – LC-MS-MS	90
Metiokarb	2032-65-7	217-991-2	SPE – LC-MS-MS ili GC-MS	10
Neonikotinoidi (7)			SPE – LC-MS-MS	9
Oksadiazon	19666-30-9	243-215-7	LLE/SPE – GC-MS	88
Tri-alat	2303-17-5	218-962-7	LLE/SPE – GC-MS ili LC-MS-MS	670

Slika 1. Analizirani ksenobiotici



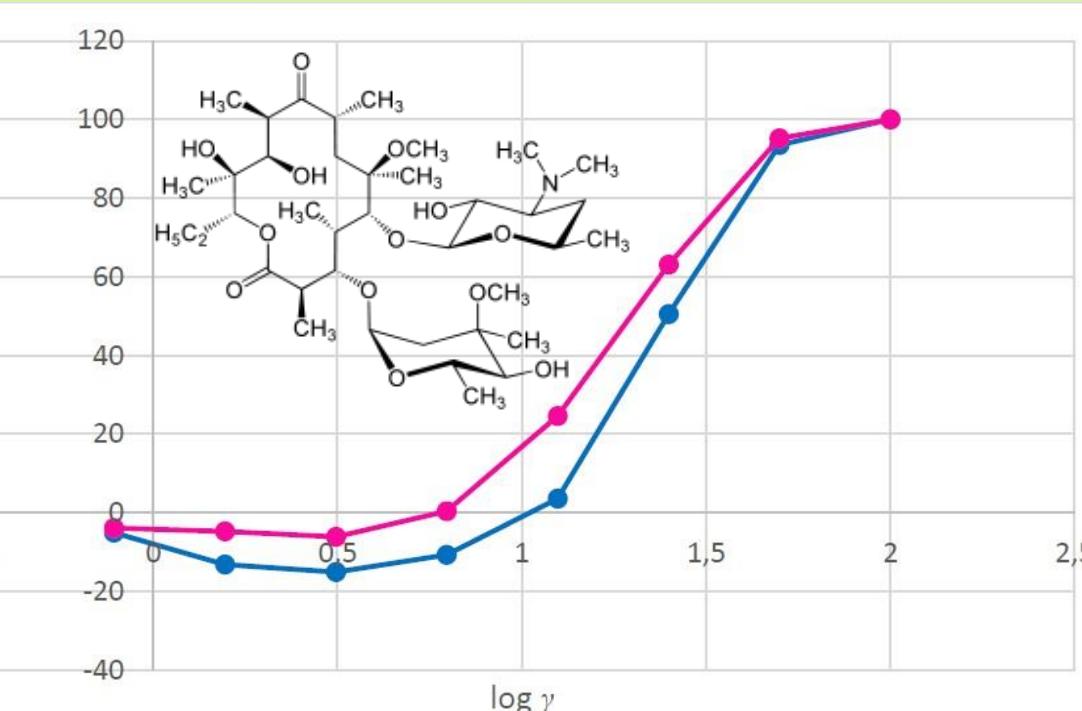
Slika 4. Priprema mjerjenja

REZULTATI

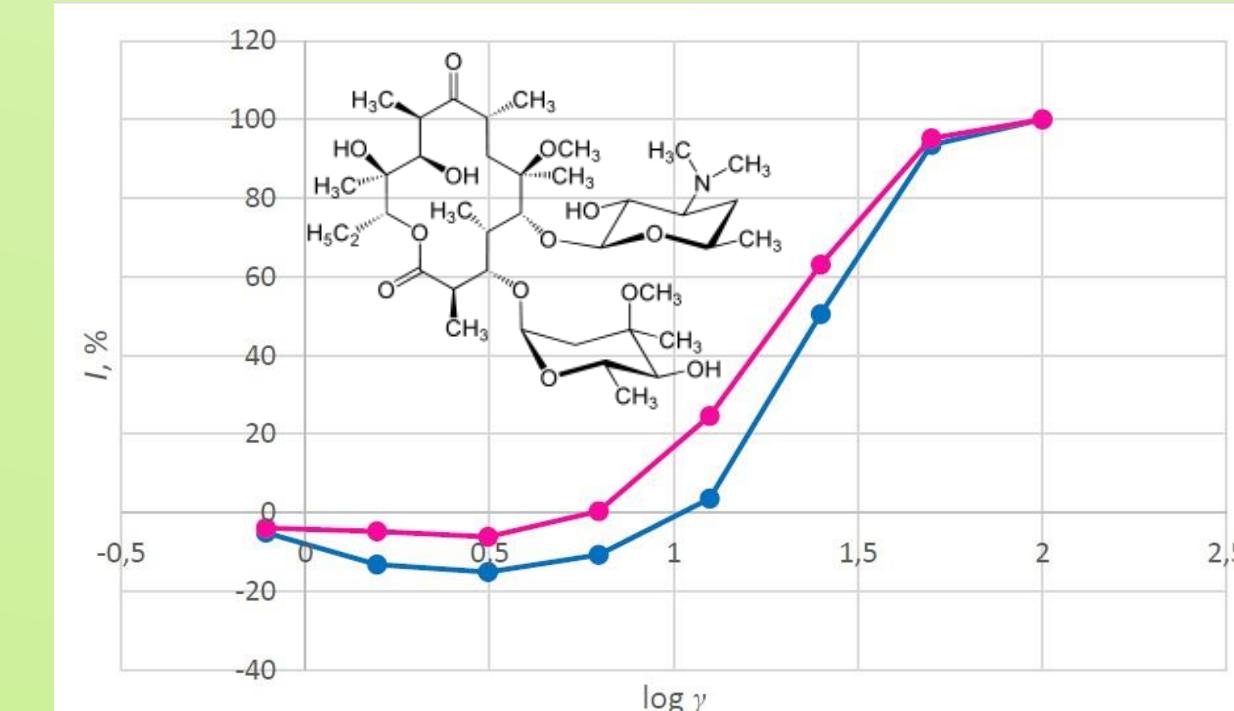
Nakon bilježenja luminiscencije kulture uz pomoć gotovih matematičkih izraza računao se postotak inhibirane kulture nakon određenog vremena što ujedno i predstavlja os ordinatu na grafu toksičnosti otopine određenog ksenobiotika dok je na apcisi logaritam koncentracije otopine ksenobiotika. Iz grafa se očitaju vrijednosti EC₂₀ i EC₅₀ koje uzrokuju 20 %, odnosno 50 % inhibicije bakterijske kulture, te LOEC (najniža koncentracija koja izaziva vidljivi štetni učinak) za svako mjerjenje ksenobiotika kako bi lakše usporedili dobivene podatke o toksičnosti. Iz očitane EC₅₀ vrijednosti izračuna se TU prema formuli : TU = 100 × (EC₅₀)⁻¹ (Tablica 2.). Sva su mjerjenja ponovljena dva puta, te su prikazani grafovi usporedbe toksičnosti dva mjerjenja, a u Tablici 2 su prikazani dobiveni rezultati.

Tablica 2. Očitane vrijednosti EC₂₀, EC₅₀, LOEC s pripadajućom I, te izračunate TU za svaki pojedini ksenobiotik

