

**МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ “проф. П. СТОЯНОВ” – ВАРНА
ФАКУЛТЕТ ПО ФАРМАЦИЯ**

КАТЕДРА ХИМИЯ

Мона Динкова Станчева

**УСТОЙЧИВИ ОРГАНИЧНИ ЗАМЪРСИТЕЛИ И ТЕЖКИ
МЕТАЛИ В ЧЕРНОМОРСКИ РИБИ**

АВТОРЕФЕРАТ

**на дисертационен труд
за присъждане на научна степен
“доктор на химическите науки”**

**по Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активни
вещества**

Варна, 2012

Дисертационния труд се състои от 206 страници, съдържа 66 фигури, 43 таблици, цитирани са 311 литературни източника.

Защитата ще се проведе на 2013 г от часа
ваудитория на Медицинския Университет – Варна.

СЪДЪРЖАНИЕ

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ.....	4
ВЪВЕДЕНИЕ.....	5
I. УСТОЙЧИВИ ОРГАНИЧНИ ЗАМРЪСИТЕЛИ – ПХБ, ДДТ И МЕТАБОЛИТИ.....	8
1. Кратка характеристика на ДДТ и ПХБ.....	8
2. Разработване на аналитична процедура за определяне на на ПХБ и хлорорганични пестициди.....	10
3. Експериментални резултати и дискусия.....	14
3.1. Съдържание на ПХБ.....	14
3.2. Съдържание на ДДТ и метаболити.....	30
II. ОПРЕДЕЛЯНЕ НА ТЕЖКИ МЕТАЛИ В ЧЕРНОМОРСКИ РИБИ.....	43
1. Аналитичен ход и резултати за периода 2004-2007г.....	45
2. Аналитичен ход и резултати за периода 2010-2011г.....	50
3. Анализ на черноморски миди, рапани и скариди.....	56
III. ОЦЕНКА НА БЕЗОПАСНОСТТА И КАЧЕСТВОТО НА ЧЕРНОМОРСКИ РИБИ КАТО ХРАНА.....	60
1. Оценка на безопасността по отношение на замърсяването с ПХБ, ДДТ и метаболити.....	60
2. Оценка за токсични метали.....	69
3. Оценка на качеството на черноморските риби като храна.....	70
3.1. Резултати за химичен състав и енергийна стойност.....	71
3.2. Мастнокиселинен състав на липиди.....	73
ИЗВОДИ.....	81
ПРИНОСИ.....	85
Списък на научни публикации.....	87
Списък на участия в научни форуми.....	89

СПИСЪК НА ИЗПОЛЗВАНИТЕ СЪКРАЩЕНИЯ

УОЗ	Устойчиви органични замърсители
ПХБ, PCB	Полихлорирани бифенили
ДДТ, DDT	Дихлордифенилтрихлороетан
ДДД, DDD	Дихлордифенилдихлоретан- метаболити на ДДТ
ДДЕ, DDE	Дихлордифенилетилен- метаболит на ДДТ
PBDEs	Полибромирани дифенил етери
ПХДФ	Полихлорирани дибензофурани (Фурани)
ПХДД	Полихлорирани дибензодиоксини (Диоксини)
PBDEs	Полибромирани дифенил етери
ОХП	Органохлорни пестициди
ХХБ	Хексахлорбензен
ХХЦ	Хексахлорциклохексан
TEF	Токсичен еквивалентен фактор
TEQ	Токсична еквивалентна концентрация
TDI	Условно допустим дневен прием
PTWIs	Препоръчителен допустим седмичен прием
МДГ	Максимално допустими граници
МК	Мастни киселини
НМК	Наситени мастни киселини
МНМК	Мононенаситени мастни киселини
ПНМК	Полиненаситени мастни киселини
АЛА	Алфа- линоленова киселина, 18:3
ЛА	Линолова киселина, 18:2
ЕРА	Ейкозапентаенова киселина, 20:5, (омега-3)
ДНА	Докозахексаенова киселина, 22:6, (омега-3)
АРА	Арахидонова киселина, 20:4
ААС, AAS	Атомноабсорбционна спектрометрия
ЕТААС	Електротермична атомноабсорбционна спектрометрия
ICP-AES	Атомноемисионна спектрометрия а индуктивно-свирзана плазма
ГХ/ЕУД	Газова хроматография с електронно улавящ детектор
ГХ/МС	Газова хроматография с масспектрометър
СЗО, WHO	Световна Здравна организация
ЕС, EU	Европейски съюз
IUPAC	Международен съюз за чиста и приложна химия
FAO	Световна организация по прехрана и земеделие
EPA	Американската агенция по опазване на околна среда
JECFA	Смесен експертен комитет на FAO/СЗО по хранителните добавки
UNEP	Програма за околна среда на обединените науки
ЕК	Европейска комисия
EFSA	Европейски орган по безопасност на храните
МОСВ	Министерство на околната среда и водите

ВЪВЕДЕНИЕ

Развитието на науката и технологиите в началото на миналия век доведе до производството на широка гама индустриални химикали, като пестициди, торове, лекарства, препарати за промишлено и битово потребление и др. Положителният ефект от използването им в световен мащаб е голям, както за индустрията и селското стопанство, така и за здравето на хората.

След тяхната масовата употреба, много учени проведоха широкомащабни епидемиологични и токсикологични изследвания, които категорично доказаха, че много от тези химикали и техни странични продукти, притежават висока токсичност, опасни са за околната среда и човека. Класически пример в това отношение са хлорорганичните пестициди, използвани масово в селското стопанство през 60-те години на миналия век, които се оказаха силно токсични, с голяма устойчивост и способност да се натрупват в живите организми. Установи се, че те променят биологичната стойност на хранителните продукти и предизвикват неблагоприятни последици за човешкото здраве и околната среда. Това доведе до въвеждане на забрана за производството и употребата им.

Аналогична е ситуацията и с полихлорираните бифенили (ПХБ), произведени в големи количества през периода 1950 – 1970г., широко използвани в различни области на индустрията, в последствие също забранени за производство и употреба. Въпреки забраната, те продължават да попадат в околната среда, като източници са отработени масла, стари електрически съоръжения и домакински електроуреди, при горенето на отпадъци, където се образуват още по-токсичните и опасни диоксини и фурани.

Проблемът със замърсяването на околната среда с посочените и подобни на тях органични съединения, известни като устойчиви органични замърсители (УОЗ) е глобален и решенията трябва да бъдат взети в световен мащаб. Това доведе до приемане на Стокхолмската конвенция през 2001 г., която беше създадена с цел опазване здравето на хората и околната среда от въздействието на УОЗ. България подписва Конвенцията през 2005 г., Национален орган по изпълнението на задълженията по нея е Министерството на околната среда и водите.

Според Конвенцията, **устойчивите органични замърсители** притежават токсични свойства, трудно се разграждат, натрупват се в организмите и хранителната верига, пренасят се по въздуха, водата и чрез мигриращите биологични видове през международните граници могат да се отлагат далече от мястото на тяхното изпускане, акумулират се в екосистемите. Първоначално в конвенцията са включени 12 замърсители, това са хлорорганични пестициди, полихлорирани бифенили, диоксини и фурани, а в последствие още 10. Общото за всички УОЗ е това, че трайно замърсяват околната среда, по хранителната верига могат да попаднат в човешкия организъм, където се акумулират и да предизвикат тежки разстройства на имунната, репродуктивната нервната системи и др. Това е причината и ООН чрез Програмата за околна среда (UNEP) да предприеме интензивни действия за предотвратяване на тази заплаха.

Въпреки, че експозицията на човека с УОЗ и тежки метали може да се осъществи по различен начин, храната е основния източник за попадането им в организма на човека. Това са предимно храни от животински произход, богати на мазнини, където тези замърсители се натрупват.

Редица учени определят рибите като един от най-подходящите биоиндикатори за оценка на замърсяването на околната среда, не само поради факта, че водните басейни акумулират в значителни количества УОЗ и тежки метали, но и поради бавното им разграждане в тъканите на рибите. Също така, определянето на УОЗ и токсични метали в рибите е много важно за оценката на експозицията на населението и на здравния риск в даден район. Установено е, че основно чрез консумацията на риба, рибни продукти и други морски организми, тези замърсители попадат в човешкия организъм. Затова морската храна и най-вече рибите като храна, са с висок риск, поради високото си липидно съдържание, способността да натрупват тези замърсители и голямата консумация.

Морската храна, особено рибата, е важен източник на хранителни вещества, които са в основата на балансираното хранене. Тя съдържа висококачествени протеини и липиди, които притежават висока биологична стойност, а също така витамини и важни биогенни елементи. Рибните липиди се характеризират с по-ниски нива на наситени мастни киселини и по-високи на ненаситени. Те са основен източник на изключително важните за организма

дълговерижни полиненаситени мастни киселини, между които са омега-3 и омега-6 киселините. Тези незаменими за човешкия организъм киселини се доставят с храната, като основен източник са рибите и други морски храни. Те участват в изграждането на клетъчните мембрани, в синтеза на важните ейкозаноиди, които са свързани с регулирането на обмяната на веществата в клетките, кръвното налягане, както и стимулиране на имунния отговор. Доказано е, че омега киселините имат защитен ефект в превенцията на коронарната болест на сърцето и други сърдечносъдови заболявания, подпомагат дейността на мозъка, оказват влияние върху зрението, остеопорозата, различни видове рак, депресии и пр.

И така, възниква въпросът за ползата и риска от използването на рибата като храна. Безспорно в най-голяма степен ползата е свързана с протеините и незаменимите полиненаситени мастни киселини, докато рискът – с различните замърсители, които рибите акумулират от околната среда, като в най-голяма степен това са УОЗ и тежките метали. От гледна точка на здравето, рискът трябва да има приоритет и да бъде оценен. Тъй като, нашите черноморски риби не са изследвани за съдържание на УОЗ и тежки метали и не е правена оценка на риска, е разработена дисертацията.

ОСНОВНА ЦЕЛ

Определяне съдържанието на устойчиви органични замърсители – полихлорирани бифенили, ДДТ и тежки метали в черноморски риби, във връзка с тяхната безопасност като храна и за оценка на замърсяването на Черно море.

Ще бъдат представени изследвания и резултати в следните три направления:

- **Определяне съдържанието на ПХБ, ДДТ и метаболити в различни видове черноморски риби;**
- **Определяне съдържанието на тежки метали в черноморски риби и някои мекотели;**
- **Оценка на безопасността и качеството на черноморските риби като храна;**

Във всяко едно от посочените направления са разработени конкретни задачи.

I. УСТОЙЧИВИ ОРГАНИЧНИ ЗАМЪРСИТЕЛИ – ПХБ, ДДТ И МЕТАБОЛИТИ

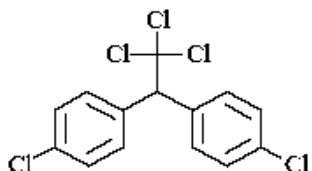
1. КРАТКА ХАРАКТЕРИСТИКА НА ДДТ И ПХБ

В различни видове черноморски риби ще бъдат определяни следните устойчиви органични замърсители:

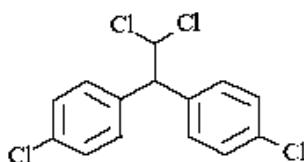
- Дихлордифенилтрихлороетан (ДДТ) и неговите метаболити:
 - Дихлордифенилдихлороетилен (ДДЕ)
 - Дихлордифенилдихлороетан (ДДД)
- Полихлорирани бифенили (ПХБ, РСВ)

ДДТ и метаболити

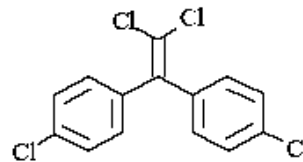
ДДТ е използван широко в селското стопанство за борба с вредители по различни селскостопански култури. В околната среда и в различни видове морски организми ДДТ бавно метаболизира до ДДЕ и ДДД, като при отделните видове се наблюдават разлики в степента на биотрансформация. Структурните формули на ДДТ и неговите метаболити са :



p,p'-ДДТ
C₁₄H₉Cl₅



p,p'-ДДД
C₁₄H₁₀Cl₄

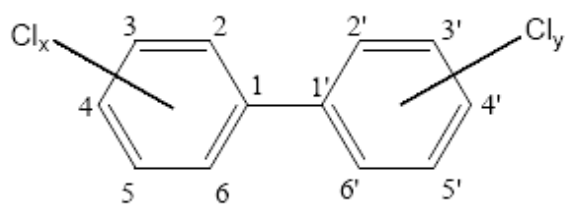


p,p'-ДДЕ
C₁₄H₈Cl₄

ДДЕ е най-често срещания метаболит на ДДТ, който също се разгражда много бавно. Въпреки забраната за употреба ДДТ, все още големи количества от метаболитите се намират в околната среда и представляват опасност за здравето на хората.

Полихлорирани бифенили

Полихлорираните бифенили (ПХБ, РСВ) са синтетични хлорирани ароматни въглеводороди с химична формула **C₁₂H_{10-n}Cl_n**, където **n** е броя на хлорните атоми в молекулата. Структурната формула е следната:



Водородните атоми на отбелязаните позиции в бифенилната молекула могат да бъдат заместени с хлорни атоми. Така теоретично се получават 209 изомерни полихлорирани бифенили, наречени конгенери, но само около 130 от тях са били получени и използвани за различни цели.

В научната литература първите данни за вредното им въздействие върху човека се появяват през 40-те години на миналия век, което в последствие е доказано. Това води до ограничаване на производството и употребата им, а през 1985 г. – до пълната забрана, но големи количества от тях са все още в околната среда. Установено е, че при високи температури и при процеси на горене, от ПХБ могат да се получат други по-токсични съединения – диоксини и фурани.

Храната е основен източник, чрез който УОЗ попадат в организма на човека. Това са храни от животински произход, съдържащи мазнини, като най-много с рибата и други морски дарове. Рибите акумулират в тъканите си тези замърсители и трудно ги разграждат, затова те могат да се използват като биоиндикатори за оценка на замърсяването на даден воден басейн и район. Данните за съдържанието им в рибите са много важни също така за оценка на експозицията на населението и здравния риск.

Изследванията на УОЗ в черноморски риби са малко, най-вече се срещат данни на турски автори, а за рибите от българската част на Черно море – липсват. В България анализите на УОЗ са много ограничени и все още не е въведен контрол на замърсяването на храните. Затова бяха поставени и реализирани следните задачи:

- Разработване на аналитична процедура за определяне на хлорорганични пестициди и ПХБ в една и съща проба в храни, богати на мазнини;
- Прилагане на аналитичната процедура при определяне на тези замърсители в черноморски риби;

- Получаване на данни за съдържанието на ПХБ, ДДТ и метаболити в различни видове черноморски риби, които да се използват за оценката на безопасността на рибите като храна и на замърсяването на Черно море;
- Статистически анализ на резултатите за оценка на замърсяването по години, по място на улов и по видове риби;

2. РАЗРАБОТВАНЕ НА АНАЛИТИЧНА ПРОЦЕДУРА ЗА ОПРЕДЕЛЯНЕ НА ПОЛИХЛОРИРАНИ БИФЕНИЛИ И ХЛОРООРГАНИЧНИ ПЕСТИЦИДИ

Аналитичната процедура включва следните етапи:

- Пробонабиране;
- Съхранение на пробите и изготвяне на средна лабораторна проба и проба за анализ;
- Извличане (екстракция) на липидите и определяне на общото липидно съдържание;
- Пречистяване на екстракта;
- Качествено и количествено определяне;
- Валидиране на метода и контрол на качеството на анализите;
- Статистическа обработка и анализ на резултатите;

Пробонабиране

Избрани са 10 вида черноморски риби, които имат най-голямо стопанско значение за България. Това са трикона, кая, сафрид, карагъоз, кефал, барбуна, паламуд, чернокоп, калкан и зарган. Различните видове риби са пробонабирани от пазари, рибни борси и от рибари в пет последователни години (2007 - 2011) от три района на нашето Черноморско крайбрежие – Север (Крапец, Каварна, Балчик), Варна (Варненски залив, Варненско езеро, Камчия, Бяла), Юг (Несебър, Бургас, Приморско).

Съхранение на пробите, изготвяне на средна лабораторна проба и проба за анализ

Средната проба е изготвена на мястото на пробовземане. Пробите са транспортирани до лабораторията в хладилна чанта. Те се анализират веднага

или се замразяват и съхраняват във фризер при -18°C . Рибите от средната проба се филетират – отделят се ядивните части, които се смилат и така получената рибна маса се хомогенизира. Само при трицоната рибите са смилани цели без главите. От така подготвената проба се претеглят 20g и се изготвя аналитичната проба. Към всяка проба се добавя вътрешен стандарт и тя се подлага на екстракция.

Извличане на липидите и определяне на общото липидно съдържание

Извличането на липидите се извършва чрез екстракция в Сокслет апарат със смес от органичните разтворители хексан и дихлорметан в съотношение 3:1 в продължение на 16 ч. Получените екстракти се концентрират при използване на ротационен вакуум изпарител до точно определен обем, от който се вземат аликвотни части за анализ и за определяне на съдържанието на липидите. Количеството на липидите се определя тегловно по стандартизиран метод след сушене при 90°C .

Пречистване на екстракта

Пречистването на екстрактите и изолирането на ДДТ и ПХБ е осъществено едновременно в една адсорбционна колона, напълнена със силикагел и използването на два елуента – хексан и дихлорметан. Пречистеният екстракт се концентрира на вакуум ротационен изпарител и след това под ток от азот се изпарява до полусух остатък. Преди газхроматографското определяне екстрактът се разтваря в хексан.

Качествено и количествено определяне

Използваният в настоящата работа газхроматографски метод за качествен и количествен анализ на органохлорните пестициди и полихлорираните бифенили в рибни проби се основава на БДС EN 1528:2001 и EPA /United States Environmental Protection Agency/ метод № 1668a Chlorinated Biphenyl Congeners in Water, Soil, Sediment, and Tissue by HRGC/HRMS. Газхроматографското определяне е извършено на капилярна колона при два различни инструментални режима (температурни програми и MS/MSⁿ режим на

детектора). Използвана е газхроматографска система на фирмата Thermo Scientific, USA, модел Focus GC с масспектрометър модел Polaris Q. Хроматографските условия са оптимизирани при използване на сертифицирани стандартни разтвори. Те са следните:

- за ДДТ и метаболити - сертифициран многокомпонентен стандартен разтвор EPA 625/CLP Pesticides Mix, Supelco с концентрация 2000 µg/ml.
- за ПХБ – сертифициран разтвор на смес от 20 конгенера /PCB mix 20/ на фирмата Dr Ehrenstorfer, Germany с концентрация на всеки аналит 1 µg/ml.

Валидиране на метода и контрол на качеството на анализите

Валидирането е осъществено съгласно изискванията на БДС EN ISO/IEC 17025:2005 по следните параметри: **линейност (линеен диапазон), граница на откриване, граница на определяне, аналитичен добив и повторяемост.**

Линейност (линеен диапазон) - определена е за петнадесетте ПХБ, за ДДТ и метаболити, както и за използваните вътрешни стандарти.

Калибровъчната крива за масспектрометричния детектор е получена чрез трикратно анализиране на стандартни разтвори в шест концентрационни нива в интервала от 5 – 500 ng/ml за ДДТ и метаболити и от 5 - 100 ng/ml - за ПХБ.

Граница на откриване: за различните конгенери ПХБ варира от 0,5 до 2 ng/g lw , а за ДДТ и метаболити е 0,5 ng/g lw

Граница на определяне: 5 ng/g lw.

Аналитичен добив - за изчисляване на аналитичния добив е използван методът на стандартната добавка, като са добавени определени количества стандартни разтвори на ПХБ и ДДТ. Определеният добив е между 76 % и 105 % за отделните ПХБ и ДДТ.

Повторяемост: За изчисляването са използвани данните, с които е изчислен аналитичния добив. Повторяемостта (RSD) е ± 25%.

Газхроматографският метод е валидиран с два сертифицирани референтни материала: от черен дроб на треска – CRM-BCR 598 Cod liver за ДДТ и метаболити и масло от съомга – CRM-BB 350 Fish oil – за ПХБ. Резултати

от анализа на референтните материали и изследвани рибни проби показват съответствие и са представени в таблица 1.

Таблица 1. Резултати от анализа на сертифицирани референтни материали

BCR 598 COD LIVER OIL	СЕРТИФИЦИРАНА СТОЙНОСТ (mg/kg)	РЕЗУЛТАТ (mg/kg)
p,p-DDE	0.61 ± 0.04	0.595 ± 0.078
p,p-DDD	0.40 ± 0.03	0.414 ± 0.045
p,p-DDT	0.179 ± 0.018	0.153 ± 0.024
BCR 349 Fish oil	Сертифицирана стойност (ng/g)	Резултат (ng/g)
PCB 28	21.3 ± 1	25.4 ± 2
PCB 52	37.4 ± 2	36.2 ± 2
PCB 101	111.0 ± 5	112.4 ± 12
PCB 118	84.0 ± 4	83.3 ± 9
PCB 153	220.0 ± 11	252.3 ± 25
PCB 105	25.8 ± 2	25.5 ± 2
PCB 138	137.0 ± 10	125.5 ± 9
PCB 180	67.0 ± 4	71.0 ± 8

Статистическа обработка и анализ на резултатите

За статистическата обработка на резултатите е използвана програмата SPSS 16. Определени са следните статистическите величини:

- средна аритметична стойност, стандартно отклонение, относително стандартно отклонение;
- средна геометрична стойност, стандартно отклонение на средната геометрична;

При анализа на резултатите са приложени следните статистически тестове:

- на Колмогоров - Смирнов - за определяне вида на разпределението (хомогенността на извадката);
- на Стюдент - Фишер – за определяне на статистическите параметри и сравняване на сериите резултати;
- на Спирман (при малка извадка) и на Пирсен при достатъчно на брой данни – за проверка на корелацията между отделните серии резултати;

3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЯ

Изследвани са 94 проби от различните видове риби, събрани от трите района на българската част на Черно море. С най-високо липидно съдържание са карагьоз, чернокоп и барбуна (22.8%, 17.9% и 15.9% съответно), а с най-ниско - кая (2.2%) и калкан (1.6%). При останалите видове липидното съдържание варира от 6.45% при трикона до 12.1% при сафрид.

3.1. СЪДЪРЖАНИЕ НА ПОЛИХЛОРИРАНИ БИФЕНИЛИ

Определени са концентрациите на 15 конгенери ПХБ с номера по IUPAC: **28*, 31, 52*, 77, 101*, 105, 118*, 126, 128, 138*, 153*, 156, 169, 170, 180***). Седем от тях ПХБ, отбелязани със звездичка се наричат **индикаторни (*target)** конгенери и се използват най-често за оценяване на замърсяването, както на околната среда, така и на различни видове храни (Commission EU, 2010). Сред определените 15 конгенери ПХБ са и **диоксиноподобните ПХБ**, които са с номера **77, 105, 118, 126, 156, 169, 170, 180**, те имат токсичност, подобна на диоксините. Диоксиноподобните ПХБ се използват за оценка на риска от консумацията на храни, замърсени с ПХБ, в това число и на риба. Световната здравна организация е определила токсични еквивалентни фактори (**TEF**), на базата на които се изчисляват токсични еквиваленти концентрации (**TEQ**).

Съдържанието на полихлорираните бифенили, като сума от 15-те определяни конгенера **/Σ ПХБ/** за всяка анализирана рибна проба през целия период на проучването, са представени в **таблица 2**. Сумарното количество ПХБ е определено като ng/g lw (на база липидно тегло) и като ng/g ww (на база свежо тегло). Първият начин на представяне се използва най-често, когато се прави оценка на замърсяването на различни елементи на околната среда, при различни видове животни, в случая при различните видове риби. Представянето на данните на база свежо тегло се предпочита, когато трябва да се прави оценка на замърсяването на дадена храна и да се сравняват резултатите с определени максимално допустими граници, т.е. когато се прави оценка на безопасността на храните.

