

ODREĐIVANJE FENOLA U PRIOBALNIM MORSKIM ORGANIZMIMA KVARNERA I OTOKA VISA

L. ŠTILINOVIĆ, I. MUNJKO i BRANKA VUKIĆ

*Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada JAZU i
Služba za kontrolu voda, »OKI«, Zagreb*

Određivana je koncentracija ukupnih fenola u morskoj vodi i u nekim organizmima koji žive u zoni plime i oseke priobalnog mora Kvarnerskog zaljeva i otoka Visa. Izgleda da postoji odaziv povišene koncentracije ukupnih fenola u morskoj vodi na koncentraciju ukupnih fenola u morskim organizmima.

Zbog sve većeg onečišćivanja morske vode nedvojbeno je nametnuta potreba detaljnih bioloških istraživanja i izmijenjenih prilika u ekosistemu mora. Pored ispitivanja zooplanktona i fitoplanktona, fizičkih i biokemijskih karakteristika mora, onečišćenje mora fenolima ima posebno značenje, jer na izravan način pokazuje stupanj kemijskog opterećenja morske vode.

U nas je do sada objavljeno vrlo malo podataka o određivanju koncentracije ukupnih fenola u morskoj vodi, a nema podataka o koncentraciji ukupnih fenola u manjim zonama Jadranskog mora, Split-Ugljan (1), Olib-Opatija-Poreč (2), Komiža-Biševo-Svetac (3), okolica Dubrovnika (4).

Nakon tih ispitivanja slijede nešto veći zahvati analiziranja priobalnog mora na koncentraciju ukupnih fenola i to na potezima Plomin-Karlobag (5), Karlobag-Makarska (6, 7), Makarska-Ulcinj (8). Osim ispitivanja koncentracije ukupnih fenola na površini priobalnog mora ispitan je i vertikalna raspodjela koncentracije fenola na mjestima Stončica i Pelegrin (9). U toku su ispitivanja vertikalne raspodjele koncentracije ukupnih fenola u okolici Splita (Kaštela, Marina, Čiovo, Omiš, Resnik, Stobreč) i Jabučke kotline južnog Jadrana, te Palagruža i Montegargana (10).

Poznato je da se već koncentracija fenola od 0,3 mg na litru vode smatra otrovnom za ribe. Primjera radi, navodimo da pastrva ugiba kod 3 mg fenola na litru vode u toku 24 sata, a neke druge ribe, kao npr. karas ugiba kod 23 mg fenola na litru vode (11). Prisutnost nekih klorira-

nih derivata fenola pokazuje toksične efekte na ribama i u koncentraciji manjoj od 0,2 mg na litru vode. Kod nižih koncentracija fenola ribe mogu primiti neugodan miris i promijeniti okus. Prisutnost kloriranih derivata fenola u koncentraciji koja je manja od 1 $\mu\text{g}/\text{l}$ može utjecati na okus pitke vode (12).

Prema nekim mišljenjima fenol i njegovi različiti derivati mogu biti tzv. »promotori« i u spoju s nekim tzv. »inicijatorom« ubrzavaju stvaranje raka (13).

Prethodni rezultati mjerenja koncentracije ukupnih fenola u morskoj vodi ponukali su nas da izmjerimo koncentraciju ukupnih fenola u morskoj vodi ali i u nekim biljkama i životinjama koje žive u zoni plime i oseke u području Riječkog zaljeva i otoka Visa. Tim mjerenjem može se dobiti neposredan uvid u stupanj kemijskog opterećenja morske vode, a možda bi se opazio i učinak na morskim organizmima, što je pak posebno važno, jer npr. dagnje, priljepak, ogrc, a i mnogi drugi morski organizmi služe kao živežne namirnice ili dapače kao jelo.

Dakle nije slučajno da je Organizacija za ekonomsku suradnju i razvoj, preko svog komiteta za vodu, izabrala upravo fenol u vodama kao prvo područje rada (14).