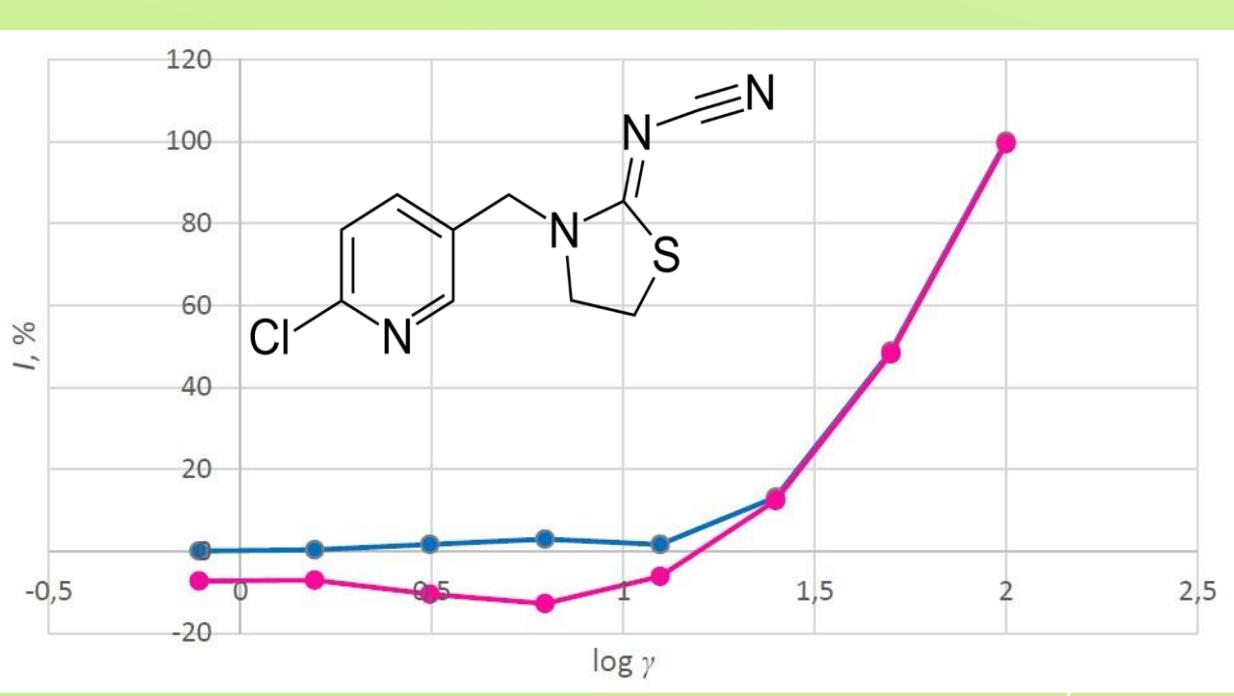
KSENOBIOTIK	EC ₂₀ , mg/L	EC ₅₀ , mg/L	TU	LOEC, mg/L	I, %
azitromicin	47,361	58,580	1,85	75.000	79,51
eritromicin	28,880	44,710	2,52	31.250	22,75
klaritromicin	13,221	23,040	4,37	9.375	2,00
klotianidin	21,451	30,052	3,38	25.000	32,64
tiakloprid	28,184	51,286	1,95	12.890	24,08
imidakloprid	18,868	31,623	3,16	18.750	19,38
acetamiprid	4,230	25,640	4,30	0,781	6,78
tiametoksam	24,378	34,489	2,90	12.890	13,10
metiokarb	0,928	2,147	48,03	0,781	23,94
oksadiazon	32,668	39,280	2,55	37,500	35,87
trialat	31,442	41,454	4,83	0,781	0,03
diklofenak	9,503	25,640	4,30	0,781	3,62
2,6-di-tert-butil-4-metilfenol	14,969	21,761	4,60	12,500	7,22
estradiol-17β	15,637	23,753	4,23	12,500	1,083
estron	15,405	23,753	4,23	12,890	28,58
etinilestradiol-17α	28,184	35,481	2,82	25.000	3,74
2-etil-heksil-4-metoksicinamat	-	-	-	-	-



Slika 5. Princip mjerjenja toksičnosti



Slika 6. Graf usporedbe toksičnosti klaritromicina



Slika 7. Graf usporedbe toksičnosti tiakloprida



Ovaj rad financiran je (1.492.908,72 HRK) u sklopu Programa Vlade Republike Hrvatske za poticanje istraživačkih i razvojnih aktivnosti u području klimatskih promjena za razdoblje od 2015. do 2016. godine uz podršku Ministarstva znanosti i obrazovanja, Ministarstva zaštite okoliša i energetike, Fonda za zaštitu okoliša i energetsku učinkovitost te Hrvatske zaklade za znanost, u sklopu projekta Izravna uporaba komunalne otpadne vode za navodnjavanje membranskim tehnologijama (ReHOHMem) (PKP-2016-06-8522).