Таблица 2. Резултати за ПХБ като сума от 15-те конгенера

Вид риба	Година	Място	Σ PCB, ng/g lw	Σ TargetPCB ng/g lw	Σ PCB, ng/g ww	Σ TargetPCB, ng/g ww
Кая- есен	2007	Траката	955.81	832.21	34.01	29.61
Кая - есен	2007	Кранево	264.90	224.20	10.44	8.83
Кая- есен	2007	Приморско	300.50	300.51	3.93	3.93
Кая- есен	2007	Бяла	532.22	451.52	18.38	15.60
Кая - пролет	2008	Крапец	855.91	801.31	16.64	15.58
Кая - есен	2008	Каварна	339.20	283.25	10.11	8.44
Кая - пролет	2008	Варна езеро	702.82	607.92	16.77	14.50
Кая - пролет	2008	Бяла	422.71	380.51	7.36	6.63
Кая - есен	2008	Поморие	306.50	283.10	13.06	12.06
Кая - пролет	2009	Траката	202.32	202.34	3.46	3.46
Кая - пролет	2009	Варна - езеро	1032.43	941.30	10.93	9.97
Кая - есен	2009	Бургас	488.90	488.91	5.31	5.31
Кая - пролет	2009	Кранево	411.14	411.16	5.04	5.04
Кая - есен	2009	Балчик	663.52	663.51	4.43	4.43
Кая пролет	2010	Траката	309.52	309.50	2.09	2.09
Кая- пролет	2010	Крапец	634.81	512.81	9.19	7.42
Кая - есен	2011	Варна	496.80	496.81	4.27	4.27
Кая пролет	2011	Крапец	489.33	489.31	3.02	3.02
Трициона- есен	2007	Несебър	300.42	244.46	18.86	15.35
Трициона - есен	2007	Несебър	253.21	213.11	15.92	13.41
Трициона- есен	2007	Крапец	393.00	353.13	12.54	11.27
Трициона - есен	2008	Несебър	149.74	134.62	12.80	11.51
Трициона- пролет	2008	Траката	270.60	246.61	15.48	14.10
Трициона - пролет	2009	Варна	190.34	172.12	15.29	13.83
Трициона - есен	2009	Несебър	334.80	267.81	22.68	18.14
Трициона - пролет	2010	Несебър	725.01	587.04	22.96	18.59
Трициона - пролет	2010	Траката	166.02	125.62	7.50	5.67
Трициона- есен	2010	Зеленка	224.51	154.71	9.65	6.65
Трициона пролет	2011	Варна	258.14	258.12	8.46	8.46
Кефал - есен	2007	Каварна	567.72	491.81	51.51	44.62
Кефал- есен	2007	Несебър	263.51	225.02	18.37	15.68
Кефал- есен	2007	Балчик	115.14	104.04	14.24	12.87
Кефал - есен	2008	Камчия	205.90	180.11	19.92	17.43
Кефал - есен	2008	Бургас	111.00	100.43	12.88	11.65
Кефал - есен	2009	Каварна	191.52	171.52	13.77	12.33
Кефал - пролет	2009	Варна езеро	511.91	406.61	10.40	8.26
Кефал - есен	2009	Несебър	153.80	129.75	13.92	11.74
Кефал - пролет	2010	Несебър	35.01	35.00	2.73	2.73
Кефал - есен	2010	Несебър	74.91	57.61	7.95	6.11
Кефал пролет	2010	Варна езеро	104.65	85.03	7.06	5.74

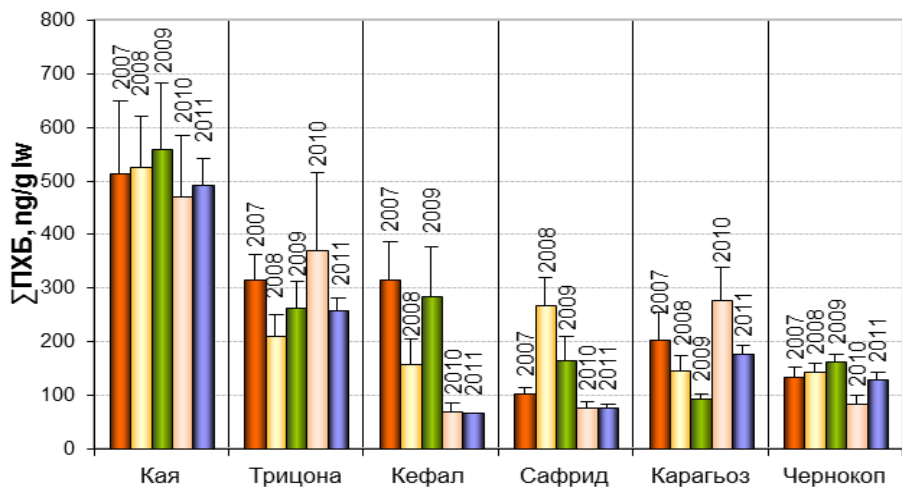
Кефал пролет	2011	Варна езеро	66.92	66.91	4.70	4.70
Сафрид- есен	2007	Варна	79.41	79.45	6.91	6.90
Сафрид - есен	2007	Каварна	94.60	84.81	13.14	11.82
Сафрид- есен	2007	Несебър	135.21	120.00	13.60	12.12
Сафрид- есен	2007	Бяла	108.22	94.94	11.28	9.93
Сафрид - пролет	2008	Бяла	259.81	232.50	13.22	11.82
Сафрид - пролет	2008	Балчик	304.90	275.33	16.03	14.51
Сафрид - пролет	2008	Варна	403.04	366.22	25.56	23.21
Сафрид - есен	2008	Бяла	106.90	91.21	13.64	11.62
Сафрид - пролет	2009	Траката	313.44	266.54	24.99	21.22
Сафрид - есен	2009	Каварна	117.43	93.46	22.74	18.13
Сафрид - есен	2009	Несебър	73.26	61.35	16.97	14.21
Сафрид - есен	2009	Крапец	160.81	135.01	34.61	29.10
Сафрид - пролет	2010	Траката	68.95	68.90	7.99	8.01
Сафрид - есен	2010	Несебър	73.80	57.31	8.89	6.92
Сафрид - есен	2010	Балчик	59.41	40.63	5.53	3.84
Сафрид пролет	2010	Несебър	113.60	79.32	10.28	7.18
Сафрид пролет	2011	Балчик	90.81	90.81	3.04	3.04
Сафрид есен	2011	Варна	60.60	60.63	12.16	12.16
Карагьоз-пролет	2007	Балчик	210.84	173.91	42.80	35.30
Карагьоз - есен	2007	Приморско	312.80	252.90	59.66	48.20
Карагьоз- есен	2007	Каварна	86.31	86.33	8.40	8.44
Карагьоз- - есен	2008	Балчик	188.54	153.01	44.47	36.12
Карагьоз - есен	2008	Галата	104.90	89.60	28.64	24.51
Карагьоз - пролет	2009	Каварна	100.21	94.72	23.62	22.33
Карагьоз - есен	2009	Камчия	102.12	87.21	32.82	28.11
Карагьоз - есен	2009	Поморие	82.00	68.33	21.97	18.31
Карагьоз - есен	2010	Балчик	255.10	217.00	44.79	38.12
Карагьоз пролет	2010	Траката	161.81	141.14	35.10	30.60
Карагьоз пролет	2010	Балчик	419.81	370.52	63.58	56.12
Карагьоз	2011	Каварна	176.90	157.01	44.75	39.71
Чернокоп- есен	2006	Несебър	134.64	118.00	17.38	15.24
Чернокоп - есен	2008	Ахтопол	145.32	116.43	32.12	25.72
Чернокоп - есен	2009	Несебър	145.51	117.14	27.77	22.35
Чернокоп - есен	2009	Варна	126.12	108.91	27.57	23.81
Чернокоп - есен	2009	Несебър	220.81	184.82	29.40	24.61
Чернокоп - есен	2010	Крапец	144.93	121.71	29.94	25.14
Чернокоп - есен	2010	Несебър	25.62	25.62	5.61	5.61
Чернокоп - есен	2011	Варна	130.52	130.53	22.49	22.49
Паламуд - есен	2007	Несебър	190.91	173.22	15.29	13.87
Паламуд - есен	2008	Поморие	171.62	113.31	6.73	4.45
Паламуд - есен	2009	Несебър	309.31	255.30	59.37	49.02

Паламуд - есен	2010	Несебър	109.62	93.26	14.80	12.58
Зарган- есен	2007	Галата	169.64	153.81	17.75	16.10
Зарган- есен	2008	Каварна	346.20	315.42	30.33	27.64
Зарган - есен	2009	Несебър	335.20	276.91	23.95	19.79
Зарган	2011	Варна	178.53	178.52	15.47	15.47
Калкан - есен	2007	Каварна	830.91	712.91	18.34	15.74
Калкан - пролет	2008	Балчик	494.40	494.42	4.41	4.41
Калкан - есен	2009	Несебър	280.85	280.85	4.83	4.83
Калкан	2011	Варна	681.60	681.60	10.41	10.41
Барбуна - есен	2009	Несебър	261.42	216.62	45.72	37.89
Барбуна - есен	2010	Несебър	115.71	115.71	16.53	16.53
Барбуна - есен	2011	Несебър	165.02	165.00	28.02	28.02

Посочените резултати в горната таблица са използвани при сравняване на резултатите за замърсяването с ПХБ по години, райони на улов и по видове риби, както и при оценката на безопасността на изследваните риби като храна.

Динамика на замърсяването с ПХБ по години

На фиг.1 са представени средните годишни концентрации на Σ ПХБ при различни видове риба.

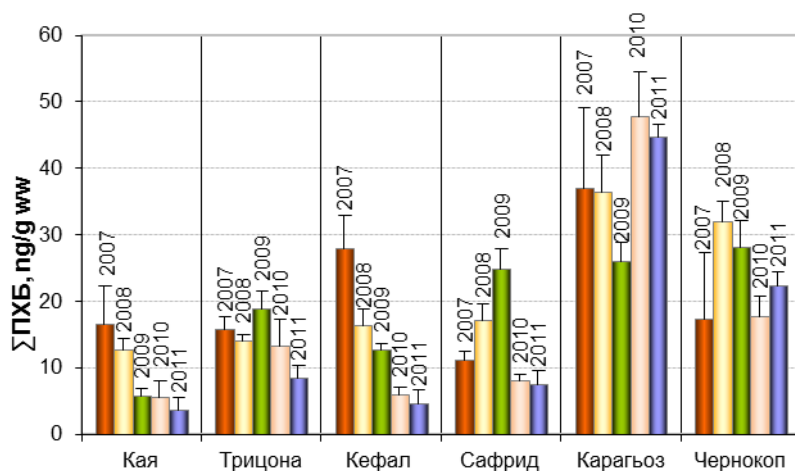


Фиг. 1

Σ ПХБ, ng/g lw по години и по видове риби

При каята и чернокопа не се наблюдава съществена промяна на замърсяването по години. При кефала, сафрида и карагъоза има по-големи промени, но за последните две години при кефала и сафрида се наблюдава намаляване, докато при карагъоза, обратно - нарастване. Колебания има и при трицоната, като съдържанието на ПХБ е сравнително високо за целия период.

На следващата графика (фиг. 2) са представени резултатите, изчислени на база свежо тегло за същите видове риба. Профилът е различен от този, представен на фиг. 1. Със значително по-високо съдържание на ПХБ са рибите карагъоз и чернокоп, които се характеризират с високо липидно съдържание, докато каята, която се характеризира с ниско липидно съдържание – показва най-ниски стойности.



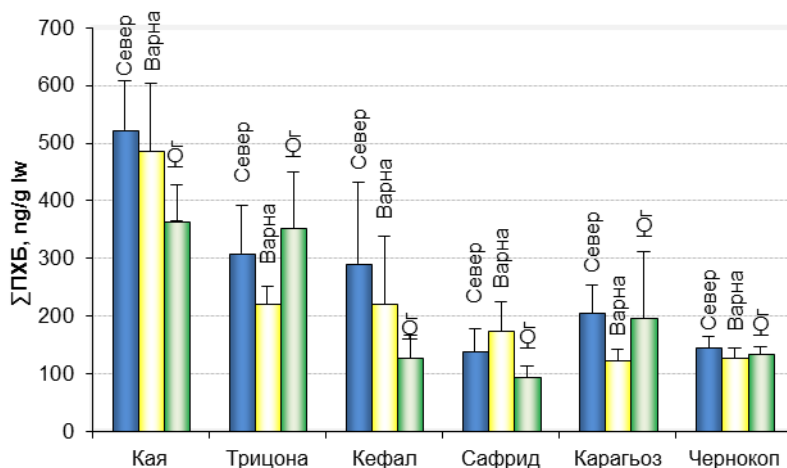
Фиг. 2

ΣПХБ, ng/g ww по години и по видове риби

В пробите от кая и кефал през периода 2007-2011г. средната стойност на ΣПХБ намалява като най-ниска стойност се наблюдава през 2011г. Не се наблюдават резки колебания в средните стойности на общото съдържание на ПХБ в пробите трициона през изследвания период. Но и тук през 2010 и 2011г. има намаляване. При сафрида през първите три години се наблюдава нарастване на концентрацията, след което намалява. При карагъоза, където стойностите са най-високи, не се наблюдава тенденция към понижаване на съдържанието на ПХБ. Тази рибен вид се характеризира с това, че през размножителния период (летни месеци) мигрира в река Дунав, след което се връща отново в Черно море.

Замърсяването с ПХБ по място на улов

За да се сравнят стойностите на замърсяването с ПХБ между различните видове риби, концентрациите са изчислени на база липидно тегло (екстрахирани липиди). На фиг. 3 са показани определените средни концентрации на ΣПХБ в ng/g lw за седем вида риба по райони на пробовземане.

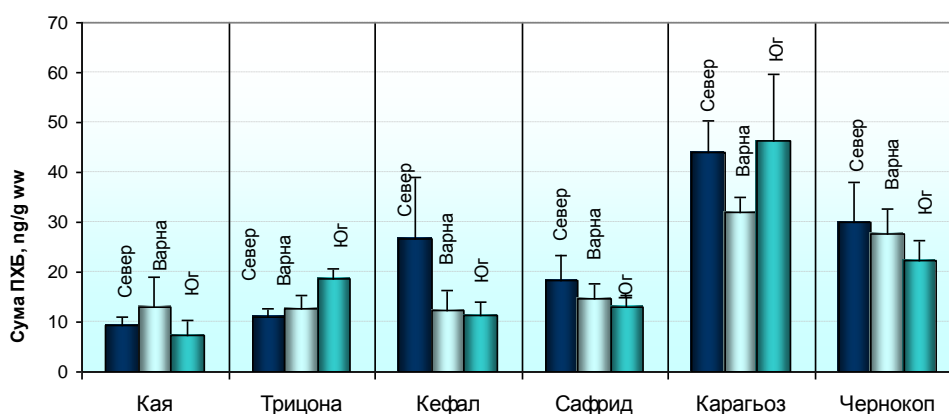


Фиг. 3

Средни концентрации на ΣPХБ, ng/g lw по райони на пробоземане

Установените средни концентрации на ПХБ в рибите кая, кефал и сафрид от район юг са с най-ниски стойности, а при трицона и карагъоз – стойностите на юг са най-високи. При каята и кефала по-високи стойности се установяват в пробите от райони север и Варна. Сравнително еднакво е замърсяването в трите района на изследване при рибите сафрид, карагъоз и чернокоп.

На фиг. 4 са показани измерените средни концентрации на ΣPХБ на база свежо тегло (ng/g ww) за 7 вида риба по райони на пробоземане. Профилът се различава от този, представен на фиг. 4.



Фиг. 4

ΣPХБ, ng/g ww по видове риби и райони на пробоземане

Няма съществена разлика в замърсяването с ПХБ по райони при кая, трицона и сафрид, докато при кефал район север се отличава с по-висока

концентрация, при чернокоп – райони север и Варна. Най-високо е съдържанието на ПХБ в пробите от карагьоз и за трите района.

Установените най-високи стойности за кая са от район Варна - Σ ПХБ – 13.1 ng/g ww. При триона най-високи концентрации са измерени в пробите от район Юг – 18.6 ng/g ww. Само при кефал има значителна разлика между район на пробовземане Север – 26.5 ng/g ww и другите два района. Каята и кефалът са видове, които обикновено обитават плитки води с пясък или кални дъна по крайбрежието, устията на реките и пристанищата, които се считат за по - силно замърсени. Тези видове могат да служат като биоиндикатори за местно замърсяване. Мигриращите видове риба като сафрид, карагьоз, чернокоп, зарган и паламуд навлизат през летните месеци в Черно море от региона на Мраморно и Средиземно море. Поради това не могат да се правят оценки за замърсяването на определен регион на база резултати за мигриращи видове риба, уловени от дадено място по нашето Черноморско крайбрежие. Данните от тези проучвания могат да се използват за оценка на замърсяването на Черно море като екосистема.

Статистически анализ на резултатите за ПХБ

Представянето и анализът на резултатите от изследванията е проблем, който и досега не е решен еднозначно, което безспорно затруднява интерпретацията на данните и сравняването им. Единствено има съвпадение на представянето, когато трябва да се покаже дали дадена храна е «опасна» или не от токсикологична гледна точка, т.е. дали TEQ е по-нисък или по-висок от приетия като норма за Европейския съюз (Regulation 1881/2006). Във всички останали случаи се използват три начина за обобщение и анализ на получените резултати:

- **чрез средната аритметична и нейното разсейване;**
- **медианата с минимума и максимума;**
- **средната геометрична и нейния доверителен интервал.**

Няма общоприети критерии за това как да бъде избран подхода. Това се решава субективно от съответните научни колективи. Поради факта, че по принцип резултатите за съдържание на ПХБ в дадена серия проби варират в широки граници и в редица случаи не следват нормално гаусово

разпределение, използването на средната аритметична стойност би довело до не съвсем коректни изводи от статистическа гледна точка.

Използването на медианата е приемливо от статистическа гледна точка, като информацията е по-обективна. В този случай е налице известно подценяване на по-малкото на брой големи резултати и приблизителното определяне на наличието или липсата на статистически достоверни разлики за отделните серии проби.

Средната геометрична (X_г) стойност се използва като един по-обективен подход, когато резултатите следват нормално логаритмично разпределение. В настоящото изследване, такова разпределение е доказано статистически с теста на Колмогоров-Смирнов, затова ще бъде използван а средна геометрична стойност при представяне на резултатите. Тъй като една част от литературните данни са представени като средна аритметична стойност, резултатите от представения по долу статистически анализ са по двата подхода – чрез средна аритметична и средна геометрична стойност, за да могат да се сравняват с литературни данни.

Всички изследвани проби (94 на брой) са включени в статистическата обработка и анализ.

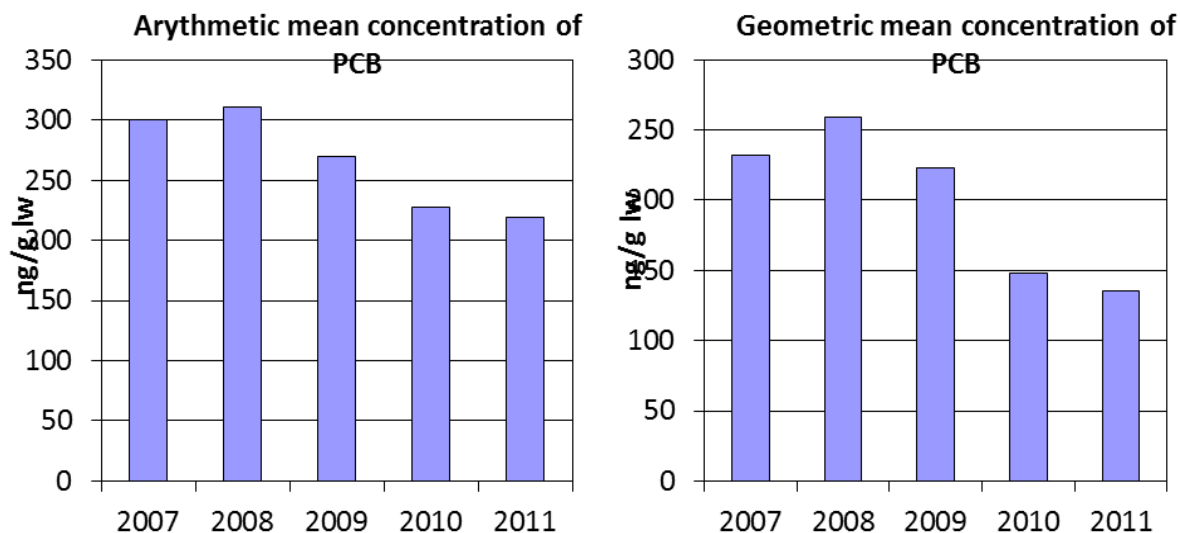
Резултати за ПХБ по години на улов

Направено е групиране на всички изследвани риби по години на улов.

1. Съдържание на ПХБ по отношение на липидно тегло (ng/g lw)

Таблица 3. Резултати за ПХБ, ng/g lw

Година	Брой проби	Средна аритм. стойност	Доверителен интервал		Средна геометрич. стойност	Доверителен интервал		Min	Max
2007	21	300	191	410	232	166	322	75	956
2008	19	311	213	409	259	193	349	105	856
2009	24	270	190	350	223	172	289	83	862
2010	19	228	116	340	148	93	235	26	835
2011	11	219	109	335	135	90	214	61	682



Фиг. 5

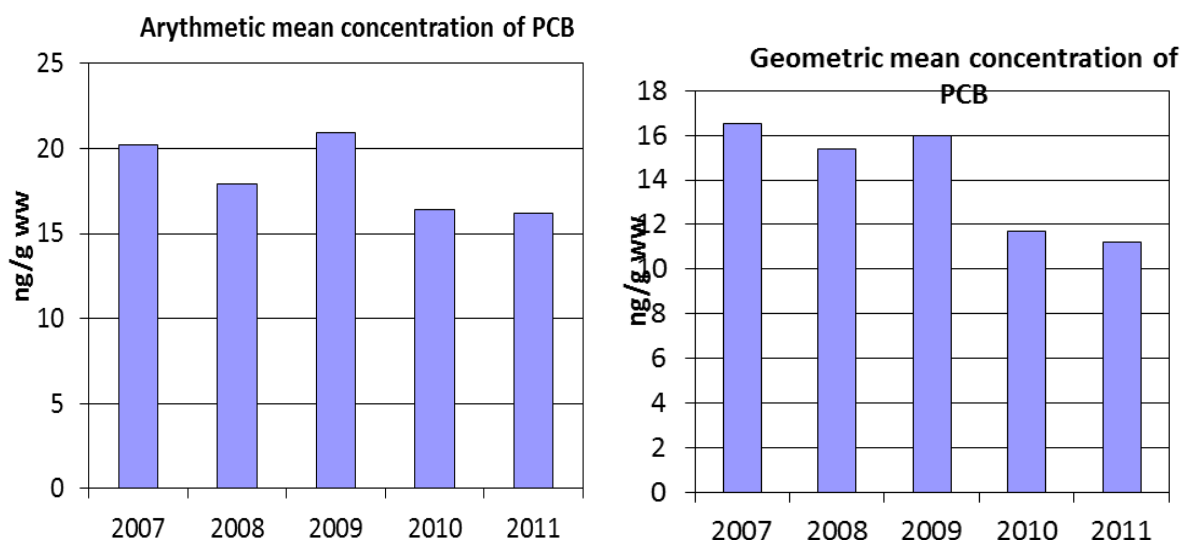
Средни аритметични и геометрични стойности на Σ ПХБ (ng/g lw) за всички риби по години

Резултатите от фиг. 5 показват, че няма съществена разлика в представянето на резултатите като средна аритметична и средна геометрична стойност. И в двата случая тенденцията е към намаляване на съдържанието на ПХБ през 2010 и 2011г., но статистическата обработка на данните показва, че няма статистически достоверна разлика между резултатите за сумата от ПХБ по години ($P > 0.05$).

2. Съдържание на ПХБ по отношение на свежо тегло (ng/g ww)

Таблица 4. Резултати за ПХБ, ng/g ww

Година	Брой проби	Средна аритм. стойност	Доверителен интервал		Средна геометрич. стойност	Доверителен интервал		Min	Max
			Lower	Upper		Lower	Upper		
2007	21	20,2	13,5	26,8	16,5	12,2	22,1	3,7	60,0
2008	19	17,9	13,0	22,8	15,4	11,7	20,4	4,4	44,5
2009	24	20,9	15,2	26,5	16,0	11,2	22,8	2,5	59,4
2010	19	16,4	8,7	24,1	11,7	7,9	17,2	2,8	63,6
2011	11	16,2	8,5	24,0	11,2	7,8	16,8	3,0	28,0



Фиг. 6

Средни аритметични и геометрични стойности на Σ ПХБ (ng/g ww) за всички риби по години

Профилът е малко по-различен, отколкото представения по горе, но отново се потвърждава тенденцията към намаляване на съдържанието на ПХБ в изседваните риби през последните две години.