UZORCI I METODE

Područje našeg istraživanja protezalo se u Riječkom zaljevu od Opacije, Ičića, Ike do Lovrana, a na otoku Visu kod gradova Visa i Komiže, u mnogobrojnim uvalama. Područje Riječkog zaljeva uzeto je da se vidi utjecaj industrije i otpadnih voda iz turističkih mjesta. Područje otoka Visa odabrano je zbog toga što kroz Biševski kanal vrlo često prolaze nosači nafte, a u njihovim otpadnim vodama ima redovito fenolnih tvari. Uzorci biološkog materijala uzimani su u obližnjim uvalama, gdje se ispuštaju otpadne vode, industrije konzervi i termoplastike u Komiži i u uvalama kod grada Visa (Prirovo — muzej), gdje nema industrijskih otpadnih voda, nego samo otpadne vode iz grada.

Posebno su odabrane vrlo čiste uvale daleko od naselja na otoku Visu (Mali Kupinovac i Bile Stine) da bismo mogli usporediti koncentracije ukupnih fenola u morskim organizmima iz čistog mora i iz mora koje je onečišćeno otpadnim vodama.

Od najčešćih stanovnika priobalnog mora koji žive u zoni plime i oseke od biljaka uzete su za analizu *Acetabularia mediterranea*, *Dictyota dichotoma*, *Dictyopteris polypodioides*, *Cladophora prolifera*, *Fucus virsoides*, *Halimeda tuna*, *Nostoc* sp. i *Zostera Marina*, a od životinja *Actina equina*, *Carcinus* sp., *Littorina* sp., *Monodonta turbinata*, *Murex trunculus*, *Mytilus galloprovincialis*, *Mytilus minimus*, *Strongylocetrotus lividus* i *Patella vulgaris*.

Uzorci morske vode uzimani su u Winklerove bočice i fiksirani su bakrenim sulfatom. Biološki uzorci su nakon vađenja iz mora bili fiksirani

bakrenim sulfatom ili srebrnim sulfatom, a zatim stavljeni u sterilnu polietilensku vrećicu i čuvani na +4 do -5 °C, sve do analize.

Ukupni fenoli određeni su s 4-aminoantipirinom po metodi Jugoslavenskog standarda (15), a dijelom i s para-nitroanilinom po metodi *Walkleya* i sur. (16).

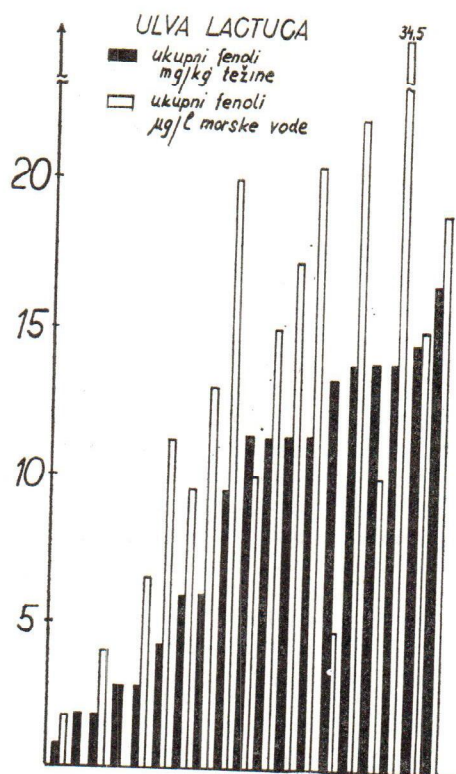
REZULTATI I DISKUSIJA

Koncentracija ukupnih fenola u morskoj vodi praćena je kroz duže vrijeme u ispitivanom području. U ljetnom periodu 1971. i 1972. kod Komiže koncentracija fenola kretala se od 4,0 do 95,5 μg na litru vode. U zaljevu grada Visa u istom periodu koncentracija fenola iznosila je od 1,4 do 4,8 μg na litru vode. U Riječkom zaljevu mjerena je koncentracija ukupnih fenola 1970. i 1971. i kod Opatije je iznosila 11,2 do 21,9 μg na litru morske vode. Vrijedno je reći da je kod Ike koncentracija ukupnih fenola bila 17,2 μg , kod Lovrana 9 μg , a kod Ičića, vjerojatno zbog jakih vrulja, koncentracija ukupnih fenola na litru morske vode iznosila je samo 1,8 μg . Na otoku Visu, u području čistog mora, Mali Kupinovac i Bile Stine, nije ustanovljena prisutnost fenola u morskoj vodi.