ZAKLJUČAK

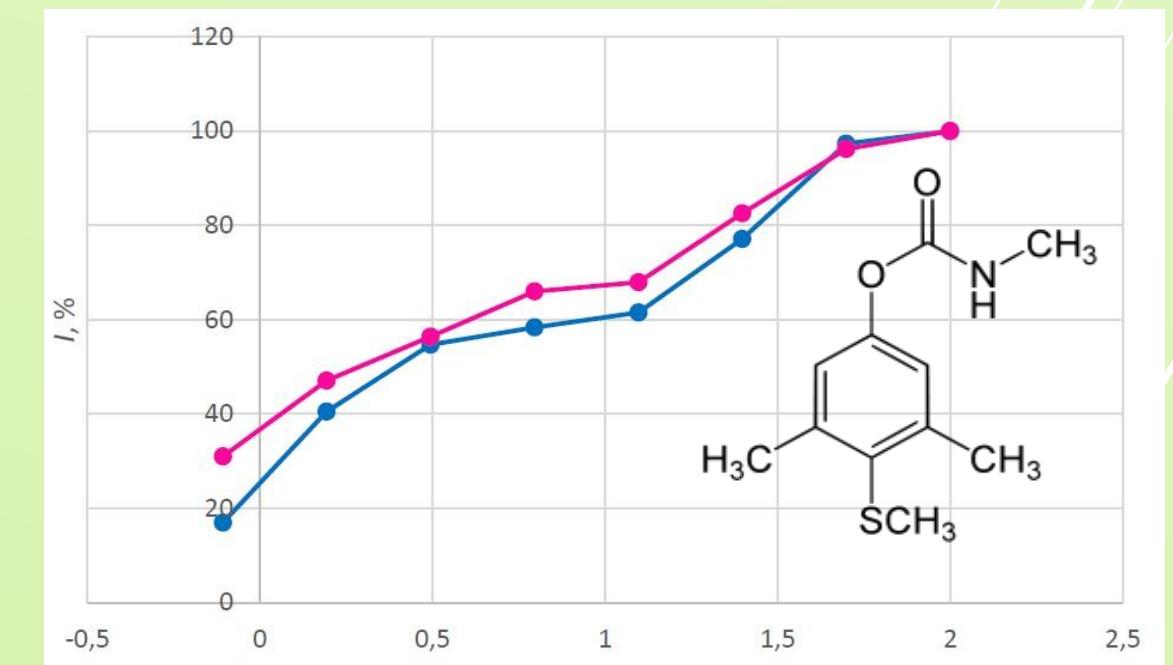
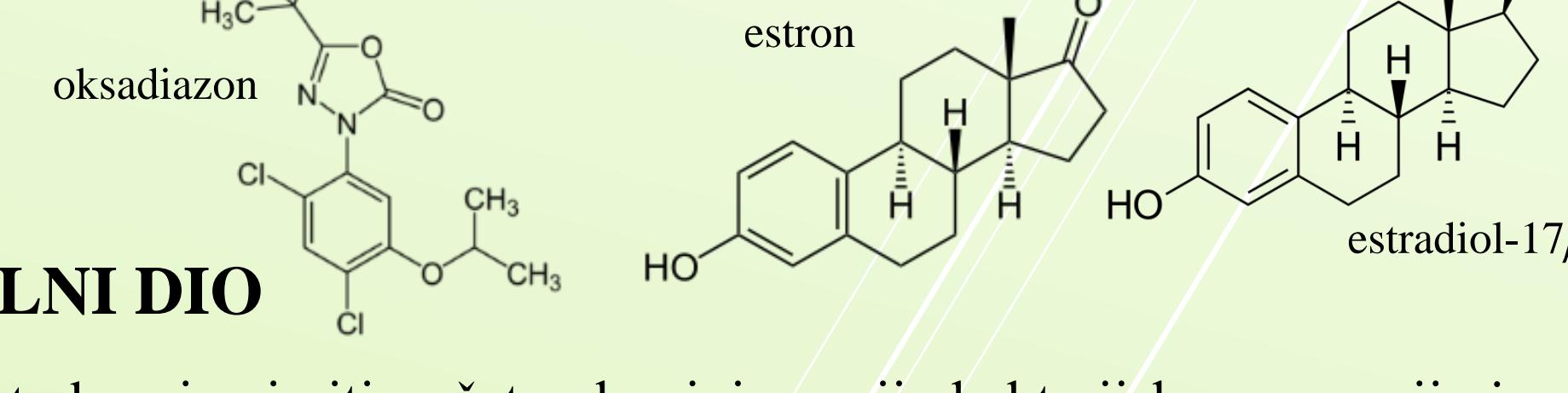
- Primjećeno je da do manjih odstupanja između mjerjenja dolazi kada je test valjanosti bakterijske kulture nekoliko postotaka ispod ili iznad zadanih granica od 20 – 80 %.
- MAKROLIDI – Najveću toksičnost pokazuje klaritromicin, a najmanju azitromicin, što je pozitivno jer je azitromicin jedna od najkorištenijih aktivnih tvari u proizvodnji lijekova u svijetu.
- NEONIKOTINOIDI – Najveću toksičnost ima acetamiprid, najmanju toksičnost pokazao je tiakloprid, a slijede ga tiametoksam, imidakloprid i klotianidin.
- NAJTOKSIČNIJI KSENOBIOTIK – metiokarb
- Diklofenak, trialat i 2,6-di-tert-butil-4-metilfenol su približno iste toksičnosti.
- ESTROGENSKI HORMONI – Najmanju toksičnost pokazuje polusintetski derivat estradiola-17β, etinilestradiol-17α, što potvrđuje i razloge primarne sinteze tog hormona, smanjenje toksičnosti estrogenih supstancija koje su jedna od skupina farmaceutika koja se najviše ispušta u okoliš.
- SREDSTVA ZA ZAŠТИTU OD SUNCA – 2,6-etil-heksil-4-metoksicinamat jedini je ispitivan spoj koji nije pokazao toksičnost, što je pozitivno jer je on aktivni sastojak krema za sunčanje koje su jedan od najkorištenijih proizvoda za osobnu njegu.
- Metabolički putevi mnogih ksenobiotika još nisu istraženi, nema ni regulacije maksimalno dopuštenih koncentracija navedenih ksenobiotika u okolišu, stoga je ključno nastaviti s ovakim i mnogim drugim mjerjenjima, kako bi sprječili onečišćenje i štetan utjecaj za živi svijet.