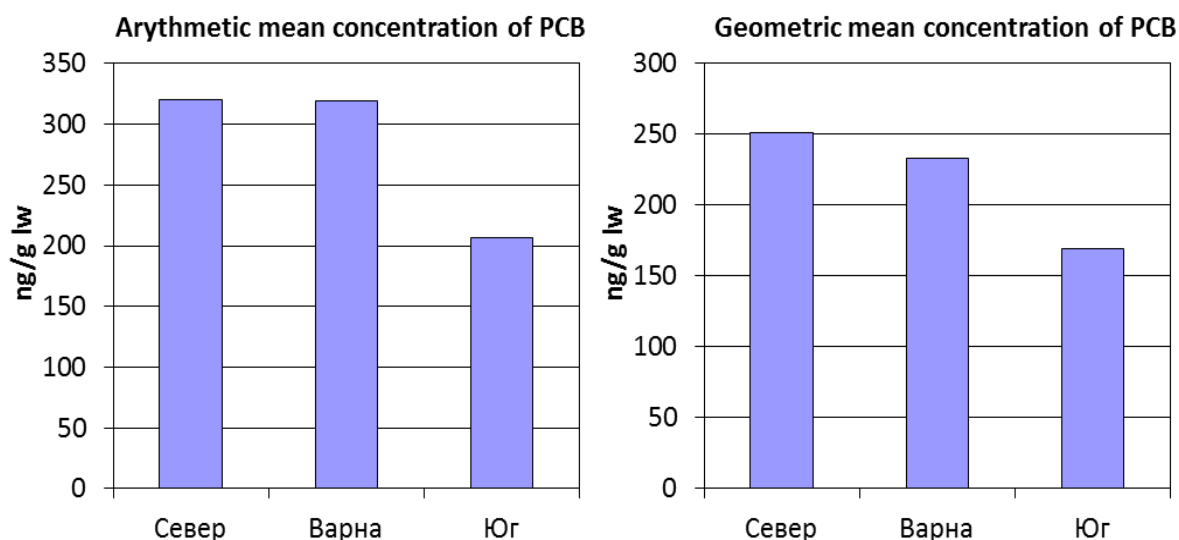
ПХБ ПО РАЙОН НА УЛОВ

В този случай групирането на рибите е направено по район на улов.

1. Съдържание на ПХБ по отношение на липидно тегло (ng/g lw)

Таблица 5. Резултати за ПХБ, ng/g lw

Район	Брой проби	Средна аритм. стойност	Доверителен интервал		Средна геометр. стойност	Доверителен интервал		Min	Max
Север	30	320	233	408	251	188	336	62	856
Варна	32	319	208	430	233	168	325	71	956
Юг	32	207	158	255	169	132	218	26	725



Фиг. 7

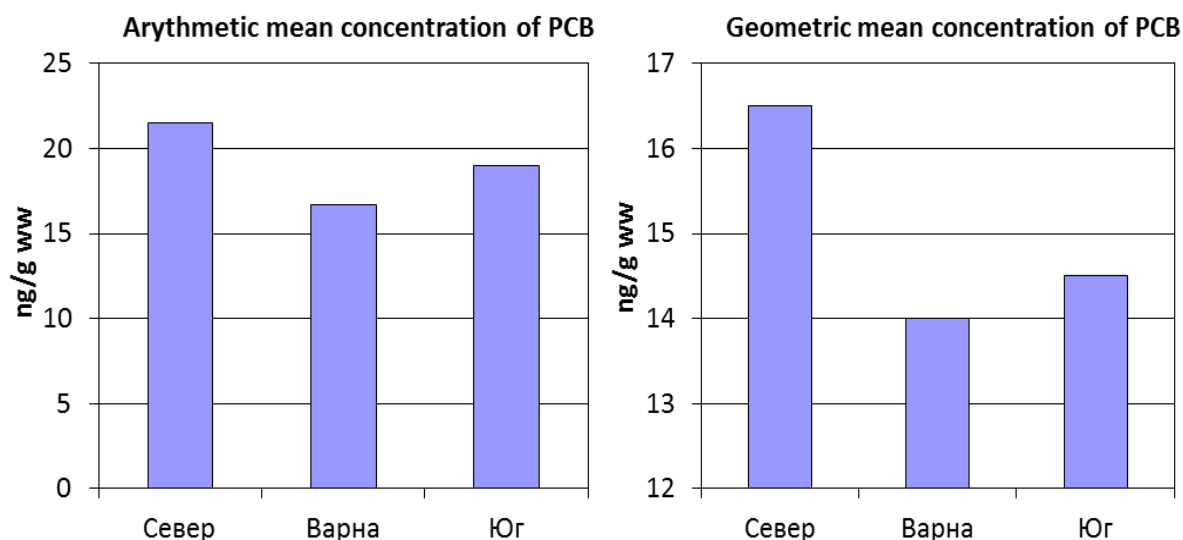
Средни аритметични и геометрични стойности на Σ ПХБ (ng/g lw) за всички риби по район на улов

И в двата случая на представяне на резултатите (фиг. 7), замърсяването в район Юг е по-ниско, а в Север и Варна е почти еднакво, но статистически достоверна разлика между резултатите за Σ ПХБ в риби от различните райони на пробовземане не се открива ($P > 0.05$). Разстоянията между отделните райони на изследване (Север, Варна, Юг) не са големи, затова замърсяването на нашето черноморско крайбрежие може да се представи като средна сума, която е включена в графиките.

2. Съдържание на ПХБ по отношение на свежо тегло (ng/g ww)

Таблица 6. Резултати за ПХБ, ng/g ww

Район	Брой проби	Средна аритм. стойност	Доверителен интервал		Средна геометр. стойност	Доверителен интервал		Min	Max
Север	30	21,5	15,2	27,9	16,5	12,2	22,3	4,4	63,6
Варна	32	16,7	12,7	20,6	14,0	10,8	18,1	3,5	35,1
Юг	32	19,0	13,8	24,1	14,5	10,8	19,4	2,5	60,0



Фиг. 8

Средни аритметични и геометрични стойности на Σ ПХБ (ng/g ww) за всички риби по район на улов

Горните графики показват, че когато резултатите са представени по отношение на свежо тегло, пробите от район Варна се оказва с по-ниско съдържание на ПХБ. Район север остава с най-високи стойности. Когато работим със средна аритметична не се наблюдава разлика между различните райони, докато при средната геометрична – в района на Варна замърсяването е най-ниско, а в район север – най-високо. Може да се предположи, че замърсяването с ПХБ в район север вероятно се дължи на течения по крайбрежието, които внасят приток на замърсени води от северозападната част на Черно море и делтата на р. Дунав.

ПХБ ПО ВИДОВЕ РИБИ

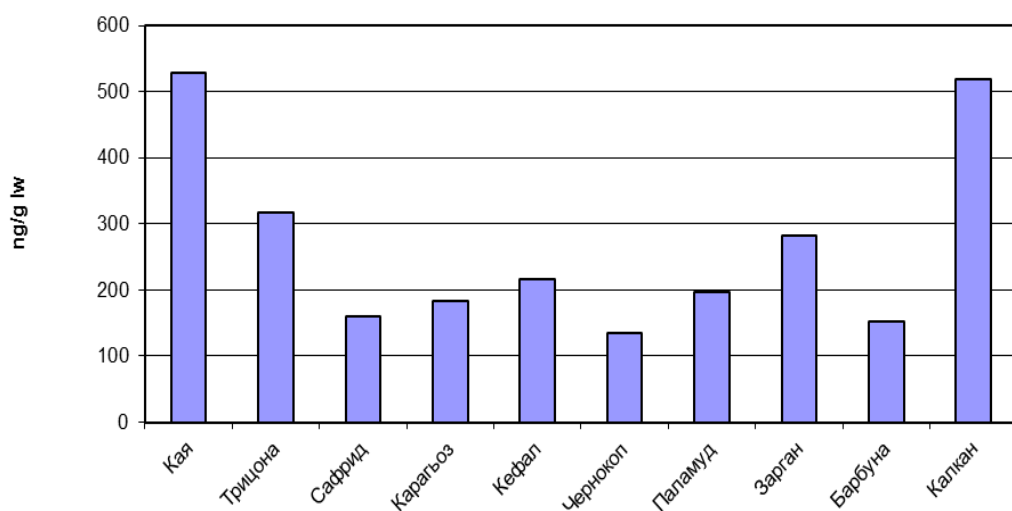
В този случай групирането на рибите е направено по видове за целия изследван период 2007-2011г.

1. Съдържание на ПХБ по отношение на липидно тегло (ng/g lw)

Таблица 7. Резултати за ПХБ, ng/g lw

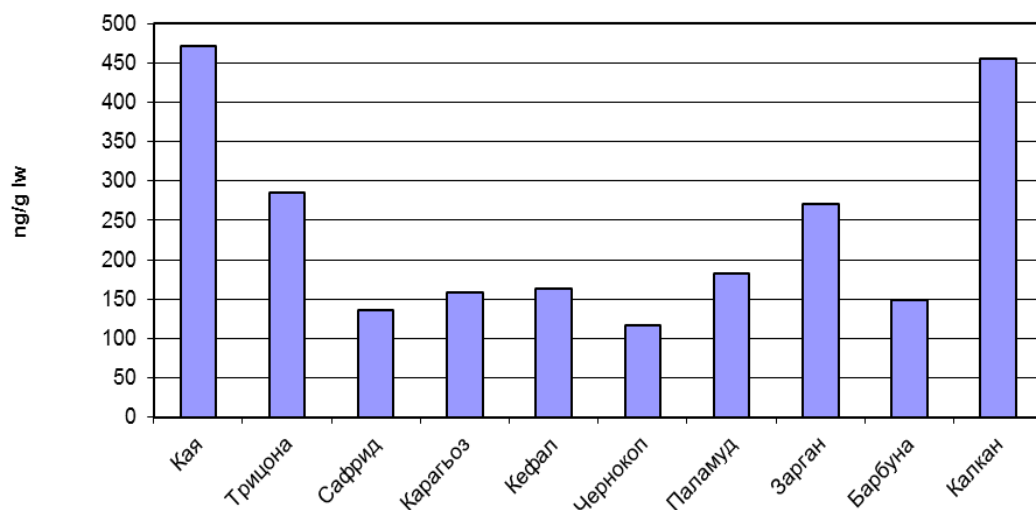
Вид риба	Брой проби	Средна аритм. стойност	Доверителен интервал		Средна геометр. стойност	Доверителен интервал		Min	Max
Кая	18	528	394	662	471	361	615	202	956
Трицона	11	317	197	437	285	204	399	150	725

Сафрид	18	160	104	214	135	98	182	62	403
Карагъоз	12	184	111	257	159	110	232	83	420
Кефал	12	216	95	330	163	92	275	35	568
Чернокоп	8	135	82	188	117	62	221	26	221
Паламуд	4	196	63	329	183	93	361	110	310
Зарган	4	283	-	-	270	-	-	170	346
Барбуна	3	153	-	-	148	-	-	115	190
Калкан	4	518	-	-	456	-	-	281	830



Фиг. 9

Средни аритметични стойности на Σ ПХБ (ng/g lw) по видове риби



Фиг. 10

Средни геометрични стойности на Σ ПХБ (ng/g lw) по видове риби

Профилите при използване на средна аритметична и средна геометрична са почти еднакви, но при втория подход стойностите са по-ниски, защото се елиминират много ниските и много високите получени стойности.

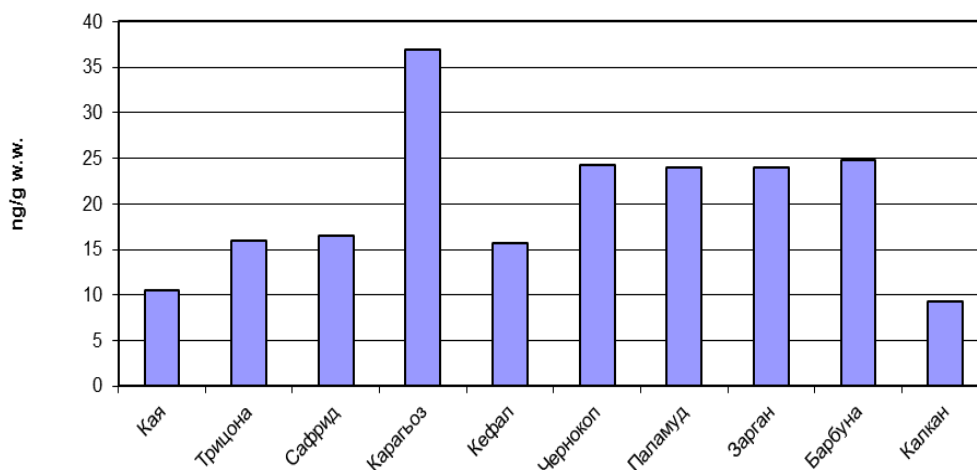
Статистическата обработка на данните показва, че съществува статистически достоверна разлика между резултатите за общо ПХБ по видове риби, изчислени на база липидно тегло [(ng/g lw) (P<0.01)]. Представените резултати показват, че кая, калкан, зарган и трицона са с по-високо съдържание на ПХБ в сравнение с останалите видове риба. Това са риби, които се характеризират с по-ниско липидно съдържание. Вероятно значение има не само липидното съдържание, но и биологията на вида и начина на хранене. Калканът и каята са дънни риби и за тях не са характерни големи преходи, докато трицоната и зарганът мигрират на по-големи разстояния. Зарганът и калканът се хранят с малки риби, каята – мекотели и ракообразни, докато трицоната е растителноядна.

Редица данни в литературата се представят на база липидно тегло, когато се прави сравнение за степента на акумулиране на УОЗ в различни видове риби и за оценка на замърсяването на даден район или екосистема като се използват различни видове риби за биоиндикатор.

2. Съдържание на ПХБ по отношение на свежо тегло (ng/g ww)

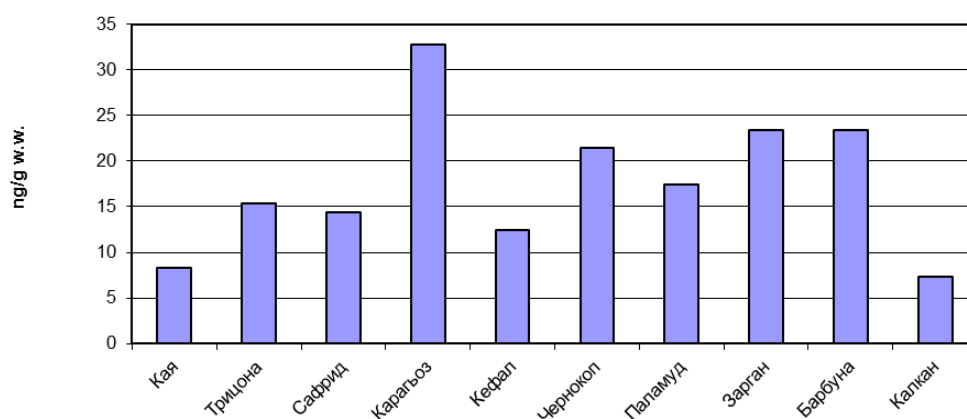
Таблица 8. Резултати за ПХБ, ng/g ww

Вид риба	Брой проби	Средна аритм. стойност	Доверителен интервал		Средна геометр. стойност	Доверителен интервал		Min	Max
Кая	18	10,5	6,3	14,8	8,3	5,7	12,0	2,5	34,0
Трицона	11	16,0	12,7	19,3	15,4	12,2	19,3	7,5	23,0
Сафрид	18	16,5	11,7	21,2	14,4	10,8	19,1	5,8	34,6
Карагъоз	12	36,9	25,9	48,0	32,8	22,4	48,0	8,4	63,6
Кефал	12	15,7	7,1	24,3	12,4	7,6	20,2	2,8	51,5
Чернокоп	8	24,3	15,5	33,0	21,5	12,0	38,0	5,6	32,1
Паламуд	4	24,0	13,9	62,0	17,4	4,2	73,0	6,8	59,4
Зарган	4	24,0	-	-	23,4	-	-	17,7	30,3
Барбуна	3	24,8	-	-	23,4	-	-	16,5	33,1
Калкан	4	9,3	-	-	7,3	-	-	4,4	18,3



Фиг. 11

Средни аритметични стойности на Σ ПХБ (ng/g ww) по видове риби



Фиг. 12

Средни геометрични стойности на Σ ПХБ (ng/g ww) по видове риби

Представянето на данните за стойностите на ПХБ на база свежо тегло се предпочита, когато се прави оценка на безопасността на рибите като храна. Статистическата обработка на данните показва, че съществува статистически достоверна разлика между резултатите за общо ПХБ по видове риби, изчислени на база свежо тегло (ng/g ww) ($P < 0.01$). При това съпоставяне се оказва, че риби с по-ниско съдържание на мазнини като кая, трицона, сафрид, които стоят ниско в хранителната верига съдържат по-малко ПХБ. При карагъоз съдържанието на ПХБ е относително високо.

Прякото сравнение на резултатите за ПХБ в нашите черноморски риби с нивата на замърсяване в други райони на Черно море и съседни морски екосистеми, установени при други проучвания, е затруднено поради няколко

причини. При някои проучвания са използвани само технически смеси на ПХБ, други автори представят резултатите за ПХБ като сума от различен брой конгенери, но най-често като сума от седемте индикаторни конгенера. Сравняването на получените резултати за сумата от ПХБ е затруднено и поради различния начин на представяне на измерените стойности – на база свежо тегло, на база липидно съдържание, на база сухо тегло.

При сравняване на получените резултати за ПХБ на изследваните черноморски риби с данни от литературата може да се направи заключение, че нашите черноморски риби показват по-ниско съдържание на ПХБ, изчислени както на база свежо, така и на липидно тегло. Те са съизмерими с резултати за някои видове риби от Мраморно море. Този резултат е очакван, тъй като една част от нашите черноморски видове зимуват в Мраморно море.

ОБОБЩЕНИЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ ЗА ПХБ

Изследвани са 94 проби от различни видове риби, които са набирани в периода 2007-2011 от три района на Черноморието. Изчислена е сумата от всички намерени в дадената пробата ПХБ, както и тази на индикаторните ПХБ, като резултатите са представени на база липидно тегло (ng/g lw) и на база свежо тегло (ng/g ww). Резултатите показват, че индикаторните ПХБ са с най-високи концентрации и тяхната сума е близка до общата сума на всички определени ПХБ. Диоксиноподобните ПХБ показват ниски стойности.

Направена е статистическа обработка на резултатите като е определена средната аритметична и средната геометрична стойност. Тези стойности са използвани при статистическия анализ на резултатите по години на улов, район на улов и по видове риби.

- По години на улов – има тенденция към намаляване на замърсяването; по-високи стойности се наблюдават 2007-2008 година, а през 2010-2011 година стойностите са по-ниски.
- По район на улов – съществена разлика не се наблюдава за трите района: Север, Варна и Юг. Това е обяснимо с малките разстояния между тях.
- По видове риби - най-високо съдържание на ПХБ показват рибните видове кая и калкан, когато резултатите се представят на база липидно тегло (ng/g lw). При останалите видове риби значителни разлики не се наблюдават.

Профилът се променя, когато резултатите се представят на база свежо тегло (ng/g ww) – по- високи са стойностите при карагьоз, чернокоп, паламуд, зарган и барбуна. Това са рибни видове с високо съдържание на мазнини и затова те натрупват повече ПХБ.

При статистическия анализ на резултатите няма разлика дали се използва средната аритметична или средната геометрична стойност.

3.2. СЪДЪРЖАНИЕ НА ДДТ И МЕТАБОЛИТИ

Направен е анализ на ДДТ и метаболитите ДДЕ и ДДД на всички рибни проби от 10-те вида риби за периода 2007- 2011 г. Резултатите на всички анализирани проби по видове риби, място на улов и по години са представени в таблица 9.

Таблица 9. Резултати за съдържание на ДДЕ, ДДД и ДДТ, в ng/g lw и ng/g ww

Вид риба	Год.	Място	DDE		DDD		DDT		ΣDDT	
			ng/g lw	ng/g ww	ng/g lw	ng/g ww	ng/g lw	ng/g ww	ng/g lw	ng/g ww
Кая- есен	2007	Траката	518.61	18.45	174.33	6.20	< LOD	< LOD	692.91	24.65
Кая - есен	2007	Кранево	611.53	24.09	45.93	1.81	< LOD	< LOD	657.40	25.90
Кая- есен	2007	Приморско	521.51	6.82	151.91	1.99	< LOD	< LOD	673.42	8.81
Кая- есен	2007	Бяла	537.00	18.55	203.33	7.02	345.00	11.92	1085.40	37.49
Кая- прол.	2008	Крапец	382.62	11.40	171.80	5.12	61.38	1.83	616.51	18.35
Кая - есен	2008	Каварна	2020.02	39.28	423.97	8.24	389.78	7.58	2833.94	55.10
Кая- прол.	2008	Варна - ез.	747.31	17.83	245.61	5.86	129.22	3.08	1122.10	26.77
Кая- прол.	2008	Бяла	563.13	9.81	125.08	2.18	< LOD	< LOD	688.23	11.99
Кая - есен	2008	Поморие	324.84	13.84	93.56	3.99	97.44	4.15	515.81	21.97
Кая - прол	2009	Траката	630.91	10.78	389.59	6.66	283.91	4.85	1304.41	22.30
Кая- прол.	2009	Варна - ез.	1031.23	10.92	568.72	6.02	473.93	5.02	2073.50	21.96
Кая - есен	2009	Бургас	1441.31	7.83	794.27	4.32	688.23	3.74	2923.61	15.89
Кая- прол.	2009	Кранево	1882.22	23.06	328.47	4.03	286.60	3.51	2496.50	30.60
Кая - есен	2009	Балчик	1639.12	10.95	455.56	3.04	272.22	1.82	2367.23	15.82
Кая-прол.	2010	Траката	621.00	4.18	213.40	1.44	< LOD	< LOD	834.44	5.62
Кая-прол.	2010	Крапец	1142.32	16.54	319.98	4.63	68.18	0.99	1530.21	22.16
Кая – есен	2011	Варна	715.71	6.15	207.66	1.78	< LOD	< LOD	923.36	7.94
Кая- прол.	2011	Крапец	600.42	3.71	174.79	1.08	< LOD	< LOD	775.21	4.78
Трициона- есен	2007	Несебър	561.21	35.24	292.81	18.39	86.70	5.44	940.72	59.07
Трициона -есен	2007	Несебър	813.40	51.16	458.90	28.87	123.81	7.79	1396.11	87.82
Трициона- есен	2007	Крапец	670.23	58.90	385.02	33.83	179.92	15.81	1235.13	108.54
Трициона -есен	2008	Несебър	301.30	25.77	147.41	12.61	69.40	5.94	518.25	44.31
Трициона- пр.	2008	Траката	756.11	43.25	330.60	18.91	109.51	6.26	1196.20	68.42
Трициона-пр.	2009	Варна	692.90	55.67	438.23	35.21	214.04	17.19	1345.11	108.07