U deset uzoraka biološkog materijala iz uvala čistog mora na otoku Visu, Bile Stine i Mali Kupinovac, koncentracija ukupnih fenola kretala se od 0,6 do 2,87 mg/kg tjelesne težine, osim u jednom uzorku, u kojem je određeno 4,2 mg/kg. U području Riječkog zaljeva, kod Opatije, Ičića, Ike i Lovrana, te Komiže i Visa na otoku Visu, gdje se izlijevaju otpadne vode iz naselja i industrije, koncentracija ukupnog fenola u 67 različitih bioloških uzoraka kretala se od 0,3 do 23,4 mg/kg tjelesne težine. Kad se izuzme područje vrulja kod Ičića, gdje je koncentracija ukupnih fenola po kg težine biološkog uzorka bila od 0,3 do 4,0 mg/kg, onda je koncentracija ukupnih fenola u biološkim uzorcima priobalnog mora onečišćenog otpadnim vodama najčešće premašila te vrijednosti. Izračunati koeficijent koleracije za svih 77 bioloških uzoraka iznosi $r = +0,31$, što znači laku povezanost, a prema t-vrijednosti r je značajan i na razini manjoj od 1% ($P < 0,01$).

Kako je već navedeno, za analizu je uzeto 17 različitih vrsta stanovnika priobalnog mora, stoga nije čudno da je bilo većih razlika u koncentraciji ukupnog fenola po kg težine bioloških uzoraka i kad su uzeti iz istog staništa u moru. Zato mislimo da je prikladnije računati korelaciju koncentracije ukupnih fenola u morskoj vodi i koncentracije ukupnih fenola samo jedne vrste iz različitih staništa u moru. Budući da smo imali najveći broj mjerenja na morskoj salati (*Ulva lactuca*), uzeli smo te rezultate za računanje korelacije. Na slici 1 su rezultati mjerenja koncentracije ukupnih fenola u istodobno uzetim uzorcima morske vode i morske salate (*Ulva lactuca*).

Izračunati koeficijent korelacije $r = +0,69$ pokazuje visoku povezanost između koncentracije ukupnih fenola u morskoj vodi i u morskoj salati (*Ulva lactuca*), i prema t-vrijednosti r je značajan i na razini manjoj od 1% ($P < 0,01$).



Sl. 1. Koncentracija ukupnih fenola u uzorcima morske vode i morske salate (*Ulva lactuca*), istodobno uzetih iz različitih staništa priobalnog mora

Kod donošenja zaključaka na temelju rezultata našeg rada treba biti izuzetno oprezan. Mora se uzeti u obzir relativna nespecifičnost spektrofotometrijskih metoda, što je upozorila i *Helga Kunte* (13), pa smo mi u tekstu da bismo to naglasili upotrijebili naziv ukupni fenoli. Metodom koju propisuje JUS (14) mogu se odrediti fenol, orto i meta-supstituirani fenoli i oni para supstituirani fenoli u kojih je supstituent halogen, metoksilna grupa, hidroksi ili sulfonska grupa, a ne mogu se određivati para krezol i slični para supstituirani derivati (12).

Organske tvari mogu interferirati s reagensima što se koriste u metodi ali većina tih interferirajućih tvari eliminira se prethodnom destilacijom u kiselom mediju ili se tako reducira interferencija (12).