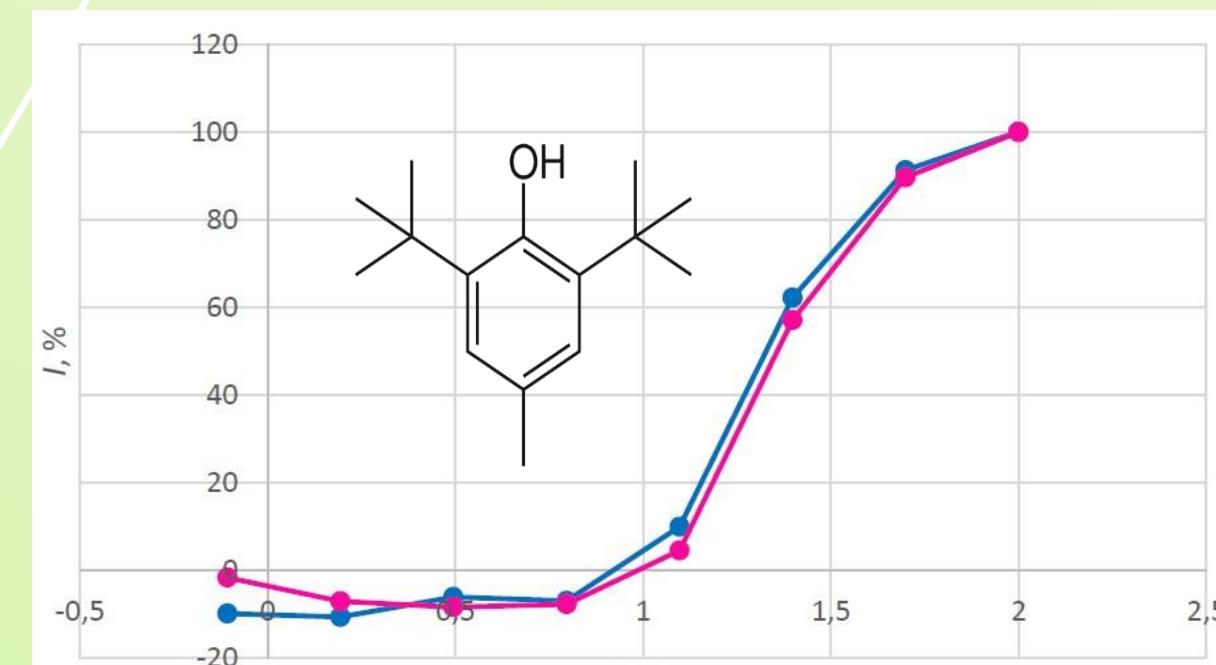
Slika 3. Instrument za mjerjenje toksičnosti