Трициона -есен	2009	Несебър	762.72	51.66	326.00	22.08	52.24	3.53	1140.85	77.28
Трициона –пр.	2010	Несебър	449.23	20.29	183.90	8.31	57.60	2.60	690.71	31.19
Трициона-пр.	2010	Траката	1721.21	54.50	805.21	25.50	272.60	8.63	2798.73	88.63
Трициона- есен	2010	Зеленка	319.72	13.74	177.10	7.61	53.41	2.30	550.11	23.65
Трициона- пр.	2011	Варна	527.74	17.30	253.80	7.94	< LOD	< LOD	781.53	25.25
Кефал - есен	2007	Каварна	418.47	37.97	253.26	22.98	136.23	12.36	807.96	73.31
Кефал- есен	2007	Несебър	882.15	61.48	751.42	52.37	115.01	8.02	1748.58	121.86
Кефал- есен	2007	Балчик	148.52	18.38	144.42	17.87	< LOD	< LOD	292.93	36.25
Кефал – есен	2008	Камчия	681.21	65.92	793.49	76.79	52.81	5.11	1527.51	147.82
Кефал - есен	2008	Бургас	208.21	24.16	80.77	9.37	0.00	0.00	289.00	33.53
Кефал – есен	2009	Каварна	347.62	24.99	150.79	10.84	34.92	2.51	533.33	38.34
Кефал-пролет	2009	Варна - ез.	982.14	19.95	214.29	4.35	280.61	5.70	1477.04	30.01
Кефал – есен	2009	Несебър	263.13	23.82	120.39	10.90	21.38	1.94	404.90	36.65
Кефал-пролет	2010	Несебър	92.46	7.19	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	92.46	7.19
Кефал - есен	2010	Несебър	263.58	27.97	145.18	15.41	48.68	5.17	457.43	48.54
Кефал-пролет	2010	Варна - ез.	1378.06	92.94	178.34	12.03	27.41	1.85	1583.81	106.81
Кефал-пролет	2011	Варна - ез.	352.91	24.80	164.40	11.55	< LOD	< LOD	517.30	36.35
Сафрид-есен	2007	Варна	204.5.3	17.80	120.22	10.46	72.50	6.31	397.12	34.57
Сафрид - есен	2007	Каварна	231.8.2	32.20	108.12	15.02	69.71	9.68	409.61	56.89
Сафрид- есен	2007	Несебър	453.11	45.57	196.51	19.76	88.90	8.94	738.50	74.27
Сафрид- есен	2007	Бяла	174.02	18.14	86.30	9.00	< LOD	< LOD	260.44	27.14
Сафрид-прол.	2008	Бяла	566.91	28.85	298.91	15.21	185.21	9.42	1051.15	53.49
Сафрид-прол.	2008	Балчик	505.30	26.57	237.71	12.50	166.60	8.76	909.63	47.83
Сафрид-прол.	2008	Варна	396.02	25.11	192.61	12.21	< LOD	< LOD	588.62	37.33
Сафрид - есен	2008	Бяла	148.54	18.93	93.42	11.91	< LOD	< LOD	241.91	30.84
Сафрид-прол.	2009	Траката	546.22	43.54	388.2	30.95	121.90	9.72	1056.24	84.20
Сафрид - есен	2009	Каварна	221.23	42.87	141.42	27.41	55.60	10.77	418.32	81.04
Сафрид- есен	2009	Несебър	243.50	56.42	179.63	41.60	38.42	8.89	461.41	106.91
Сафрид- есен	2009	Крапец	171.61	36.93	239.41	51.53	42.74	9.18	453.62	97.63
Сафрид- прол	2010	Траката	99.90	11.59	80.90	9.39	21.73	2.52	202.51	23.50
Сафрид- есен	2010	Несебър	115.33	13.89	54.81	6.60	27.81	3.35	197.92	23.84
Сафрид- есен	2010	Балчик	141.21	13.14	102.11	9.50	41.62	3.87	284.81	26.51
Сафрид-прол.	2010	Несебър	121.01	10.95	64.41	5.83	33.71	3.05	219.05	19.83
Сафрид-прол.	2011	Балчик	195.72	6.28	73.3	2.35	< LOD	< LOD	269.01	8.64
Сафрид- есен	2011	Варна	94.44	18.95	50.33	10.08	< LOD	< LOD	144.71	29.03
Карагъоз- пр.	2007	Балчик	507.14	102.98	331.40	67.30	113.80	23.11	952.22	193.39
Карагъоз-есен	2007	Приморско	1002.73	191.28	538.00	102.63	164.44	31.35	1705.21	325.26
Карагъоз-есен	2007	Каварна	130.75	12.73	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	130.71	12.73
Карагъоз-есен	2008	Балчик	653.72	154.23	352.90	83.28	116.33	27.44	1122.90	264.94
Карагъоз-есен	2008	Галата	199.31	54.43	116.41	31.77	49.58	13.54	365.32	99.75
Карагъоз - пр	2009	Каварна	598.90	141.18	316.64	74.62	124.10	29.24	1039.54	245.05
Карагъоз есен	2009	Камчия	550.50	177.03	284.73	91.55	133.11	42.80	968.43	311.38
Карагъоз-есен	2009	Поморие	612.60	164.14	175.12	46.92	105.32	28.22	893.12	239.28

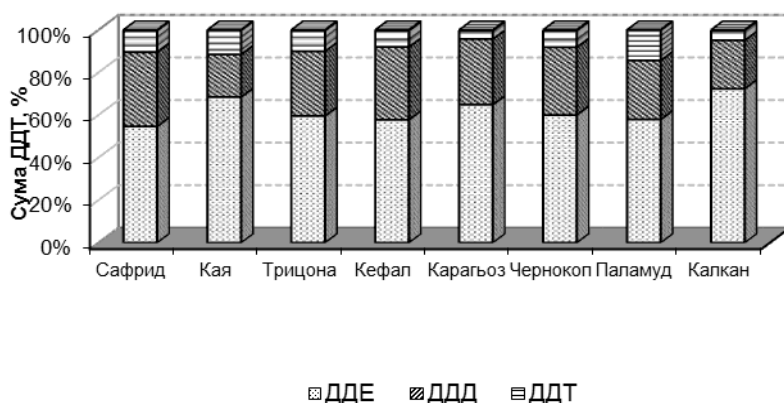
Карагьоз-есен	2010	Балчик	672.51	118.07	195.91	34.40	95.24	16.71	963.71	169.18
Карагьоз- пр	2010	Траката	1101.31	166.81	495.22	75.01	129.30	19.59	1725.90	261.41
Карагьоз-пр	2010	Балчик	639.13	138.68	299.51	64.96	77.31	16.77	1016.16	220.40
Карагьоз-пр	2011	Каварна	430.61	108.93	198.99	50.34	< LOD	< LOD	629.62	159.27
Чернокоп- есен	2006	Несебър	356.83	46.07	238.48	30.79	182.66	23.59	777.90	100.45
Чернокоп- есен	2008	Ахтопол	660.57	146.01	354.49	78.36	104.27	23.05	1119.34	247.42
Чернокоп-есен	2009	Несебър	631.95	120.60	372.42	71.07	160.02	30.54	1164.42	222.20
Чернокоп- есен	2009	Варна	771.81	168.73	402.66	88.03	146.38	32.00	1320.91	288.75
Чернокоп- есен	2009	Несебър	724.14	96.41	352.16	46.88	139.66	18.59	1216.05	161.89
Чернокоп- есен	2010	Крапец	333.86	68.97	137.29	28.36	58.76	12.14	529.90	109.48
Чернокоп- есен	2010	Несебър	339.67	74.55	138.11	30.31	55.92	12.27	533.74	117.13
Чернокоп- есен	2011	Варна	337.38	58.14	184.33	31.77	26.36	4.54	548.12	94.45
Паламуд-есен	2007	Несебър	744.53	59.61	421.91	33.78	228.92	18.33	1395.42	111.72
Паламуд - есен	2008	Поморие	30.48	3.03	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	30.51	3.03
Паламуд - есен	2009	Несебър	274.47	52.69	88.04	16.90	49.21	9.45	411.70	79.0
Паламуд - есен	2010	Несебър	355.48	47.99	204.36	27.59	75.10	10.14	635.03	85.72
Зарган- есен	2007	Галата	660.22	69.09	347.58	36.38	120.08	12.57	1127.91	118.04
Зарган- есен	2008	Каварна	458.23	44.14	388.61	30.06	76.26	6.68	923.10	80.89
Зарган – есен	2009	Несебър	786.22	56.18	421.22	30.10	46.71	3.34	1254.23	89.61
Зарган – есен	2011	Варна	653.74	56.66	278.20	24.11	< LOD	< LOD	931.96	80.78
Калкан – есен	2007	Каварна	1509.30	33.32	590.13	13.03	143.54	3.17	2243.00	49.51
Калкан - пролет	2008	Балчик	717.77	6.40	241.87	2.16	< LOD	< LOD	959.64	8.56
Калкан – есен	2009	Несебър	611.11	10.52	190.74	3.28	118.52	2.04	920.37	15.84
Калкан – есен	2011	Варна	495.44	7.57	114.91	1.76	< LOD	< LOD	610.35	9.33
Барбуна – есен	2009	Несебър	428.26	74.90	271.59	47.50	46.81	8.19	746.72	130.58
Барбуна – есен	2010	Несебър	372.92	53.28	155.36	22.20	21.94	3.13	550.21	78.61
Барбуна – есен	2011	Варна	276.12	46.89	122.24	20.76	< LOD	< LOD	398.40	67.65

< LOD – под границата на откриване на метода

Резултатите показват ниски концентрации на ДДТ в пробите за целия период на изследването, в сравнение с неговите метаболити – ДДЕ е ДДД. Това показва, че използваното в миналото ДДТ се е метаболизирано в много голяма степен. В над 30% от анализирани проби определените концентрации са близки до границата на откриване на използвания аналитичен метод. Най-голяма е концентрацията на метаболита ДДЕ, следва метаболита ДДД и както беше отбелязано, концентрациите на ДДТ е най-малка. Малкият процент на ДДТ спрямо ДДЕ, е индикация, че остатъците от ДДТ, установени в рибните видове по нашето Черноморско крайбрежие, са в резултат на стари замърсявания.

Метаболитът ДДЕ преобладава в повече от 96% от изследваните проби, следван от ДДД и ДДТ. Подобни данни са получени при проучвания за

съдържание на остатъци от органохлорни пестициди при ракообразни, риби, бозайници и други морски организми от различни райони на Черно море. На фиг. 13 е представено процентното съотношение на ДДТ и неговите метаболити в различните видове риби:



Фиг. 13

Съотношение между ДДЕ, ДДД и ДДТ

В организма на морските видове ДДТ метаболизира бавно до ДДЕ и ДДД, като при отделните видове се наблюдават разлики в степента на биотрансформация. От фигурата се вижда, че при всички рибни видове най-голям е процента на метаболита ДДЕ, като при кая и калкан той е над 70 %, а остатъците от ДДТ са на-малки –под 10% при карагъоз, чернокоп и калкан.

В таблица 10 е представено изчисленото съотношенията $\text{ДДЕ}/\Sigma\text{ДДТ}$ за пет от изследваните рибни вида за различните години. Най-високо $\text{ДДЕ}/\Sigma\text{ДДТ}$ съотношение се установява при кая – средна стойност за целия период на проучване 0.71. Това вероятно се дължи на по-голяма метаболитна способност на бентосните организми.

Таблица 10. Отношение $\text{ДДЕ}/\Sigma\text{ДДТ}$ по видове риби по години

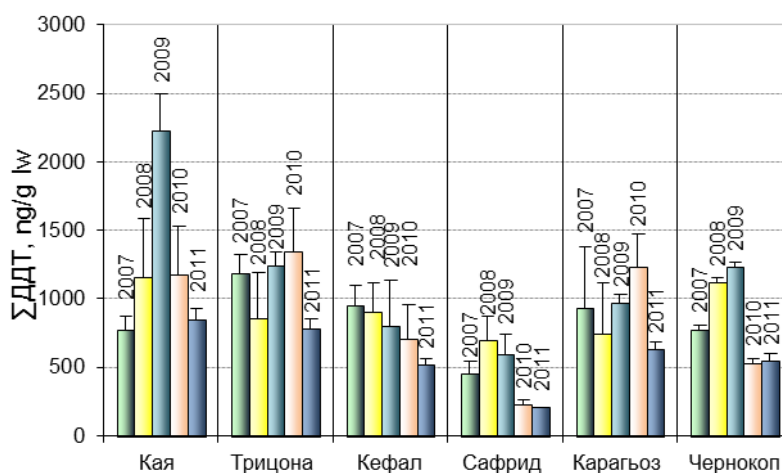
Година	Кая	Трицона	Кефал	Сафрид	Карагъоз
2007	0.74	0.57	0.51	0.59	0.58
2008	0.69	0.61	0.50	0.59	0.57
2009	0.60	0.58	0.65	0.49	0.61
2010	0.75	0.62	0.79	0.53	0.65
2011	0.77	0.68	0.68	0.67	0.68
2007-2011	0.71	0.61	0.63	0.57	0.62

При други изследвания се оценява отношението $\text{ДДТ}/\Sigma\text{ДДТ}$ като индикация също за наличие или отсъствие на ново замърсяване с ДДТ. В

настоящото проучване при всички изследвани видове риби отношението ДДТ/ΣДДТ е ниско - между 0.05 и 0.1, което потвърждава, че остатъчните количества ДДТ са в резултат на стари замърсявания.

Динамика на замърсяването с ДДТ и метаболити по години

На фиг. 14 са показани определените средни концентрации на ΣДДТ (сума от ДДЕ, ДДД и ДДТ) на база липидно тегло (ng/g lw) за 6 вида риба по години.



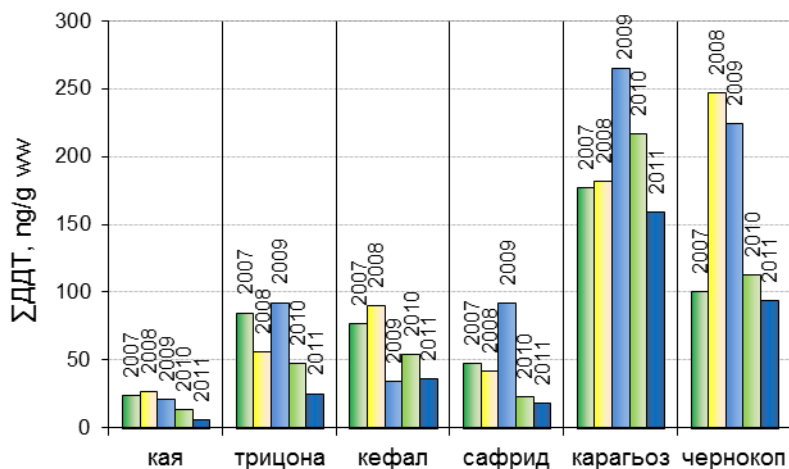
Фиг. 14

Средни стойности на ΣДДТ, ng/g lw за различни видове риби по години

При сравнение на стойностите на база липидно тегло разликите в нивата на замърсяване между отделните видове не са толкова големи. Най-ниски концентрации на ΣДДТ са при сафрид през 2011г., а в пробите кая през 2009г. стойностите са най-високи. През изследвания период концентрациите на ДДТ и метаболити намаляват при видовете кефал и сафрид, а при карагъоз и трициона има слабо повишение и намаляване през 2011г.

Според немското законодателство за регулиране на остатъци от пестициди в храните (RHmV, 1999), максимално допустимите граници на остатъчни вещества за ΣДДТ (ДДТ + ДДЕ + ДДД) в риба с ниско съдържание на мазнини (<10%) е 500 ng/g ww и за риба с високо съдържание на мазнини (> 10%) е 5000 ng/g lw. Във всяка една от анализираниите проби риба, тези норми не са надхвърлени (фиг. 14 и 15). Европейския съюз определя максимално допустимите граници (МДГ) за ДДТ и метаболити в някои храни от животински

произход (месо, мляко и яйца), но все още няма МДГ за тези органични съединения в риби. Определените граници в тези животински продукти е 1000 ng/g на база липидно тегло (Директива 86/363/ЕС и по-късни изменения).



Фиг. 15

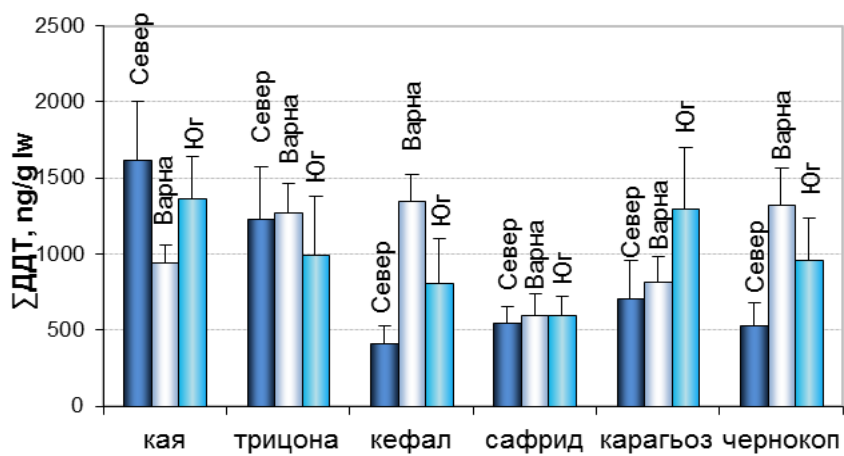
Средни стойности на Σ ДДТ, ng/g ww за различни видове риби по години

Когато резултатите се изчисляват на база свежо тегло, профилът се променя. Най-ниско съдържание на Σ ДДТ е установено при кая. При карагъоз и чернокоп средните стойности Σ ДДТ през целия период са значително по-високи от останалите видове риби, което може да се обясни с хищния им начин на хранене и миграцията начин на живот. Тенденция за намаляване в 2010 и 2011г. се наблюдава при всички изследвани проби.

Съдържание на ДДТ и метаболити по район на улов

Замърсяването по район на улов може да се разглежда предимно за местни видове като трицона и кефал, както и за дънни риби, обитаващи крайбрежната ивица като кая. Замърсяването в мигриращите риби е трудно да се оцени, тъй като те обитават различни места. Някои видове риба като сафрид, карагъоз, чернокоп, зарган и паламуд навлизат през летните месеци в Черно море от региона на Мраморно море. Поради това не може да се определи дали установените остатъчни количества на ДДТ и метаболити в мигриращи видове риба се дължат на локални или трансгранични замърсявания.

Резултати за сумарната концентрация на ДДТ, ДДЕ и ДДД по райони на улов са представени на фиг. 16.



Фиг. 16

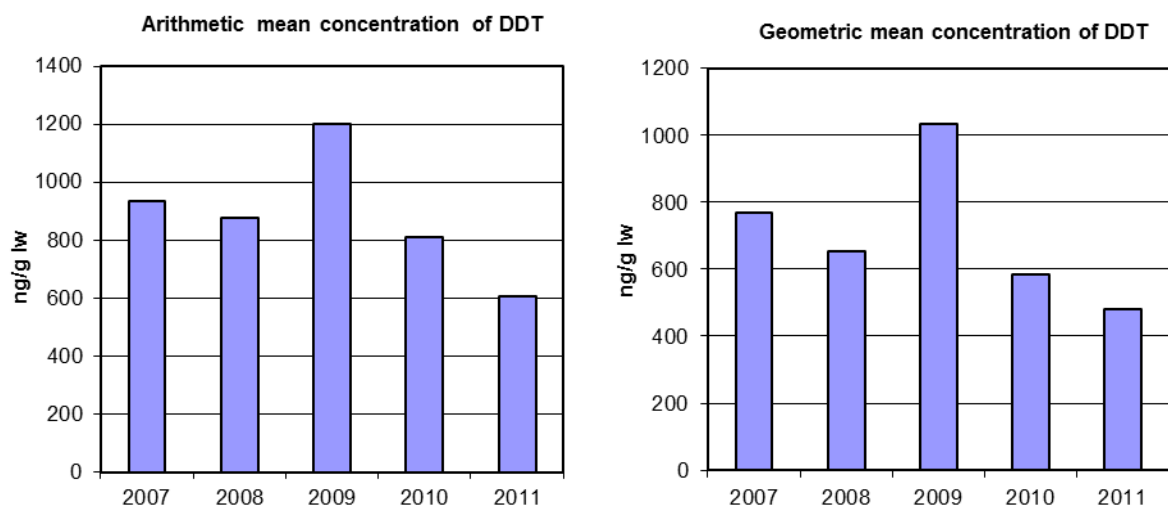
Средни стойности на Σ ДДТ, ng/g lw по видове риби и по район на улов

СТАТИСТИЧЕСКИ АНАЛИЗ НА РЕЗУЛТАТИТЕ ДДТ ПО ГОДИНИ НА УЛОВ

1. Съдържание на ДДТ по отношение на липидното тегло, ng/g lw

Таблица 11. Резултати за ДДТ, ng/g lw

Година	Брой проби	Средна аритм. стойност	Доверителен интервал		Средна геометр. стойност	Доверителен интервал		Min	Max
2007	21	936	690	1180	770	560	1060	131	2240
2008	19	875	580	1170	655	415	1030	31	2830
2009	24	1200	915	1490	1035	817	1320	405	2920
2010	19	810	483	1140	586	387	890	93	2800
2011	11	608	435	1050	480	379	846	145	932



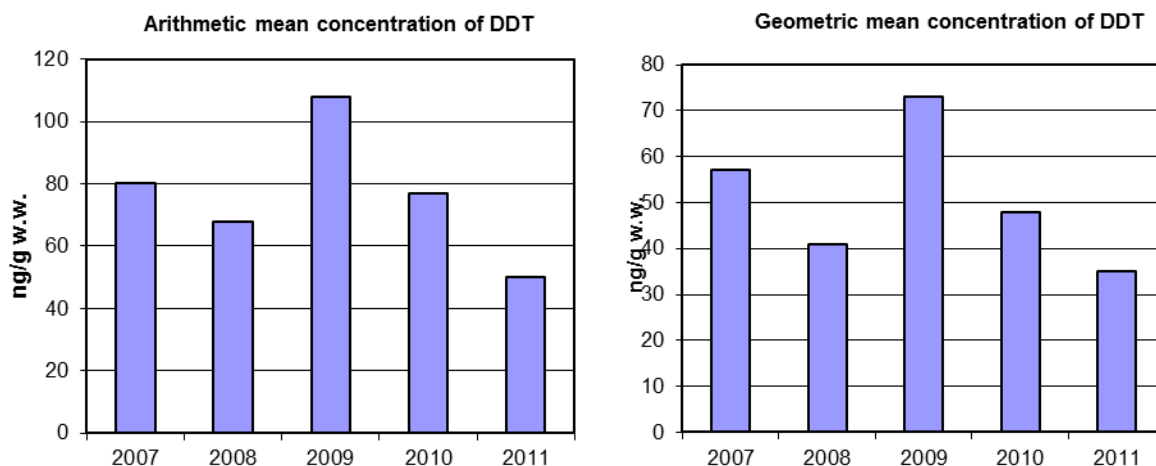
Фиг. 17

Средни аритметични и геометрични стойности на Σ ДДТ (ng/g lw) за всички риби по години

2. Съдържание на ДДТ по отношение на свежо тегло – ng/g ww

Таблица 12. Резултати за ДДТ, ng/g ww

Година	Брой проби	Средна аритм. стойност	Доверителен интервал		Средна геометр. стойност	Доверителен интервал		Min	Max
2007	21	80	48	113	57	39	85	8,81	325.1
2008	19	68	33	105	41	27	70	3,03	265.0
2009	24	108	70	147	73	48	110	15,80	311.1
2010	19	77	42	113	48	28	81	5,61	261.2
2011	11	50	40	107	35	26	78	4,78	159.27



Фиг. 18

Средни аритметични и геометрични стойности на Σ ДДТ (ng/g ww) за всички риби по години

Когато се оценява въздействието на ДДТ и метаболити върху човешкото здраве, свързано с консумацията на риба, стойностите на тези замърсители е подходящо да се сравняват на база свежо тегло. В този случай се оказва, че риби с по-ниско съдържание на мазнини като кая, трициона, сафрид, които стоят ниско в хранителната верига съдържат по малко Σ ДДТ в сравнение с по-едри хищни риби с високо липидно съдържание.