Zatim se mora uzeti u obzir prisutnost endogenog fenola, zbog metabolizma životinja i biljaka i s tim u vezi moguće varijacije biološkog odziva na prisutnost fenola u moru, s obzirom na vrstu, spol i dob organi-

zama. Dob i spol organizama bilo je teško odrediti od uzoraka uzetih iz njihova prirodnog staništa. Mjerenjem koncentracije ukupnih fenola u morskim organizmima iz staništa gdje nije ustanovljena prisutnost fenola u morskoj vodi, nastojalo se dobiti uvid o razini endogenog ukupnog fenola, međutim tu nisu dobiveni jednoznačni rezultati. Mora se naglasiti da, iako koncentracija ukupnog fenola bioloških uzoraka iz staništa gdje nije ustanovljen fenol u vodi, nije prelazila 5 mg/kg težine, dobivene su takve vrijednosti i u nekim biološkim uzorcima, kad je u moru koncentracija ukupnih fenola iznosila 10, 20, a u 3 slučaja čak 95 μ g/l morske vode, što se vjerojatno može tumačiti biološkim parametrima.

Ipak, iz statističke obrade rezultata vidi se da je koncentracija ukupnih fenola u biološkim uzorcima slijedila koncentraciju ukupnih fenola u morskoj vodi, što se osobito lijepo pokazalo na primjeru morske salate.

ZAKLJUČAK

Na temelju statističke obrade naših rezultata mjerenja koncentracije ukupnih fenola u morskoj vodi i u nekim priobalnim morskim organizmima može se zaključiti da povišenje koncentracije ukupnih fenola u vodi utječe na morske organizme. Taj utjecaj bio je najuočljiviji kod morske salate (*Ulva lactuca*), jer je kod iste vrste koncentracija ukupnog fenola slijedila koncentraciju ukupnog fenola u morskoj vodi.

Literatura

1. *Munjko, I., Jardas, I.*: *Proteus*, 33 (1970/71) 221.
2. *Munjko, I., Jardas, I.*: *More*, 13 (1970) 24.
3. *Jardas, I., Munjko, I.*: Institut za oceanografiju i ribarstvo, Split, Bilješka No. 29 (1972).
4. *Stilinović, B., Pavletić, Z., Munjko, I.*: II kongres mikrobiologa Jugoslavije, Opatija, 1972, Sažeci, str. 314.
5. *Pavletić, Z., Stilinović, B., Črc, Z., Munjko, I.*: *Acta Adriat.*, 14 (1972) No. 5.
6. *Munjko, I., Mikličan, R.*: *Voda sanit. teh.*, 2 (1972) 25.
7. *Pavletić, Z., Stilinović, B., Munjko, I.*: XXIII Congress C. I. S. M. E., Athenes, 1972, Communication No. 16.
8. *Munjko, I.*: *Poljoprivreda i šumarstvo*, 18 (1972) 29.
9. *Jardas, I., Munjko, I.*: *Savrem. biol.*, 13 (1972) 18.
10. *Jardas, I., Munjko, I.*: *Pomorski zbornik (Rijeka)*, u tisku.
11. *Liebmann, H.*: *Handbuch der Frischwasser und Abwasserbiologie*, J. R. Oldenbourg, München, 1960, str. 872.
12. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, American Public Health Association Inc., New York, 1962, str. 403.
13. *Kunte, H.*: *Zbl. Bakt. Hyg., I, Abt., Orig. B* 155(1971) 41.
14. *Water Management Sector Group, Organization for Economic Cooperation Development*, 1973, OECD-a NR(ENV) 73.5.
15. *Jugoslavenski standard, JUS H. Z. 1. 144.*
16. *Walkley, E. J., Pagnato, D. L., Elkins, H.*: *Amer. Ind. Hyg. Ass. J.*, 22 (1961) 362.

Summary

DETERMINATION OF PHENOL IN MARINE ORGANISMS

Phenol concentrations were determined in sea water and in some marine organisms living in coastal waters of the Kvarner Bay and the island of Vis. It seems that there is a relationship between the increased phenol concentrations in sea water and the concentrations of phenol in marine organisms.

*Institute for Medical Research and Occupational Health, and
Laboratory for Water Research, OKI, Zagreb*