Tablica 1. Fizikalno – kemijska svojstva ispitivanih ksenobiotika

KSENOBIOTIK	KEMIJSKA FORMULA	CAS BROJ	MOLEKULSKA MASA	ČISTOĆA	PROIZVODAČ
azitromicin	C ₃₈ H ₇₂ N ₂ O ₁₂	83905-01-5	748,996	≥ 99 %	Sigma-Aldrich
eritromicin	C ₃₇ H ₆₇ NO ₁₃	114-07-8	733,937	≥ 99 %	Sigma-Aldrich
klaritromicin	C ₃₈ H ₆₉ NO ₁₃	81103-11-9	747,964	≥ 99 %	Sigma-Aldrich
imidakloprid	C ₉ H ₁₀ ClN ₂ O ₂	105827-78-9; 138261-41-3	255,662	≥ 99 %	Sigma-Aldrich
tiakloprid	C ₁₀ H ₁₂ ClN ₄ S	111988-49-9	252,72	≥ 99 %	Sigma-Aldrich
klotianidin	C ₆ H ₈ ClN ₂ O ₂	210880-92-5	249,673	≥ 99 %	Sigma-Aldrich
acetamiprid	C ₁₀ H ₁₁ ClN ₄	135410-20-7; 160430-64-8	222,676	≥ 99 %	Sigma-Aldrich
tiametoksam	C ₈ H ₁₉ ClN ₃ O ₃	153719-23-4	291,71	≥ 99 %	Sigma-Aldrich
metiokarb	C ₁₁ H ₁₃ NO ₂ S	2032-65-7	225,306	≥ 99 %	Sigma-Aldrich
oksadiazon	C ₁₅ H ₁₈ Cl ₂ N ₂ O ₃	19666-30-9	345,22	≥ 99 %	Sigma-Aldrich
trialat	C ₁₀ H ₁₆ Cl ₃ NOS	2303-17-5	304,654	≥ 99 %	Sigma-Aldrich
etinilestradiol-17α	C ₂₀ H ₂₄ O ₂	57-63-6	296,41	≥ 99 %	Sigma-Aldrich
estradiol-17β	C ₁₈ H ₂₄ O ₂	50-28-2	272,388	≥ 98 %	Sigma-Aldrich
estron	C ₁₈ H ₂₂ O ₂	53-16-7	270,372	≥ 99 %	Sigma-Aldrich
diklofenak	C ₁₄ H ₁₁ Cl ₂ NO ₂	15307-86-5	296,147	≥ 99 %	Sigma-Aldrich
2,6-di-tert-butil-4-metilfenol	C ₁₅ H ₂₄ O	128-37-0	220,356	≥ 99 %	Sigma-Aldrich
2-etil-heksil-4-metoksicinamat	C ₁₈ H ₂₆ O ₃	5466-77-3	290,403	≥ 98 %	Sigma-Aldrich



Slika 8. Graf usporedbe toksičnosti metiokarpa



Slika 9. Graf usporedbe toksičnosti 2,6-di-tert-butil-4-metilfenola



Slika 10. Graf usporedbe toksičnosti trialata

Slika 11. Graf usporedbe toksičnosti 2-etil-heksil-4-metoksicinamat