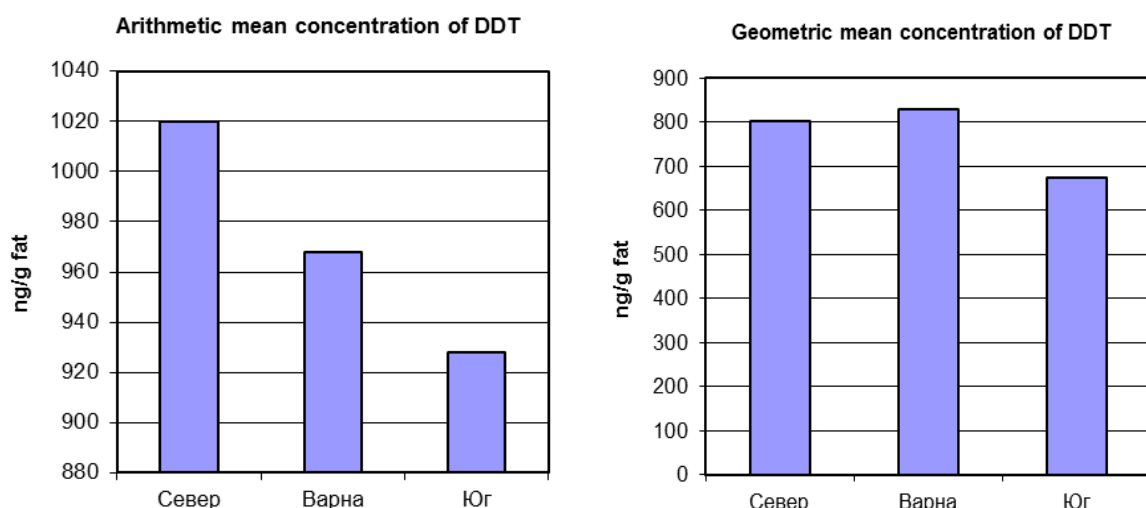
Въпреки че, статистическата обработка на данните показва, че няма достоверна разлика между резултатите за общото количество ДДТ по години през периода на проучването ($P > 0.05$), все пак се наблюдава тенденция към намаляване през 2010 и 2011г.

ДДТ ПО РАЙОН НА УЛОВ

1. Съдържание на ДДТ по отношение на липидното тегло, ng/g lw

Таблица 13. Резултати за ДДТ, ng/g lw

Район	Брой проби	Средна аритм. стойност	Доверителен интервал		Средна геометр. стойност	Доверителен интервал		Min	Max
			732	1310		587	1070		
Север	30	1020	732	1310	801	587	1070	131	2830
Варна	32	968	773	1160	829	654	1080	203	2070
Юг	32	928	676	1180	675	477	955	31	2920



Фиг. 19

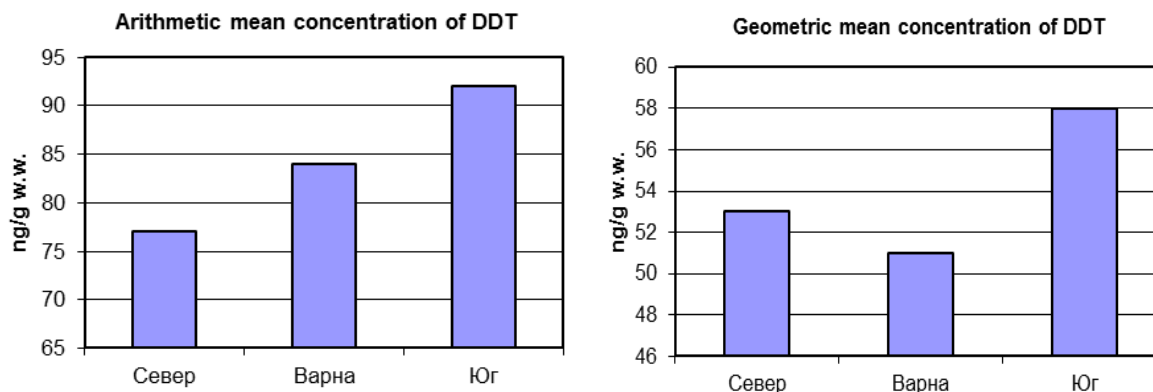
Средни аритметични и геометрични стойности на Σ ДДТ (ng/g lw) за всички риби по район на улов

Резултатите, представени чрез средна аритметична стойност, показват, че има разлика в замърсяването по райони. Най-високи за стойностите в район Север, следва Варна, а най-ниски в район Юг. Графиката която представя резултатите чрез средна геометрична стойност показва почти еднакво замърсяване в Север и Варна и по-ниски – в район Юг.

2. Съдържание на ДДТ по отношение на свежо тегло, ng/g ww

Таблица 14. Резултати за ДДТ, ng/g ww

Район	Брой проби	Средна аритм. стойност	Доверителен интервал		Средна геом. стойност	Доверителен интервал		Min	Max
			50	104		37	76		
Север	30	77	50	104	53	37	76	8,6	261
Варна	32	84	47	122	51	36	82	5,6	311
Юг	32	92	63	121	58	39	88	3,0	325



Фиг. 20

Средни аритметични и геометрични стойности на Σ ДДТ (ng/g ww) за всички риби по район на улов

Когато съдържанието на ДДТ и метаболити се представя по отношение на свежо тегло (средна аритметична стойност), тогава се получава, че най-замърсени са пробите от район Юг, следвани от Варна и накрая Север. При представяне на резултатите чрез средна геометрична стойност най-замърсен отново е район Юг, следван от Север и Варна.

Въпреки разликите, които се наблюдават от фиг. 18 и 19, статистическата обработка на всички данни показва, че няма статистически достоверна разлика между резултатите за общо ДДТ в риби от различните райони на пробовземане ($P > 0.05$). Това може да се обясни с факта, че разстоянието между отделните райони не е голямо.

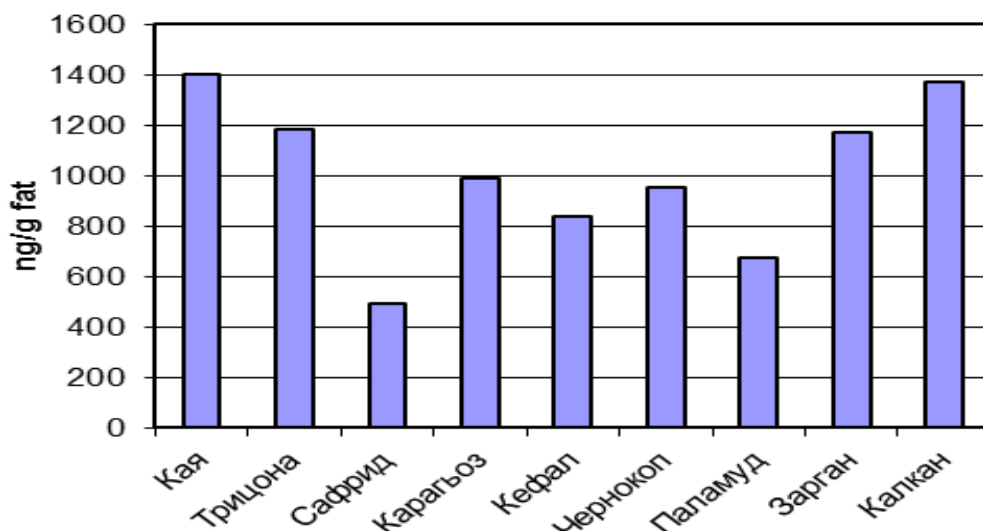
ДДТ ПО ВИДОВЕ РИБИ

1. Съдържание на ДДТ по отношение на липидното тегло, ng/g lw

Таблица 15. Резултати за ДДТ, ng/g lw

Вид риба	Брой проби	Средна аритм. стойност	Доверителен интервал		Средна геометрич. стойност	Доверителен интервал		Min	Max
Кая	18	1400	944	1856	1180	855	1630	516	2920
Трициона	11	1181	714	1647	1050	733	1510	518	2800
Сафрид	18	493	336	650	421	310	572	198	1060
Карагьоз	12	989	673	1305	832	325	1130	131	1730

Кефал	12	837	420	1254	604	622	1290	93	1750
Чернокоп	8	951	644	1258	895	25	5360	530	1320
Паламуд	4	676	-212	1565	364	665	1980	31	1395
Зарган	4	1170	497	1843	1150	356	4390	923	1460
Калкан	4	1374	-495	3243	1260	640	910	920	2240

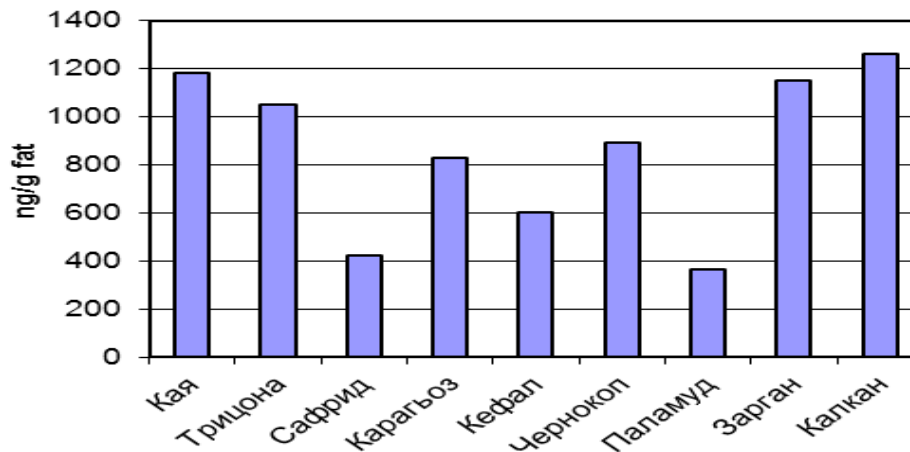


Фиг. 21

Средни аритметични стойности на Σ ДДТ (ng/g lw) по видове риби

Графиката показва, че съдържанието на ДДТ в рибите кая, трициона, зарган, калкан и карагъоз е най-високо, въпреки че това са риби с различен начин на живот. Каята и калканът са дънни риби, не се придвижват на големи разстояния, докато триционата и зарганът са стадни, мигриращи риби. Зарганът обитава чистите и дълбоки морски води и избягва зоните около устията на реки. Най-често се среща около скалисти заливи. През зимата триционата мигрира към вътрешността на морето. Карагъозът също е мигрираща риба. Характерно за него е, че навлиза в сладките води на река Дунав за размножаване. Съдържанието на ДДТ е най-ниско при видовете сафрид и паламуд, които също са мигриращи видове, но вероятно начинът им на хранене оказват влияние.

Няма разлика в профила, когато резултатите се представят чрез средна геометрична стойност (фиг. 22).



Фиг. 22

Средни геометрични стойности на Σ ДДТ (ng/g lw) по видове риби

Статистическият анализ на данните показва, че **има статистически достоверна разлика** между резултатите за съдържанието на ДДТ и метаболити по видове риби, изчислени на база липидно тегло – **ng/g lw** и на база свежо тегло – **ng/g ww**, ($P < 0.05$).

Сравнение на получените резултати за сумарно ДДТ с нивата на замърсяване в други райони на Черно море и съседни морски екосистеми, установени при други проучвания, е затруднено поради различния начин на представяне на измерените стойности от авторите – на база свежо тегло, на база липидно съдържание, на база сухо тегло. Освен това проучванията са правени през различни периоди от време и са представени средни стойности на получените резултати.

ОБОБЩЕНИЕ ЗА РЕЗУЛТАТИТЕ ЗА СЪДЪРЖАНИЕТО НА ДДТ И МЕТАБОЛИТИ

Във всички анализирани проби от различните видове риби е определено съдържанието на ДДТ и метаболити. Резултатите са представени на база липидно тегло (ng/g lw) и на база свежо тегло (ng/g ww).

Във всички изследвани риби остатъчните количества ДДТ са много ниски в сравнение с метаболитите. Установен е следният ред $ДДЕ > ДДД > ДДТ$ и високо съотношение на $ДДЕ/\Sigma ДДТ$, което показва, че няма употреба на ДДТ в региона и определеното съдържание на ДДТ в пробите е в резултат на стари замърсявания.

Направен е статистически анализ на резултатите по години на улов, по район на улов и по видове риби.

- По години на улов – най-високо замърсяване се открива в 2009г. и намаляване в 2010г. и 2011г.
- По район на улов – рибите от район Юг показват по-ниско замърсяване от останалите два района, когато резултатите се отнасят за липидно тегло на пробите, а когато се отчитат на база свежо тегло – район Варна.
- По видове риби – при представяне на резултатите на база липидно тегло, най-ниски стойности на ДДТ и метаболити са установени при сафрид и паламуд, а най-високи – при кая, калкан, трицона и зарган.

Сравнението на получените данни с резултати от проучвания на други автори показва, че нивата на замърсяване с ДДТ и метаболити са по-ниски от тези, установени в други райони на Черно море и съизмерими с резултати за някои видове риби от Мраморно и Средиземно море.

II. ОПРЕДЕЛЯНЕ НА ТЕЖКИ МЕТАЛИ В ЧЕРНОМОРСКИ РИБИ

В околната среда концентрацията на редица химични елементи с токсично действие се повиши в резултат на развитие на индустрията и редица други дейности на човека, което доведе до неблагоприятни ефекти, както върху околната среда и живите организми, така и върху човека. Появи се необходимост от извършване на биомониторинг и изследвания, свързани с тяхното разпространение, ефекти и токсичност.

Установено е, че голяма част от тези елементи са от групата на тежките метали, които са устойчиви, биоакумулират се в околната среда, растенията и животните. Това означава, че при продължително въздействие, нивото им в живите организми се повишава и се увеличава токсичния ефект и влияние върху локалните екосистеми, а по хранителната верига те достигат и до човека. По принцип токсични елементи се откриват навсякъде в околната среда, но в по-големи количества те се натрупват във водните басейни – реки, морета и океани, организмите, които ги обитават, както и в седиментите. Редица автори посочват морските организми (най-вече рибите и мекотелите) като биоиндикатори на замърсяването с тежки метали на водните басейни. Особено внимание се обръща на металите олово, кадмий, арсен и живак, никел, тъй като

те се считат за значително токсични, оказват влияние върху човешкото здраве и се акумулират в морските организми, водата и седиментите.

В настоящата работа е направено изследване за съдържание на тежки метали в черноморски риби за периода 2004–2011г., във връзка с оценка на безопасността на нашите като храна и за оценка на замърсяването на Черно море.

Аналитичен ход и резултати за периода 2004-2007г.

Изследвани са следните видове риби: кая, трицона, сафрид, карагьоз, чернокоп, паламуд, кефал и калкан от различни места на трите района – Север, Варна, Юг. Разлагането на пробите е осъществено на пясъчна баня при 200 °C при използване на KNO_3 . Всички рибни проби са анализирани трикратно за съдържание на **Cd, Cu, Fe, Mn и Pb**, като е използван атомно абсорбционен спектрометър (Varian Model Spectrometer AA-240) с деутериев коректор и пламък ацетилен/въздух.

Анализирани са три вида проби, резултатите показват, че в най-голяма степен химичните елементи Pb, Cd, Cu, и Mn се акумулират в пробата от хриле, кости и кожа, следва черен дроб, а **най-ниска е концентрацията в ядивната тъкан**. Например, при кая: в хрилете оловото е приблизително 3.45 mg/kg ww, а в ядивната част – 0,13 mg/kg ww; кадмият в хрилете е 0,045 mg/kg ww, докато в ядивната част не се открива; мед – в хрилете е 1,45 mg/kg ww, а в ядивната част е около 1.0 и най-голяма е концентрацията в черния дроб.

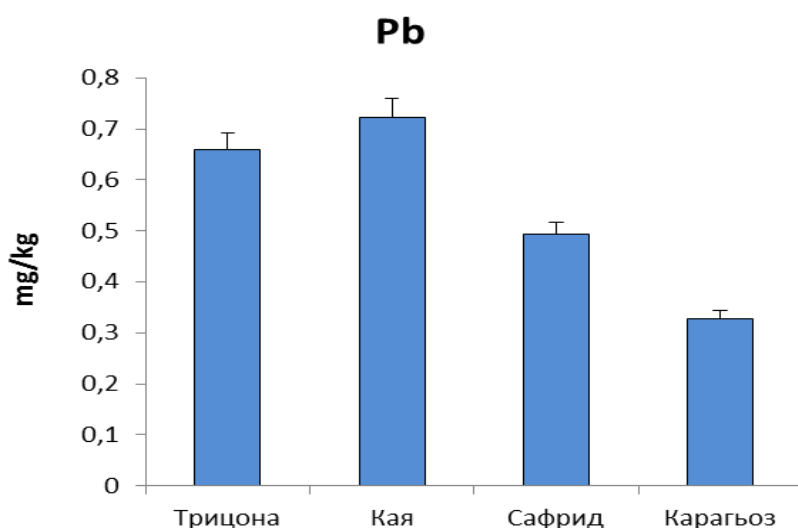
Анализите на тежките метали през 2005, 2006 и 2007 година са извършени само в проби от ядивна тъкан. В таблица 16 са показани обобщени резултати за четирите вида риби – трицона, кая, сафрид и карагьоз, получени от всички анализирани проби по години за периода 2004- 2007г. При трицона и кая се наблюдава известно понижение на концентрацията на олово през 2006 – 2007г., докато при сафрида понижаването е през 2005 г. и 2006 г. и повишаване през 2007 г. При карагьоза концентрацията на олово се повишава през 2005 г., след което намалява през 2007 г. кадмият се открива в много ниски концентрации във всички изследвани проби. За химичния елемент мед се наблюдава нарастване на концентрацията при сафрид и при кая (2005-2006 г.).

Таблица 16.

Година	Трицона					Кая				
	Pb	Cd	Cu	Mn	Fe	Pb	Cd	Cu	Mn	Fe
2004	0,73	0,06	1,31	2,34	17,72	0,48	0,10	1,33	0,25	6,44
2005	0,74	0,25	2,12	4,57	43,54	0,98	0,16	1,59	0,48	3,82
2006	<0.05	0,06	1,33	1,54	1,18	<0.05	0,01	1,50	0,31	5,56
2007	0,51	0,12	1,45	3,48	29,93	0,71	0,07	1,06	0,26	12,12
Година	Сафрид					Карагъоз				
	Pb	Cd	Cu	Mn	Fe	Pb	Cd	Cu	Mn	Fe
2004	0,64	<0.02	0,64	0,15	8,21	0,13	<0.02	2,3	0,14	9,34
2005	0,32	0,15	1,42	0,31	4,24	0,64	0,07	1,29	0,15	6,11
2006	0,38	0,11	2,26	0,65	9,71	<0.05	0,06	1,24	0,37	2,31
2007	0,63	0,05	1,37	0,51	20,35	0,21	<0.1	1,71	0,9	27,68

При трицоната се наблюдава нарастване през 2005 г. и 2007 г. при каята и сафрида не се наблюдава съществена промяна в концентрацията на манган. Във всички изследвани проби желязото е в най-високи концентрации. Високи концентрации на желязо се откриват и в морската вода (по данни от РИОС – Варна).

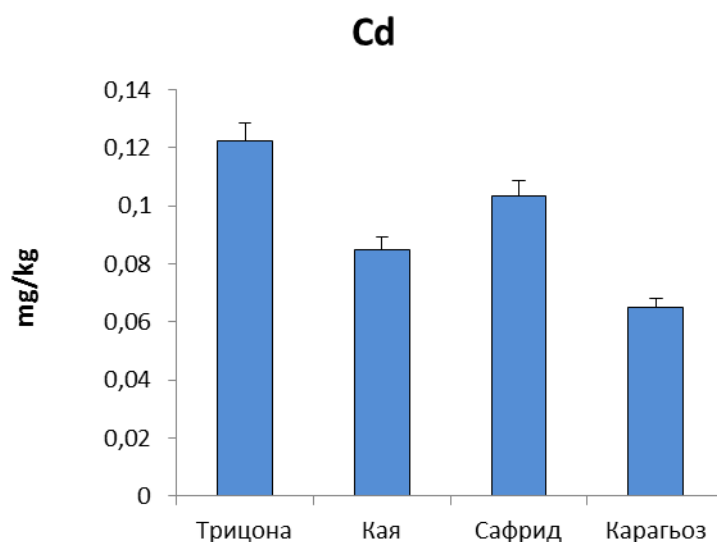
На фиг. 23-27 са представени **обобщени резултати** за изследваните химичните елементи за целия период 2004 – 2007 г. по видове риби.



Фиг. 23

Съдържание на олово в различни видове риба

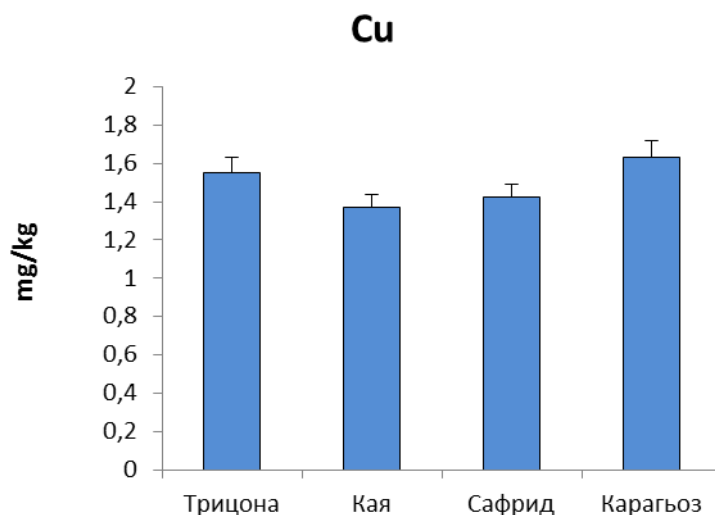
Резултатите показват, че съдържанието на оловото е в границите 0,34 – 0,72 mg/kg ww. По-високи концентрации са определени при кая и трицона, а по-ниски – при сафрид и карагьоз. Каята и трицоната са видове риби, които обитават нашата част на Черно море и могат да бъдат индикатор за замърсяването в района. Каята е дънна риба, обитава крайбрежните зони, докато трицоната се доближава до крайбрежието, но навлиза и навътре в морето. Сафридът и карагьозът идват от Мраморно море и турската част на Черно море през пролетта и лятото и се връщат през есента.



Фиг. 24

Съдържание на кадмий в различни видове риба

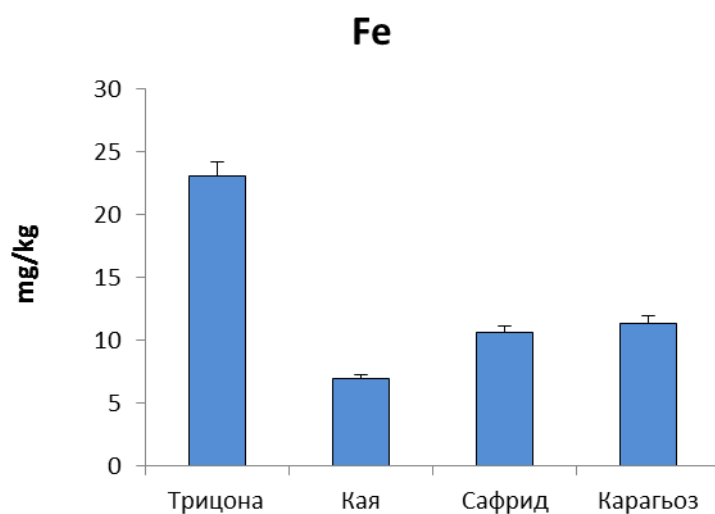
Кадмият е в най-високи концентрации при трицона и сафрид, а при каята и карагьоза – по-малка концентрация. Двата токсични елемента - олово и кадмий са с най-ниска концентрация при карагьоза, а при кая и трицона - по-високи концентрации. Карагьозът натрупва повече мед, както е показано на фиг. 27.



Фиг. 25

Съдържание на мед в различни видове риба

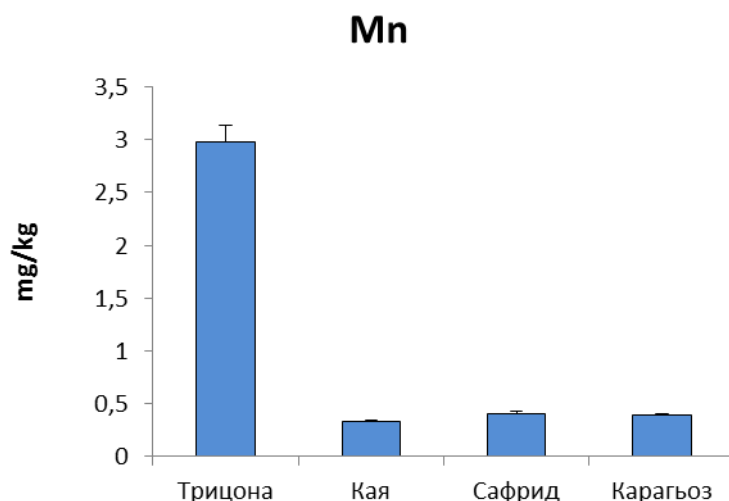
Медта е с по-висока концентрация и при трициона, а в значително по-ниска – при кая.



Фиг. 26

Съдържание на желязо в различни видове риба

Желязото и мангана са с най-високи концентрации при всички изследвани риби. Двата химични елемента се натрупват при триционата в най-голяма степен и в значително по-ниски концентрации в останалите видове.



Фиг. 27

Съдържание на манган в различни видове риба

От посочените на графиките резултати може да се направи **следното обобщение**: триционата натрупва в по-големи количества и петте химични елемента, каята натрупва олово и кадмий, докато при сафрида по-високи концентрации са установени за кадмий, олово и до известна степен мед. При карагъоза най-висока е концентрацията на мед, останалите химични елементи са в по-ниски концентрации в сравнение с останалите видове риби.

Паламуд, кефал, чернокоп и калкан са другите видове риби, изследвани в този период. Пробите при тези видове са значително по-малко, защото в някои от годините е нямало улов или е бил ограничен. При паламуда се откриват концентрации на олово и кадмий, съизмерими с тези при трициона и значително по-ниски при чернокоп, кефал и калкан. При останалите химични елементи – мед, манган и желязо резултатите са: за мед - подобни на тези при кая, трициона, сафрид и карагъоз; манган и желязо - подобни на кая, сафрид и карагъоз. Кефал и калкан показват по-ниско съдържание на олово и кадмий и съизмерими количества на мед, манган и желязо като при другите видове риби.

С използвания метод за анализ не могат да се определят арсен и живак, които се натрупват в рибите и техните концентрации са важни за мониторинга на замърсяването на Черно море и за безопасността на рибите като храна. Това наложи при по-нататъшните изследвания да се смени използваната апаратура и начина за пробоподготовка.

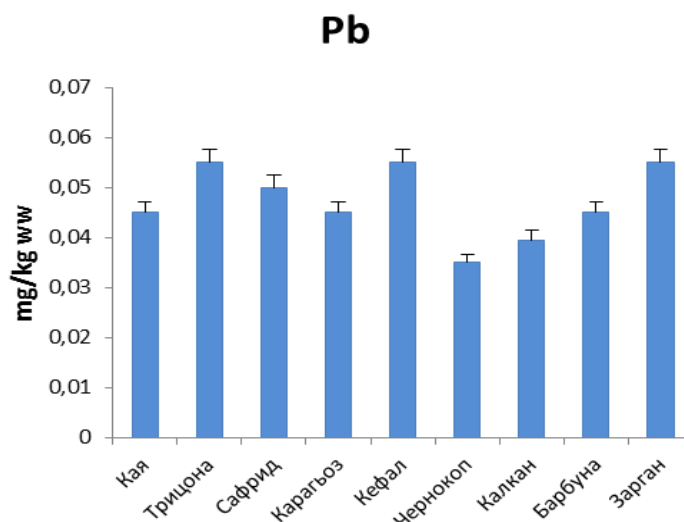
Новата пробоподготовка включва микровълново разлагане на проба от 1 g, в присъствие на азотна киселина при 300°C. Пробата се промива с ултрачиста дейонизирана вода, хомогенизира се и се подлага на разлагане.

Определянето на As, Cd, Ni и Pb е извършено с електротермична атомно абсорбционна спектрометрия Perkin Elmer Zeeman 3030, с атомизатор HGA-600, а на Cu, Fe, Mn и Zn е извършено с пламъков атомно абсорбционен спектрометър Perkin Elmer Zeeman 1100B, с пламък въздух/ацетилен. Живакът е определен чрез използване на Milestone Direct Mercury Analyzer DMA-80.

Резултати за съдържанието на тежки метали за периода 2010 – 2011 г.

Анализирани са десет химични елемента в различните видове риби. Пробите са набрани през 2010 и 2011г. от различни райони. Резултатите от анализите са представени в таблици 17 и 18 като (mean ± sd) в mg/kg ww.

На фигури 28–37 са представени в графичен вид средните резултатите от 2010 и 2011г. на всеки един химичен елемент, определен в различните видове риби.



Фиг. 28

Съдържание на олово в различни видове черноморски риби

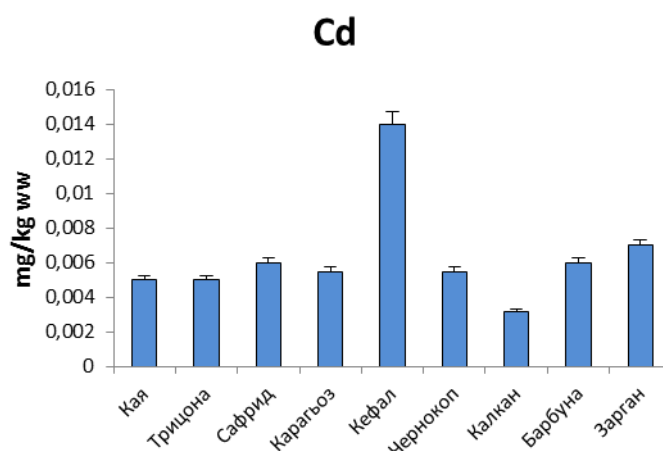
Таблица 17. Средна концентрация на тежки метали (в mg/kg w.w.) в рибни видове от Българското Черно Море (2010)

Проба	Район	Pb		Cd		Hg		As		Ni		Cr		Zn		Cu		Fe		Mn	
		mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD
Кая	Крапец	0.03	0.01	0.006	0.001	0.05	0.01	0.66	0.04	0.008	0.001	0.05	0.01	9.0	1	0.76	0.05	9.0	1.0	0.07	0.01
Трицона	Несебър	0.08	0.02	0.005	0.001	0.12	0.02	0.73	0.04	0.028	0.003	0.04	0.01	11.0	0.7	1.4	0.08	9.0	1.0	0.11	0.01
Сафрид	Несебър	0.06	0.01	0.008	0.001	0.16	0.02	0.73	0.05	0.008	0.001	0.03	0.01	8.5	0.6	0.56	0.04	4.2	0.3	0.06	0.01
Карагъоз	Балчик	0.05	0.01	0.007	0.001	0.08	0.01	0.38	0.02	0.07	0.01	0.05	0.01	9.0	1.1	0.45	0.03	9.1	1.0	0.11	0.01
Кефал	Варненско езеро	0.07	0.01	0.024	0.002	0.08	0.01	0.90	0.11	0.017	0.003	0.08	0.01	10.0	1.1	0.71	0.05	4.2	0.3	0.09	0.01
Чернокоп	Несебър	0.03	0.01	0.008	0.001	0.09	0.01	0.77	0.06	0.009	0.001	0.06	0.01	10.0	1.0	0.8	0.1	5.0	0.4	0.08	0.01
Паламуд	Несебър	0.06	0.01	0.015	0.002	0.13	0.02	0.41	0.03	0.011	0.002	0.07	0.01	10.0	1.0	0.66	0.05	6.0	1.0	0.13	0.01
Калкан	Варна	0.019	0.003	0.014	0.002	0.09	0.02	1.72	0.31	0.009	0.001	0.06	0.01	0.18	0.03	0.042	0.007	0.21	0.06	0.07	0.01
Барбун	Балчик	0.03	0.01	0.009	0.001	0.11	0.01	2.71	0.21	0.007	0.001	0.06	0.01	6.2	0.3	0.44	0.02	4.2	0.3	0.11	0.01
Зарган	Несебър	0.07	0.01	0.011	0.002	0.18	0.02	0.24	0.02	0.006	0.001	0.06	0.01	9.5	0.8	0.43	0.03	6.0	1.0	0.05	0.01

Таблица 18. Средна концентрация на тежки метали (в mg/kg w.w.) в рибни видове от Българското Черно Море (2011)

Проба	Район	Pb		Cd		Hg		As		Ni		Cr		Zn		Cu		Fe		Mn	
		mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD
Кая	Крапец	0.06	0.01	0.004	0.001	0.05	0.01	2.46	0.22	0.028	0.002	0.05	0.01	3.9	0.3	0.20	0.01	1.76	0.11	0.35	0.03
Трициона	Варна	0.03	0.01	0.005	0.001	0.10	0.02	1.93	0.17	0.008	0.001	0.03	0.01	12.7	1.0	0.30	0.02	2.92	0.18	2.04	0.16
Сафрид	Варна	0.04	0.01	0.004	0.001	0.09	0.01	1.42	0.13	0.043	0.004	0.04	0.01	6.4	0.5	0.42	0.03	5.02	0.31	0.13	0.01
Карагъоз	Каварна	0.04	0.01	0.004	0.001	0.10	0.01	1.47	0.13	0.006	0.001	0.01	0.01	2.9	0.23	0.43	0.03	4.69	0.28	0.18	0.01
Кефал	Варненско езеро	0.04	0.00	0.004	0.001	0.09	0.02	1.24	0.11	0.024	0.002	0.03	0.01	1.8	0.15	0.11	0.01	3.06	0.18	0.24	0.02
Чернокоп	Варна	0.04	0.01	0.003	0.001	0.11	0.03	1.02	0.09	0.015	0.001	0.01	0.01	4.0	0.32	0.37	0.03	3.28	0.20	0.25	0.02
Калкан	Варна	0.06	0.01	0.005	0.001	0.08	0.01	3.99	0.36	0.064	0.006	0.02	0.01	4.8	0.4	0.19	0.01	5.94	0.36	0.24	0.02
Барбун	Варна	0.06	0.01	0.003	0.001	0.02	0.00	2.35	0.21	0.011	0.001	0.15	0.01	17.1	1.0	0.99	0.07	95.05	6.11	2.31	0.18
Зарган	Варна	0.04	0.01	0.003	0.001	0.10	0.01	0.40	0.04	0.052	0.005	0.04	0.01	8.8	0.7	0.20	0.01	3.72	0.22	0.14	0.01

Резултатите показват, че съществена разлика в концентрациите на олово при изследваните видове не се наблюдава. По-високи концентрации има при трициона, сафрид, зарган и кефал, но те са значително по-ниски от определените за периода 2004–2007 г. и от максимално допустимата концентрация за олово в морски храни, определена от ЕУ (2006), която е **0.3 mg/kg** свежо тегло за риба. В България нормата е 0.4 mg/kg свежо тегло (Наредба 31, 2004). Турски автори докладват за съдържание на Pb в риби от турското крайбрежие на Черно море: 0.28 mg/kg за калкан и 0.87 mg/kg за чернокоп, които са по-високи от получените в това изследване.

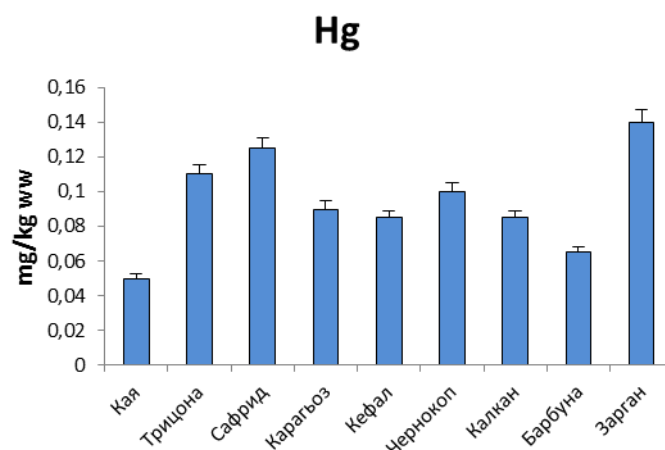


Фиг. 29

Съдържание на кадмий в различни видове черноморски риби

Графиката показва, че единствено при кефала се наблюдава по-висока концентрация на кадмий, но тя е под максимално допустимите стойности, определени като норми от различни институции. Според норми на ЕУ (ЕЕС, 2001) и България (Наредба 31, 2004), максимално допустимата концентрация за **Cd** в риба е **0.05 mg/kg** свежо тегло. Количеството на кадмий в анализирани проби е под 0.025 mg/kg свежо тегло, по-ниско в сравнение с други изследвания за черноморски риби от турската част на Черно море: 0.10 mg/kg за калкан, 0.35 mg/kg за кефал, 0.23 mg/kg за чернокоп, 0.13 mg/kg за паламуд, 0.32 mg/kg за сафрид и 0.30 mg/kg за трициона.

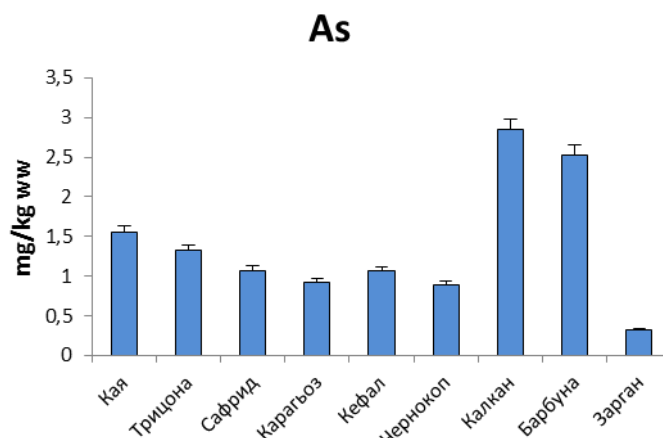
Максимално допустимата концентрация на **живак** в България и нормата на Европейската комисия от 2006 г. е **0.5 mg/kg** свежо тегло за риба. Във всички анализирани проби съдържанието на живак е по-ниско.



Фиг. 30

Съдържание на живак в различни видове черноморски риби

Резултатите за живак на пробите от 2010 и 2011 г. показват по-високи концентрации при трицона, сафрид и зарган. Въпреки че каята е дънна риба и може да се предположи, че ще акумулира в по-голяма степен някои тежки метали, тя показва по-ниски концентрации на химичните елементи Pb, Cd и Hg и малко по-високи за As (фиг. 31).



Фиг. 31

Съдържание на арсен в различни видове черноморски риби

Нормата по Наредба 31 за арсен в риба е 5.00 mg/kg свежо тегло. От фиг. 31 се вижда, че концентрациите на As в изследваните видове риби не надминават посочената норма. Резултатите от двете години показват по-високи концентрации на арсен в калкан и барбуна, по-малка концентрация при

кая и трицона и най-малка - при зарган. Наблюдава се повишаване на съдържанието на арсен през 2011 г. в почти всички изследвани проби, с изключение на барбуна.

Данните в литературата относно съдържанието на арсен в риби от Черно море са ограничени. Турският автор Tuzen, 2009 докладва резултати за съдържание на арсен в различни видове черноморски риби от турското крайбрежие по-ниски от нашите, докато Korkmaz Gorur et al., 2012 – по-ниски. Концентрациите на арсен в нашите черноморски риби са по-ниски от други литературни данни, например от изследвания на испански автори, които са определили съдържанието на арсен, живак, кадмий и олово на голям брой рибни видове, характерни за техните райони.

Резултатите за останалите химични елементи /Ni, Cr, Zn, Cu, Fe, Mn/ са под максимално допустимите норми.

В таблица 19 е направено сравнение на резултатите от периода 2004-2007 г. с тези, получени през 2010-2011 г. за видовете трицона, кая, сафрид и карагьоз.

Таблица 19.

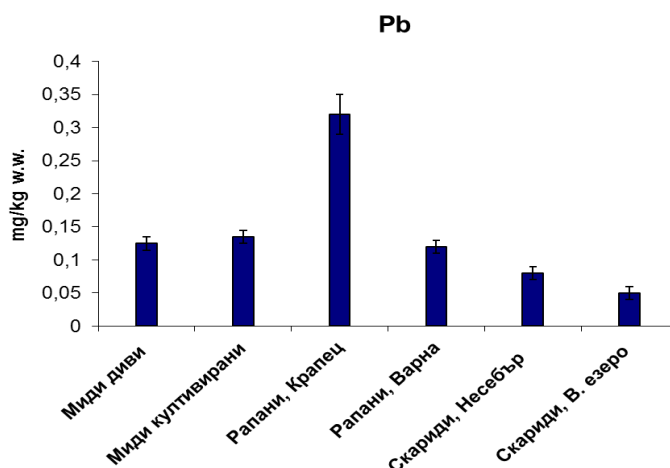
Химичен елемент	Период	Трицона	Кая	Сафрид	Карагьоз
Pb	2004-2007	0,66	0,72	0,49	0,33
	2010-2011	0,06	0,05	0,05	0,05
Cd	2004-2007	0,12	0,09	0,10	0,07
	2010-2011	0,01	0,01	0,01	0,01
Cu	2004-2007	1,55	1,37	1,42	1,64
	2010-2011	0,85	0,48	0,49	0,44
Mn	2004-2007	2,98	0,33	0,41	0,39
	2010-2011	1,08	0,21	0,09	0,15
Fe	2004-2007	23,09	6,99	10,63	11,35
	2010-2011	5,38	5,99	4,60	6,85

Резултатите показват около десет пъти по-ниски стойности за олово: 0,045-0,055 mg/kg ww за периода 2010-2011 г., отколкото за периода 2004-2007 г. (0,33-0,72 mg/kg ww); при кадмия също има значително по-ниски стойности през 2010-2011 г. (0,005-0,006 mg/kg ww) в сравнение с периода 2004-2007 г. (0,07-0,12 mg/kg ww). За останалите три химични елемента мед, манган и желязо резултатите за 2010-2011 г. също са по-ниски.

Сравняването на резултатите за различните видове риби за периода 2010-2011 г. с периода 2004-2007 г. показват, че **оловото** през 2004-2007 г. е с по-високи концентрации при **трицона и кая**, **кадмият** - при **трицона и сафрид**, докато през 2010-2011 г. резултатите за двата елемента са съизмерими за четирите вида риби. **Медта и манганът** и за двата периода 2004-2007 г. и 2010-2011 г. се натрупват в по-големи количества при **трицона**. В заключение трябва да се отбележи, че определените концентрации на изследваните пет химични елемента Pb, Cd, Cu, Mn, Fe **са по-ниски през 2010 – 2011 г. в сравнение с периода 2004 – 2007 г.**

Анализ на черноморски миди, рапани и скариди

В литературата не се откриват резултати за съдържание на тежки метали в наши черноморски риби за период преди 2000г., а само за някои химични елементи в черноморски миди и рапани (Р. Икономова, 1999 дисертация). За да се направи оценка на замърсяването на Черно море, са изследвани определен брой миди, рапани и скариди. Те са пробонабирани в 2010-2011г. и са сравнени с резултатите на Икономова. На следващите фигури 38-41 са представени резултати за химичните елементи олово, кадмий, живак и арсен.

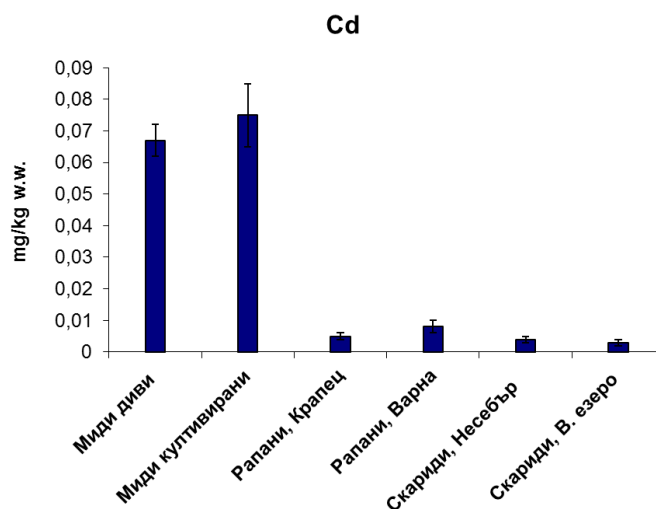


Фиг. 38

Съдържание на олово в черноморски мекотели

Най-високи концентрации на олово се откриват в рапани от района на Крапец, а най-ниски – при скаридите. Култивираните и дивите миди показват приблизително едно и също съдържание на олово. Във всички изследвани

проби концентрациите на олово в миди и рапани са по-ниски в сравнение с резултатите на Икономова (0,92 mg/kg ww за миди и 0,46 mg/kg ww за рапани).

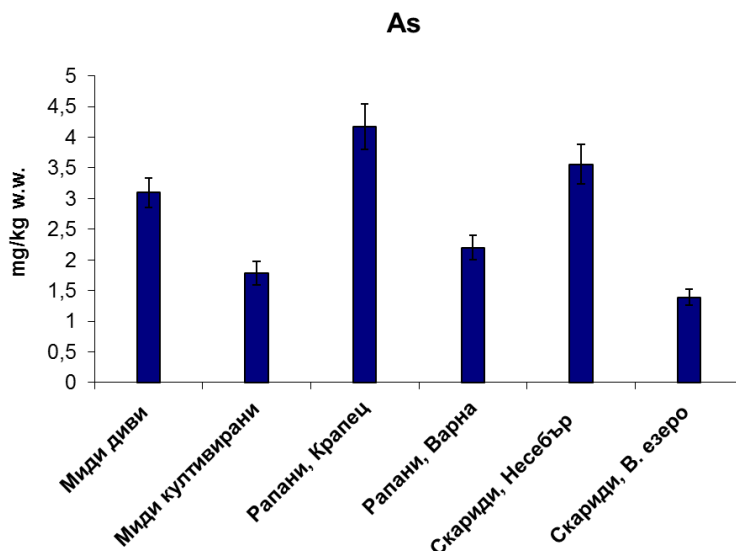


Фиг. 39

Съдържание на кадмий в черноморски мекотели

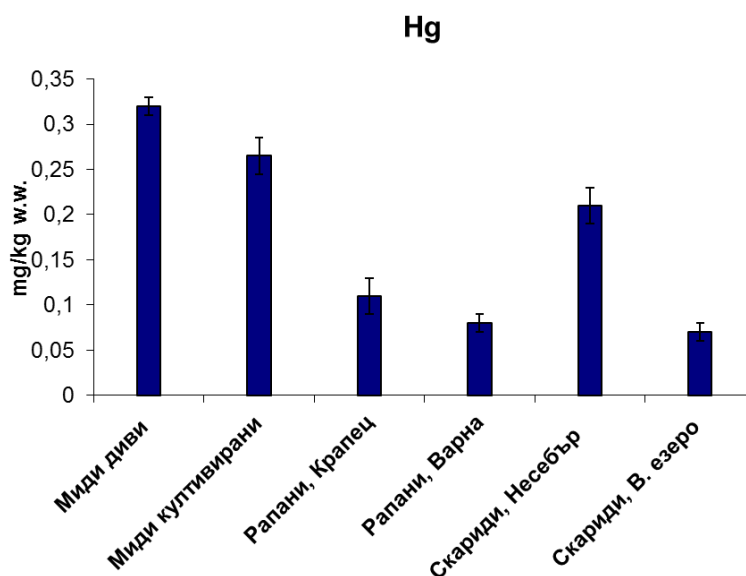
В България нормата за Pb и Cd за ракообразни е 0.5 mg/kg, а за миди, съответно 1.5 mg/kg за Pb и 1.0 mg/kg свежо тегло за Cd (Наредба 31, 2004). Най-високи концентрации на кадмий са определени при миди, а най-ниски за рапани и скариди.

Сравнението с резултатите от изследването на Икономова показва, че концентрациите на кадмий в миди сега са около десет пъти по-ниски (0,10-0,90 mg/kg ww). Още по-ниски са концентрации за кадмий в рапани (<0,01 mg/kg ww), докато при Икономова те са (0,24-0,97 mg/kg ww).



Фиг. 40

Съдържание на арсен в черноморски мекотели през 2010 и 2011г.



Фиг. 41

Съдържание на живак в черноморски мекотели през 2010 и 2011г.

Нормата за арсен за ракообразни и миди е 2 mg/kg свежо тегло (Наредба 31, 2004). Концентрациите на арсен са по-високи от установените норми при диви миди, рапани и скарриди от района на Несебър. Получените стойности, обаче, са по-ниски в сравнение с проучванията на Икономова (0,28-5,15 mg/kg ww за миди и 2,52-10,14 mg/kg ww за рапани).

За ракообразни и черупчести организми Европейската комисия определя норма за живак – 0.5 mg/kg свежо тегло (Регламент 1881/2006). Най-висока концентрация за живак е измерена при миди- диви (0,32 mg/kg ww), по-ниска

при култивирани (0,27 mg/kg ww) и при скариди (0,23 mg/kg ww). Получените стойности са по-високи в сравнение тези от проучванията на Икономова (1999г), който са 0,07-0,24 mg/kg ww за миди и 0,07-0,22 mg/kg ww за рапани.

Съществува оскъдна информация за съдържанието на тежки метали в морски мекотели от Черно море. Получените от нас резултати са по-ниски от тези, които се съобщават в литературата.

ОБОБЩЕНИЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ ЗА СЪДЪРЖАНИЕТО НА ТЕЖКИ МЕТАЛИ

1. За периода 2004-2007 г. е определено съдържанието на пет химични елемента: Pb, Cd, Cu, Mn и Fe в четири вида риби. Изследвани са три вида проби - ядивна тъкан, черен дроб и в една проба хриле кожа и кости на рибни видове, пробонабирани през 2004 г. Най-ниски са концентрациите в ядивната тъкан и поради целта на изследването – оценка на безопасността на рибата като храна, следващите анализи са на ядивната част. Средните концентрации на посочените химични елементи в ядивната тъкан на изследваните видове риби за периода 2004 - 2007 г. са по-ниски от определените норми за страната, по-ниски и съизмерими с изследвания на други автори, изследвали черноморски риби от други части на Черно море.

2. За периода 2010 - 2011 г. са изследвани десет вида черноморски риби, приложена е нова пробоподготовка и апаратура за анализ, които дават по-добри резултати. Анализираните химични елементи са десет, като освен петте, посочени по-горе, са определени още никел, арсен, живак, цинк и хром. Сравнението на резултатите от двата периода на изследване показва, че през 2010-2011 г. определените стойности са по-ниски при всички химични елементи в изследваните черноморски риби, особено при олово и кадмий, където те са приблизително десет пъти по-ниски.

3. Концентрациите на тежките метали **Pb, Cd, Hg и As**, които се акумулират в морски организми и са обект на контрол в морските храни, показват по-ниски стойности от допустимите норми, установени за България и ЕС. Силно токсичният живак е с много ниски концентрации, същото се отнася за оловото и кадмия, само при арсена концентрациите са по-високи, но нормата

не се надминава. Останалите анализирани химични елементи също показват по-ниски концентрации.

4. Анализът на миди, рапани и скариди, направен през 2010-2011 г. с цел оценка на замърсяването с това преди 2000 г. (Икономова, 1999) показват, че определените концентрации на олово, кадмий, мед, арсен, живак и манган са по-ниски. Това потвърждава тенденцията, наблюдавана при рибите, за по-ниски концентрации на изследваните химични елементи през 2010 – 2011 г. и за по-ниски нива на замърсяването на Черно море сега. За потвърждаване на тази тенденция е необходимо изследванията да продължат, тъй като периодът от две години е твърде малък. Да се направят по-обстойни изследвания на седиментите, мекотелите и връзката между концентрациите на токсичните метали в морската вода, морските организми и седименти.

Във връзка с безопасността на морските организми, използвани като храна, е необходимо да се продължат изследванията, да се получат и обобщат резултати за по-дълъг период от време, както и да се определят токсичните форми на живак и арсен и каква е тяхната част от общата концентрация на тези метали.

III. ОЦЕНКА НА БЕЗОПАСНОСТТА И КАЧЕСТВОТО НА ИЗСЛЕДВАНИТЕ ЧЕРНОМОРСКИТЕ РИБИ КАТО ХРАНА

1. ОЦЕНКА НА БЕЗОПАСНОСТТА ПО ОТНОШЕНИЕ НА ЗАМЪРСЯВАНЕТО С ПХБ, ДДТ И МЕТАБОЛИТИ

Полихлорирани бифенили

Анализът на храните за наличие на устойчиви органични замърсители се извършва за постигане на следните цели:

1. За проверка на безопасността на дадена храна, в съответствие с изискванията на Regulation 1881/2006/EO (REGULATION (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006). Изследванията за безопасност са свързани не само със страната или района, в който се консумира дадена храната, но често са включени като задължителни в догори за внос и износ.

2. За определяне на експозицията на населението или на избрани групи от него.

3. За постоянен или периодичен мониторинг на общото замърсяване на храните в дадена страна или район, който би трябвало да бъде част от общ мониторинг, обхващащ и компонентите на околната среда (вода, въздух, почва).

Логично е при мониторинга да се определят всички съдържащи се в пробите представители на «диоксините» и резултатите да се представят като концентрации, а не като TEQ - стойности, тъй като концепцията за «нетоксичните» компоненти се дискутира и преосмисля. От друга страна информацията за наличието на всички представители дава възможност да се установят причините за замърсяването и да се вземат мерки за редуцирането му, което е основно предназначение на мониторинга.

Методологията за реализиране на цел 1 е достатъчно добре регламентирана, както в европейското законодателство, така и в българското. Лабораториите и използваните методи следва да отговарят на изискванията на БДС EN ISO 17025 (БДС ISO EN 17025), а пробонабирането да се извършва въз основа на съответните наредби.

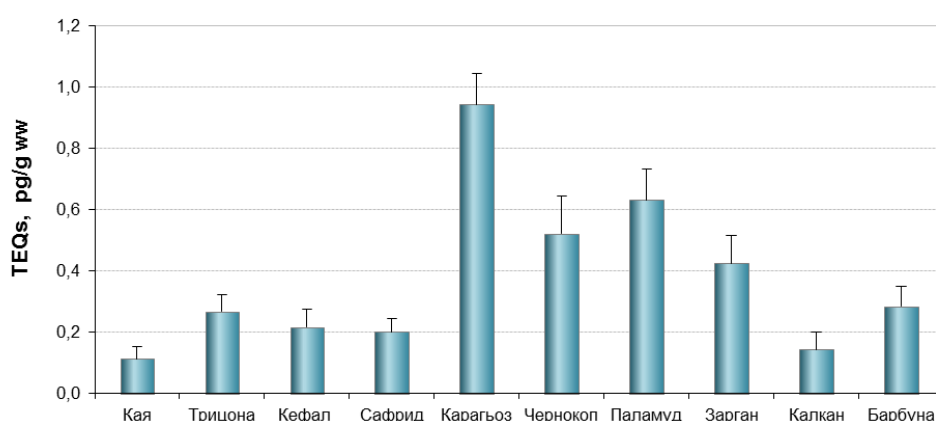
Определянето на експозицията на населението (цел 2) е сложна и доста скъпа процедура, а резултатите в редица случаи не са достатъчно надеждни. Установяването на реалната експозиция на населението е свързана с много трудности по набиране на представителни проби от човешки тъкани и тяхното анализиране и обобщаване. Майчиното мляко се определя от много изследователи и научни организации като най-информативния биоиндикатор за реалната експозиция на цялото население или на определени групи от него с органохлорни трайни замърсители (IPCS (1994); Furst P., et al. 1990; Noren, K., et al., 2000; WHO, 1989; WHO, 1996).

Няма единно мнение по методологията за провеждане на мониторинговите изследвания, по чиито резултати да се съди за замърсяването на храните и на околната среда в даден район. Нещо повече, в последните години класическият мониторинг чрез анализиране на голям брой проби от различни видове храни, почти е отпаднал като подход. Предлага се използването на конкретен вид храна, като индикаторна, така чрез анализирането на тази храна да се оценява, както нейната безопасност, така и замърсяването на околната среда на района. Много научни колективи се обединяват около мнението, че рибите са една от най-подходящите храни като индикатор за обективна оценка на замърсяването

на околната среда. Тъй като около 60 % от «диоксините» са ПХБ, и те са обект на определяне от много лаборатории по света, докато диоксините и фураните се определят в малко лаборатории /сложен и труден анализ/, данните за съдържанието на ПХБ в рибите са много важни. Те могат да се използват както за оценка на замърсяването на храните и околната среда, така и за оценка на експозицията на населението в даден район.

Логично е при мониторинга да се определят концентрациите на всички съдържащи се в пробите ПХБ, а не само на тези с доказана токсичност. Това дава възможност да се установят причините за замърсяването и да се вземат мерки за неговото редуциране, което е основно предназначение на мониторинга.

За да се избегне погрешно тълкуване и сравняване на резултатите от различни проучвания, през 90-те години на миналия век е въведена т.н. токсична еквивалентна концентрация (TEQ). За определяне на TEQ за диоксини и диоксиноподобни ПХБ е приложена методология, разработена от СЗО, според която: $TEQ = \sum([PCDDi * TEFi] + \sum([PCDFi * TEFi] + \sum([PCBi * TEFi]$, където концентрацията на всеки диоксиноподобен конгенер представлява произведение от концентрацията му в пробата и токсичния му еквивалентен фактор. На фиг. 42 са представени определените TEQ на диоксиноподобните ПХБ в изследваните видове риби като средни стойности.



Фиг. 42

Средни стойности на TEQ (pg/g ww) за диоксиноподобни ПХБ по видове риби

Резултатите показват, че рибните видове, които се характеризират с ниско липидно съдържание показват ниски стойности на TEQ, въпреки че сумарната концентрация на ПХБ, изразена като ng/g липидно тегло беше висока. Това са кая и калкан, докато тези с по-високо липидно съдържание – карагьоз, чернокоп, зарган, паламуд, показват по-високи стойности на TEQ. При тях се появяват в по-високи концентрации диоксиноподобните ПХБ и това се отразява на стойностите на TEQ. Това са не-орто ПХБ с № 77, 126, 169 и моно-орто ПХБ с № 105, 118, 156. Токсичните еквивалентни концентрации дават информация за въздействието на тези конгенери върху организмите и показват каква е тежестта на токсичното влияние.

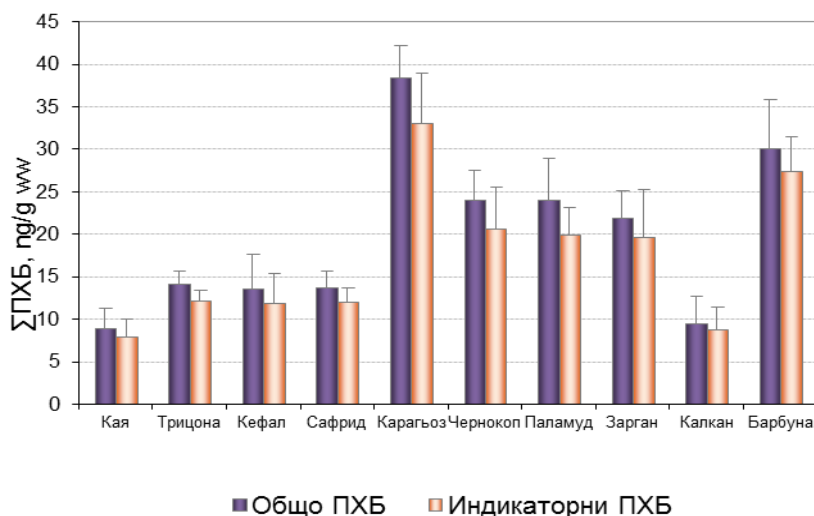
За всички изследвани черноморски видове риби TEQ стойности са по-малки от 1 pg/g ww и са значително по-ниски от определените за Европейския съюз стойности за риба и рибни продукти:

8 pg/g ww WHO-TEQ (Regulation 1881/2006 г.)

Както беше отбелязано, **седем от анализирани ПХБ с № 28, 52, 101, 118, 138, 153 и 180 са определени от Европейската комисия като индикаторни конгенери** и също се използват за оценка на замърсяването на храните. Наличието на индикаторни ПХБ е важно за оценка степента на липофилно замърсяване, въпреки че тяхната токсичност е по-малка от тази на диоксиноподобните ПХБ. В Европейския съюз са определени гранични стойности за ПХБ (**200 ng/g lw като сума от индикаторни ПХБ**) за месо от сухоземни животни, но не и за риба и рибни продукти.

В Германия максимално допустимите граници на замърсяване с ПХБ са определени само за 6 индикаторни ПХБ. За всеки конгенер ПХБ с № 153 и № 138 максимално допустимата концентрация е **100 ng/g w.w** за морска риба, докато максимално допустимата концентрация за ПХБ с № 28, 52, 101 и 180 е **80 ng/g ww**. Измерените концентрации на тези ПХБ за всички анализирани видове риба в настоящото проучване са значително **по-ниски** от посочените стойности. Дори при риби с относително високо съдържание на ПХБ като карагьоз и чернокоп най-високите измерени стойности за ПХБ 153 са 41.66 и 27.17 ng/g ww, съответно.

На фиг. 43 са представени сумите от седемте индикаторни и от 15-те определяни ПХБ във всички изследвани проби риби.

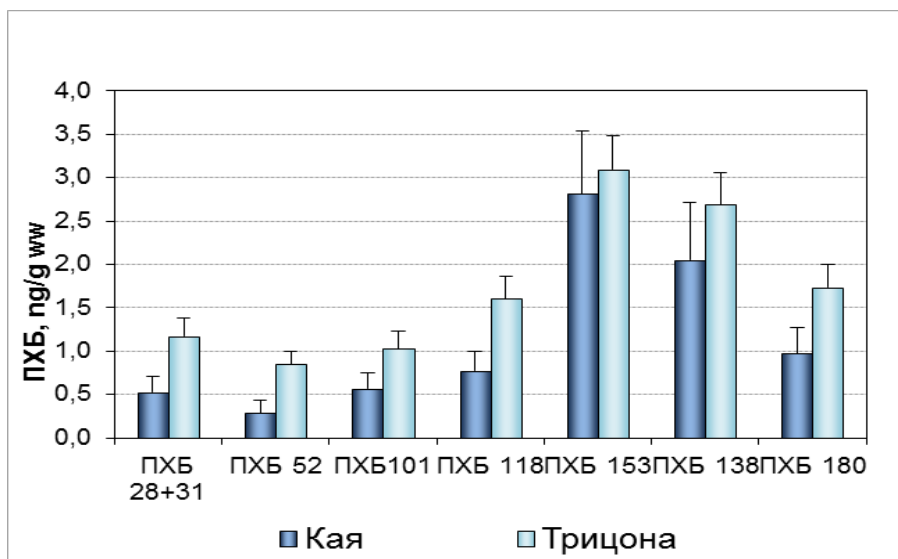


Фиг. 43

Общо съдържание на ПХБ и на индикаторни ПХБ

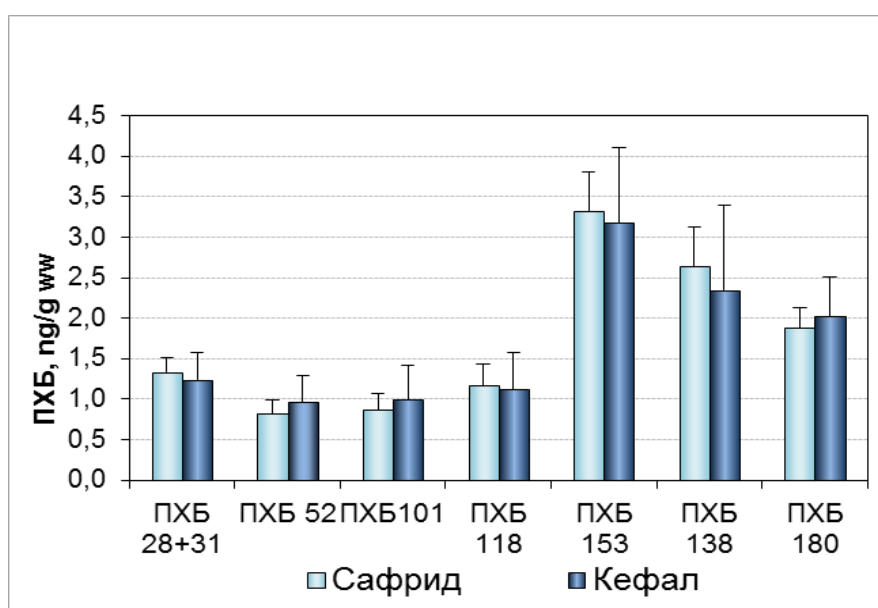
Резултатите показват, че сумата от индикаторните ПХБ е много близка до общата сума ПХБ. Следователно замърсяването на нашите черноморски риби е предимно от индикаторни ПХБ.

Разпределението на отделните индикаторни ПХБ при различните видове риби – кая, трицона, сафрид и кефал е представено на фиг. 44 и 45. Подобен конгенерен профил съответства и при останалите видове риби. При други европейски изследвания също е получен подобен профил, което показва че използваните смеси от ПХБ са били едни и същи.



Фиг. 44

Конгенерен профил на индикаторни ПХБ, ng/g ww при кая и трицона за периода 2007-2011г



Фиг. 45

Конгенерен профил на индикаторни ПХБ, ng/g ww при сафрид и кефал за периода 2007-2011 г.

Представените графични зависимости (фиг. 44 и фиг. 45) показват приблизително едно и също разпределение на отделните конгенери при различните видове риби.

Сумата от седемте индикаторни конгенера, представлява 73,2% от общото съдържание на ПХБ при различните видове риба. Сред седемте индикаторни конгенера само ПХБ 101, 118, 138 и 153 са открити във всички проби от трите района на пробовземане.

Сред показаните конгенери доминират хепта-, хекса-, и пентахлорираните ПХБ (180, 153, 138 и 118), които заедно представляват от 58,5% до 80,9% от общата сума ПХБ при отделните изследвани видове. Тези конгенери са най-широко разпространени и в търговските смеси ПХБ като Aroclor 1254 и Aroclor 1260, които са най-често използвани в европейските страни. Това е една от причините те да присъстват в морските екосистеми и да бъдат откривани в значителни количества в морските организми и седименти. Доминирането на ПХБ с № 180, 153, 138 и 118 също се дължи и на тяхната висока липофилност, стабилност и устойчивост на молекулните им структури, което улеснява адсорбцията им върху повърхността на седиментите и натрупването им във водните екосистеми.

Във всички анализирани рибни проби най-високи концентрации са установени за хексахлорираните изомери ПХБ 153 и ПХБ 138, следвани от ПХБ 118, 180, 101 и 52. Редица автори съобщават съобщават, че ПХБ 153 и 138 преобладават и в рибни видове от различни крайбрежни зони в Средиземно, Адриатическо и Мраморно море.

Сравняването на резултатите от направеното изследване с литературни данни и от представената по-горе таблицата показват, че сумите от индикаторните ПХБ при нашите черноморски риби са по-ниски и съизмерими с други данни от литературата.

ДДТ и метаболити

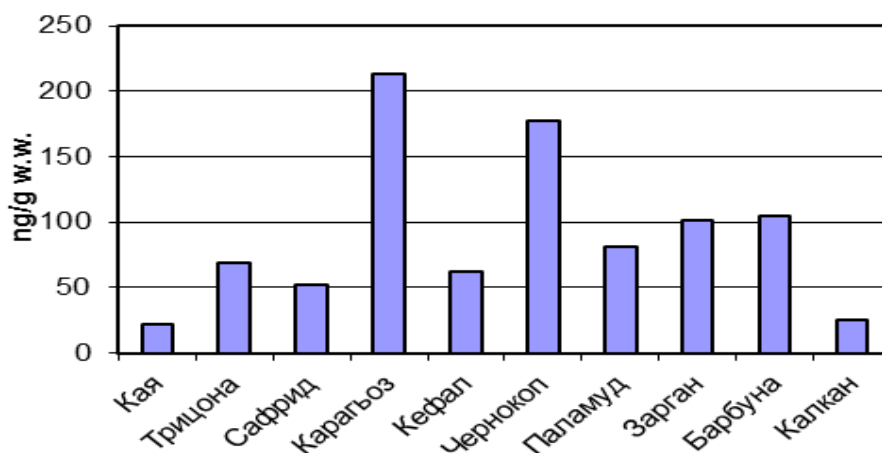
В България все още не са регламентирани гранични стойности за остатъци от ДДТ и метаболити в риба и морски продукти. Според немското законодателство за регулиране на остатъци от пестициди в храни, максимално допустимите граници на остатъчни количества за **ДДТ, като сума от: ДДТ + ДДЕ + ДДД са :**

- за риба с ниско съдържание на мазнини (под 10%) - 500 ng/g ww
- за риба с високо съдържание на мазнини (над 10%) - 5000 ng/g ww

Резултатите от статистическата обработка на данните по видове риба за целия период на изследването, представени като ng/g ww са показани в таблица 20 и фиг. 46.

Таблица 20. ДДТ, по отношение на свежо тегло, ng/g ww

Вид риба	Брой проби	Средна аритм. стойност	Доверителен интервал		Средна геометрич. стойност	Доверителен интервал		Min	Max
			Доверителен интервал	Доверителен интервал		Доверителен интервал	Доверителен интервал		
Кая	18	22	16,5	29	20,0	16	31	5,6	55
Трицона	11	69	48,0	91	63,0	43	91	23,7	109
Сафрид	18	52	36,0	67	45,0	33	60	19,8	107
Карагъоз	12	213	152,0	275	173,0	94	316	13,8	325
Кефал	12	62	32,0	92	47,0	27	83	7,7	148
Чернокоп	8	178	109,0	248	165,0	111	245	100,0	289
Паламуд	4	81	-5,5	168	44,0	3	741	3,0	124
Зарган	4	101	54,0	148	100,0	63	158	80,0	118
Барбуна	3	105	-226,0	435	101,0	5	2180	78,0	131
Калкан	4	25	-30,0	79	18,8	2	170	8,6	50



Фиг. 46

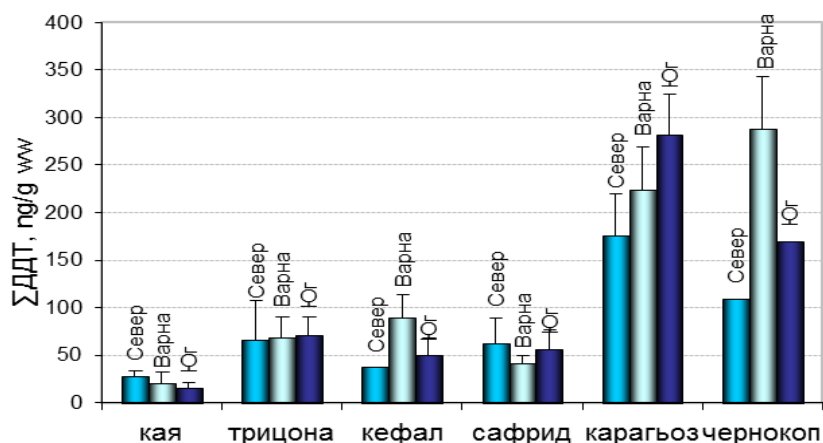
Средни аритметични стойности на сумата от ДДТ и метаболити по видове риби за целия период на изследване 2007-2011г

Същият профил се получава, ако резултатите се представят като средна геометрична стойност, но отделните стойности за съответните видове риби са малко по-ниски и са в границите 20-173 ng/g ww.

Общото съдържание на ДДТ и метаболити е по-високо във видовете карагьоз, чернокоп, зарган и барбуна – това са и видовете с високо липидно съдържание и хищен начин на хранене. В пробите кая и калкан, са измерени най-ниските стойности на ДДТ и метаболити. Трицона, кефал и сафрид съдържат относително ниски концентрации на Σ ДДТ.

Резултатите, получени за различните видове риби са по-ниски от посочените по горе норми.

Резултатите за сумарната концентрация от ДДТ, ДДЕ и ДДД по райони на улов за целия период на изследването са представени на фиг. 47. Най-високи стойности на ДДТ и метаболити се наблюдава при карагьоз и чернокоп и за трите района, докато при каята стойностите са най-ниски. При чернокоп замърсяването в район Варна е най-високо. При трицона и сафрид няма разлика в замърсяването по райони, докато при кефала - по-голямо е замърсяването в район Варна. Характерно за кефала е, че навлиза от морето във Варненското езеро, което е една по-замърсена зона и това най-вероятно има значение.

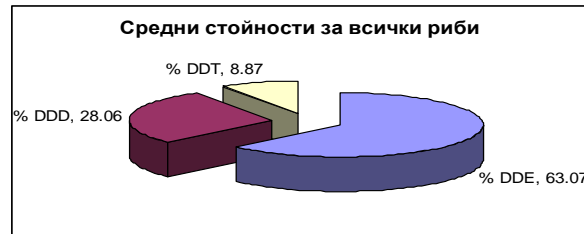


Фиг. 47

Средни стойности на Σ ДДТ, ng/g ww по идове риби и по район на улов за целия периода 2007-2011 г.

Нивата на замърсяване по райони на улов имат значение предимно за местни видове като трицона и кефал, както и за дънни риби, обитаващи крайбрежната ивица, като кая. При кая и трицона разлика в замърсяването по райони не се наблюдава, само при кефал за район Варна има по-високи стойности.

На фиг. 48 е представено процентното съотношение на ДДТ и неговите метаболити за всички видове риби за целия изследван период.



Фиг. 48

Съотношение между ДДЕ, ДДД и ДДТ

При всички анализирани проби концентрациите на ДДТ и неговите метаболити намаляват в реда ДДЕ > ДДД > ДДТ. Определените концентрации на ДДТ в над 30% от анализираните проби са близки до границата на откриване на аналитичния метод.

Ниският процент на ДДТ спрямо ДДЕ показва, че остатъците, установени в рибните видове по нашето Черноморско крайбрежие на този етап, са в резултат на стари замърсявания.

Сравняването на получените резултати на сумата от ДДТ и метаболитите с нивата на замърсяване в други райони на Черно море и съседни морски екосистеми, установени при други проучвания, е затруднено поради малкия брой проучвания за черноморски риби, както и поради различния начин на представяне на измерените стойности от различните автори.

2. ОЦЕНКА ЗА ТОКСИЧНИ МЕТАЛИ

В различните държави са установени редица законови норми за максимално допустими нива на тежки метали в рибна тъкан и като допустим дневен или седмичен прием от човека на риба и рибни продукти. В България Наредба № 31 от 2004г. (представена в приложение № 3) определя нормите на различните химични елементи. Тези норми бяха коментирани във втората част, където са представени получените резултати за определените тежки метали в изследваните черноморски риби. Както беше отбелязано, концентрациите на десетте химични елемента при различните видове риби са под нормите, посочени в Наредбата, като в редица случаи те са значително по-ниски.

За оценка на безопасността на морските храни Световната здравна организация (WHO/FAO), JECFA и агенциите по храни в някои страни са определили допустими дневни (TDI) или условно допустими седмични приеми (PTWIs).

Изчисляването на дневния прием се извършва като концентрацията на съответния метал, определена в рибния вид, се умножава по грамовете дневен прием и се разделя на теглото на човека, а при седмичен прием – дневният прием се умножава по седем. В таблица 21 са представени средните стойности на концентрациите на тежките метали Pb, Cd, Hg и As, определени в изследваните черноморски риби през 2010 и 2011г. Тези концентрации са използвани при изчисляването на дневния прием. Изчисленията са направени само за тези химични елементи, т.к. те са токсични, могат да се акумулират в рибите и трябва да се контролира тяхното съдържание.

Таблица 21. Средни стойности на Pb, Cd, Hg и As за 2010 и 2011г

	Кая	Трициона	Сафрид	Карагъоз	Кефал	Чернокоп	Калкан	Барбуна	Зарган
Pb	0,045	0,055	0,050	0,045	0,055	0,035	0,039	0,045	0,055
Cd	0,005	0,005	0,006	0,005	0,014	0,005	0,003	0,006	0,007
Hg	0,050	0,110	0,125	0,090	0,085	0,100	0,085	0,065	0,140
As	1,560	1,330	1,075	0,925	1,070	0,895	2,845	2,525	0,320

Изчисленията за дневния прием са направени за 30g прием на ден при тегло 60 kg (Таблица 22).

Таблица 22. Дневен прием ($\mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$)

Вид риба	Pb	Cd	Hg	As
Трициона	0.028	0.003	0.055	0.665
Сафрид	0.025	0.003	0.063	0.538
Кая	0.022	0.003	0.025	0.781
Карагъоз	0.023	0.003	0.045	0.463
Кефал	0.028	0.007	0.043	0.535
Чернокоп	0.018	0.003	0.062	0.448
Калкан	0.019	0.001	0.043	1.423
Барбун	0.023	0.003	0.033	1.262
Зарган	0.028	0.004	0.073	0.162

Получените резултати не надвишават стойностите за условно допустимия дневен и седмичен прием, установени от WHO/FAO. Ако се увеличи консумацията на риба двойно повече, каквито са препоръките на СЗО, допустимият дневен (седмичен) прием няма да бъде надвишен.

В заключение трябва да се отбележи, че мониторингови изследвания трябва да се провеждат периодично, за да се контролира концентрацията на токсичните метали, да се определя дневния (седмичен прием) и да се оценява въздействието им върху хората, консумиращи риба и рибни продукти.

3. ОЦЕНКА НА КАЧЕСТВОТО НА ЧЕРНОМОРСКИТЕ РИБИ КАТО ХРАНА

Първостепенно значение за качеството на дадена храна имат следните групи вещества: белтъци, липиди, въглехидрати, минерали, витамини и водата. От съществено значение е също степента на усвояването им от човешкия организъм. В тази връзка рибата и рибните продукти са много добър източник на лесно усвояеми белтъци и липиди, богати са на изключително важните за организма полиненаситени висши мастни киселини. От витамините в по-големи

количества са мастноразтворимите витамини Е, А и Д. Рибата е също така ценен източник на минералите калций, фосфор, желязо, мед, селен и отличен източник на йод. Въглехидратите се съдържат в малки количества (под 5%).

Белтъците в морската храна са в значителни количества и добре балансирано съотношение на съдържащите се в тях незаменими аминокиселини. Съдържанието на липидите в рибата варира в широк диапазон от 0,2% до 30%. Рибните липиди се състоят от наситени мастни киселини (НМК), мононенаситени мастни киселини (МНМК) и полиненаситени мастни киселини (ПНМК), чиито пропорции и количества варират в зависимост от вида на рибата. Характерно е, че ненаситените висши мастни киселини са в по-голямо количество от наситените, като при много рибни видове полиненаситените преобладават пред мононенаситените. Рибите с високо съдържание на липиди съдържат повече дълговерижни полиненаситени киселини, между които са изключително важните омега-3 (n-3 или ω-3) ПНМК, в сравнение с тези с по-ниско съдържание на липиди.

Следващите няколко анализа са направени във връзка с оценката на качеството на изследваните черноморски риби като храна.

3.1. Резултати за химичен състав и енергийна стойност на черноморски риби

Определяне на общ белтък

Определянето на белтъчното съдържание е извършено по БДС 9374:1982 за месо и месни продукти. Методиката се основава на определяне на количеството на азота, отделящ се от органичните вещества при нагриване в присъствие на концентрирана сярна киселина. Количеството на общия белтък (ОБ) в % се изчислява по формулата: $ОБ = А \times К$, където **К** е коефициент на превръщане на азота в белтък. За риба и рибни продукти **К** е 6.25.

Определяне на общи липиди

Анализът е извършен по метода на Bligh & Dyer. Базира се на използването на екстракционна смес от **хлороформ-метанол (1:2)**. Хлоро-

формените фракции се изсушават с безводен натриев сулфат и се изпаряват до сух остатък. Определят се общите липиди, като резултатите се представят в грамове на 100 г свежо тегло. За всяко определение са направени по три паралелни проби.

Определяне съдържанието на влага

Анализът е извършен по БДС 5712:1974 за месо и месни продукти. Методът се състои в елиминиране на влагата при нагряване до 100-105°C. Влагосъдържанието се изразява като процент загуба от масата на предварително претеглена проба.

Определяне на енергийна стойност

На базата на определения химичен състав е изчислена енергийната стойност по следната формула: $E = 4.1868 \times (4 \times \text{ОБ} + 9 \times \text{ОЛ} + 4 \times \text{В}) \text{ kJ}$, където **ОБ** е общ белтък, **ОЛ** – общи липиди и **В** – въглехидрати. Така изчислената енергийната стойност се отнася за 100 г свежо тегло.

В таблица 23 са представени резултатите за химичния състав и енергийната стойност на изследваните черноморски риби, за 100 г свежо тегло:

Таблица 23 . Химичен състав и енергийна стойност на черноморски риби

Рибен вид	Три- циона	Кая	Карагъоз	Сафрид	Паламуд	Чернокоп	Барбуна
Общ белтък	16,63	18,42	15,53	19,55	21,40	17,93	17,30
Липиди	5,43	2,10	13,00	6,82	3,10	15,45	14,69
Сухо вещество	24,50	23,35	31,55	26,50	24,60	36,40	34,90
Влагосъдържание	75,10	76,15	68,50	73,50	75,40	63,60	65,10
Енергийна стойност [kJ]	483,25	381,05	745,00	590,00	475,00	882,00	843,00
Енергийна стойност [kcal]	115,50	91,20	179,00	141,00	113,50	211,00	201,40

С по-високо белтъчно съдържание са сафрид, паламуд и чернокоп, но разликата по отношение на другите видове не е голяма. По-големи различия се наблюдават при липидите и сухото вещество. С ниско липидно съдържание са

кая, паламуд и калкан, с по-високо – трициона, сафрид, кефал, а с високо – карагъоз, чернокоп и барбуна. Рибите с високо съдържание на липиди показват висока енергийната стойност като храна.

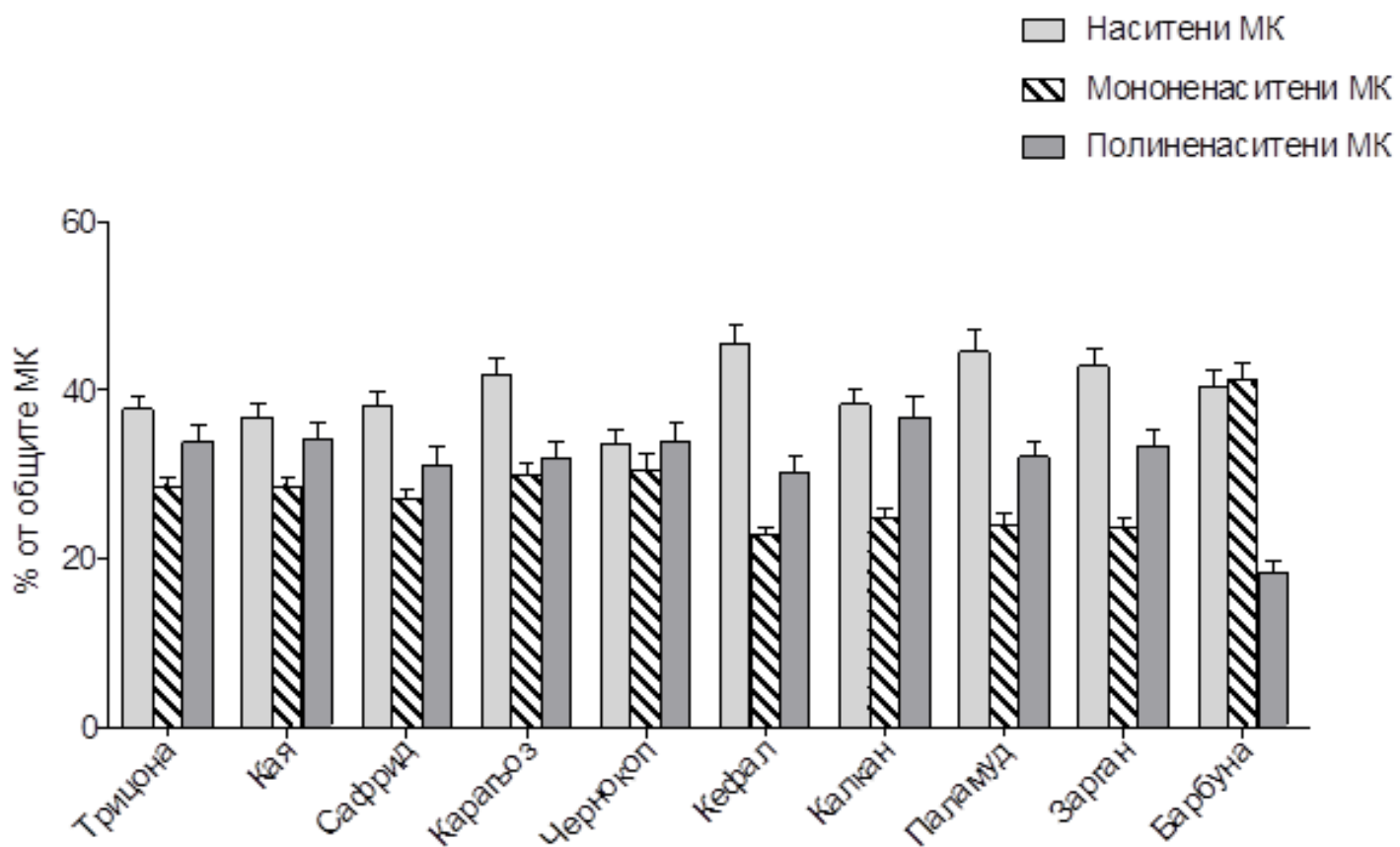
3.2. Мастнокиселинен състав на липидите

Мастнокиселинният състав е определен след алкална хидролиза на екстрахираните липиди и превръщането на получените мастни киселини в метилови естери, съгласно метод БДС EN 5509:2000, подходящ за триацил-глицериди и фосфолипиди. Този метод има предимство, че е бърз, безопасен и с образуване на малко странични хидролизни продукти.

Качественото и количествено определяне на метиловите естери на МК е извършено с газова хроматография с масдетекция при използване на капилярна колона. Идентифицирането на метиловите естери е извършено по времето на задържане и използване на стандартен разтвор от 37- компонентна смес на метилови естери от C 4:0 до C 24:1, (Supelco).

Идентифицирани са 34 вида МК, като количествено са определени 30 вида МК, които са класифицирани в три групи: наситени (НМК), мононенаситени (МНМК) и полиненаситени (ПНМК). Определените стойности за НМК са в диапазона от 33.73% (чернокоп) до 45.63% (кефал), при МНМК стойностите са от 22.75% (кефал) до 41.22% (барбуна), а нивата на ПНМК са съответно от 18.24% (барбуна) до 36.83% (калкан). При деликатесните видове паламуд и зарган, както и при кефала се установяват най-големи количества на НМК. На фиг. 49 е представено разпределението на трите вида мастни киселини – наситени, мононенаситени и полиненаситени при десетте изследвани вида черноморски риби. Полиненаситените киселини преобладават над мононенаситените при всички рибни видове с изключение на барбуната.

В групата на НМК, независимо от рибния вид и местообитанието (дънни или пелагични видове), доминиращи са палмитинова (C16:0), стеаринова (C18:0) и миристинова (C14:0) МК. Те са установени в сравнително високи количества, като при всички видове се наблюдава разпределението C16:0 > C18:0 > C14:0. В групата на МНМК се наблюдават по-големи различия в процентното разпределение на индивидуални МК. С най-големи стойности се откриват палмитолеиновата (C16:1 n7) и олеиновата (C18:1 n9).



Фиг. 49
Мастнокиселинен профил на черноморски риби

Количествата на определяните МК от тази група са силно зависими от вида на храненето. В това изследване се наблюдава следния вид модел на разпределение: при трициона, кая, сафрид, карагъоз и зарган С16:1 n7 е в по-големи количества от С18:1 n9, докато при останалите пет вида С18:1 n9 преобладава за сметка на по-ниските нива на палмитолеиновата МК. Най-големи междувидови различия в разпределението на индивидуалните МК се откриват при ПНМК. В тази група интерес представляват представителите на омега 3 и омега 6 сериите. Тези есенциални ПНМК са представени с различни съотношения в рибните видове. Това се дължи на влиянието на редица фактори върху метаболизма на рибите. Той се стимулира от по-ниски температури и по-висока соленост на средата на обитание, поради което типично морските видове съдържат значително по-високи количества омега-3 ПНМК. Определените количества на омега-3 и омега-6 киселини на изследваните десет черноморски вида риби са представени в таблица 24.

Таблица 24. Съдържание на омега-3 и омега-6 киселини в черноморски риби

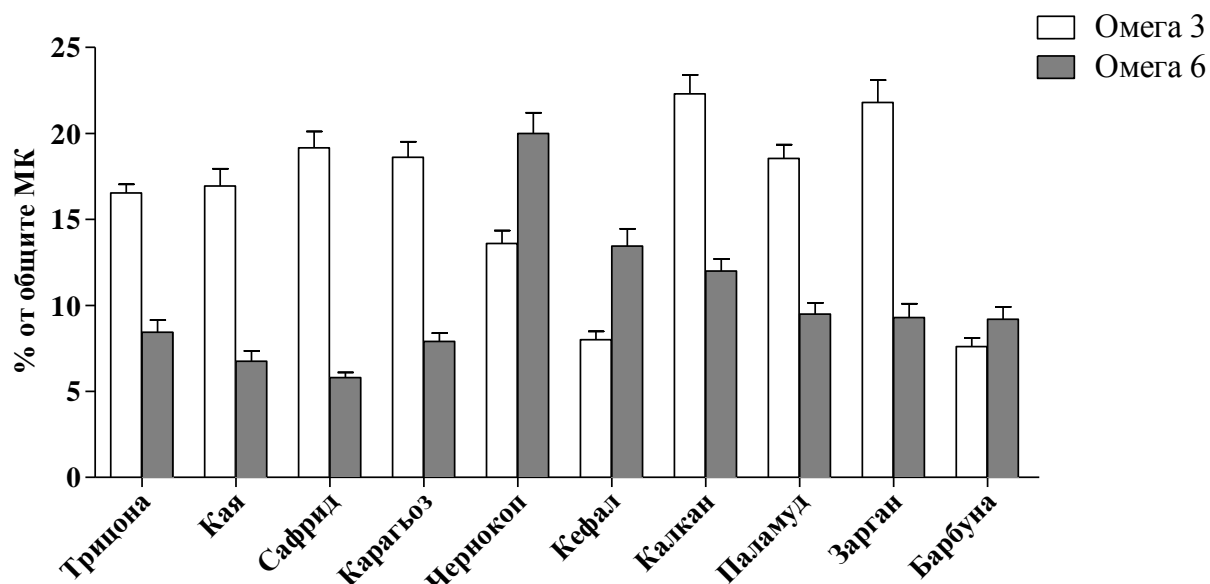
% от общите МК Рибен вид	Омега 3			Омега 6	
	18:3 АЛА	20:5 ЕРА	22:6 ДНА	18:2 ЛА	20:4 АРА
Трициона	1,85±0,30	0,84±0,05	13,10±0,70	6,50±0,55	3,80±0,25
Кая	2,56±0,41	2,68±0,35	12,52±0,95	6,85±0,53	3,81±0,22
Сафрид	2,75±0,20	1,65±0,15	16,35±1,10	2,00±0,23	2,10±0,25
Карагъоз	1,87±0,21	0,95±0,09	16,50±1,05	6,15±0,61	1,40±0,35
Чернокоп	1,50±0,15	0,50±0,06	11,30±0,55	16,60±1,20	2,82±0,40
Кефал	1,75±0,23	1,90±0,31	4,56±0,55	6,40±0,67	3,84±0,45
Калкан	0,10±0,05	4,60±0,45	13,86±0,81	2,10±0,15	4,00±0,35
Паламуд	0,11±0,05	3,55±0,31	12,90±1,05	1,92±0,21	3,10±0,34
Зарган	1,96±0,30	1,35±0,20	18,50±1,25	3,47±0,42	2,67±0,30
Барбуна	0,95±0,07	0,85±0,10	6,25±0,56	2,62±0,25	4,70±0,51

Омега-3 киселините са: **Алфа—линоленова, 18:3 (АЛА);**
Ейкозапентаенова, 20:5 (ЕРА);
Докозахексаенова, 22:6 (ДНА);

Омега 6 киселини са: **Линолова (ЛА) 18:2;**
Арахидонова (АРА) 20:4;

Световната Здравна Организация съвместно с FAO (WHO/FAO) и EFSA определят максимално отношение **4:1** на омега-6 /омега-3 ПНМК, като важен елемент в човешката диета (WHO, 2003; EFSA, 2009).

На фиг. 50 е представени общото съдържание на омега-3 и омега-6 киселините.



Фиг. 50

Общо съдържание на омега-3 и омега-6 киселини в черноморски риби

При повечето рибни видове омега - 3 киселините преобладават. Само при чернокоп, кефал и барбуна процентът на омега – 6 киселините е по-голям. Това може да се дължи на начина на хранене, характеризиращ се с по-големи количества растителна храна.

Изчислени са съотношенията между омега-6 и омега-3 киселините и на полиненаситените мастни киселини към наситените. Определеното съотношение на двете групи омега киселини е най-ниско при карагъоз и най-високо при чернокоп. При всички анализирани видове установените стойности за омега-6/омега-3 са в рамките на препоръчаните от EFSA, 2009; WHO/FAO, 2010, които допускат максимално съотношение до 4:1, като голяма част от посочените видове са значително под 1 в полза на по-високи нива на омега-3 киселините.

ОБОБЩЕНИЕ ЗА БЕЗОПАСНОСТТА И КАЧЕСТВОТО НА ЧЕРНОМОРСКИТЕ РИБИ

Безопасност по отношение съдържанието на ПХБ

Безопасността е оценена по ТЕQ стойности, по съдържание на индикаторни, както и на всички определени 15 броя ПХБ.

1. ТЕQ стойностите се определят от съдържанието на токсичните "диоксиноподобни" ПХБ. От "диоксиноподобните" анализирани ПХБ, № 118 е преобладаващ. Най-токсичните ПХБ № 126 и 169 не са открити в анализирани проби.
2. Изчислените ТЕQ стойности са по-ниски от 1 pg/g ww, докато WHO-ТЕQ определя норма от 8 pg/g ww. Най-ниски стойности са установени при кая и калкан, малко по-високи при трикона, кефал, сафрид, барбуна, а най-високи – при карагьоз, паламуд, заргана и чернокоп.
3. Сумата от индикаторните ПХБ представлява от 73 до 100% от общото съдържание на ПХБ. Това означава, че замърсяването на черноморските риби с ПХБ се дължи главно на индикаторните. Представен е профил на индикаторните ПХБ по видове риби, ПХБ с № 101, 118, 138 и 153 се откриват във всички изследвани проби риби, като ПХБ с № 153 и 138 са с най-високи концентрации.
4. Измерените концентрации на индикаторните ПХБ при всички анализирани видове риби са значително по-ниски от посочените гранични стойности определени от Европейския съюз (**200 ng/g lw**), отнасящи се за месо. В Германия има определена норма за морски риби, като за всеки ПХБ с № 153 и № 138 максимално допустимата концентрация е **100 ng/g ww**, а за ПХБ с № 28, 52, 101 и 180 е **80 ng/g ww**. Дори при риби с относително високо съдържание на ПХБ, като карагьоз и чернокоп най-високите измерени стойности за ПХБ са по-ниски от тези норми.
5. Определените суми от всички анализирани ПХБ при различните видове риби са по-ниски от резултатите в други проучвания за риби от Черно

море, Средиземно море и Егейско море и съизмерими с резултати, получени за риби от Мраморно море.

Безопасност по отношение съдържанието на ДДТ и МЕТАБОЛИТИ

1. Резултатите показват, че остатъчните концентрации на ДДТ и неговите метаболити във всички изследвани видове риби намаляват в реда ДДЕ > ДДД > ДДТ. Много ниски са концентрациите на ДДТ в повечето анализирани видове, което показва, че то е метаболизирано и няма нова употреба на ДДТ в региона на Българското крайбрежие.
2. В България и Европейския съюз не са регламентирани гранични стойности за остатъчни количества ДДТ и метаболити в риба и морски продукти. За оценка са използвани отново норми от Германия за общото съдържание на ДДТ и метаболити (RhmV, 1999), които са:
 - за риба с ниско съдържание на мазнини (под 10%) - 500 ng/g ww
 - за риба с високо съдържание на мазнини (над 10%) - 5000 ng/g wwРезултатите за нашите черноморски риби са значително по-ниски от 20 до 178 ng/g ww. Най-ниски са стойностите при кая, калкан, сафрид, трициона и кефал, а най-високи – при карагъоз и чернокоп.
3. Сравнението на получените данни (на база липидно тегло) с резултати от по-ранни проучвания на други автори показва, че нивата на замърсяване с ДДТ и метаболити на рибите от българското черноморско крайбрежие са подобни или по-ниски от резултати за риби от други части на Черно море, както и от Мраморно и Средиземно море.

Безопасност по отношение съдържанието на тежки метали

Безопасността е оценена на базата на норми за България (Наредба № 31 от 2004г.) и Европейския съюз и по условно допустими дневни и седмични приеми.

1. Концентрациите на анализираните десет химични елемента в изследваните черноморски риби са под нормите, посочени в Наредбата, като в редица случаи те са значително по-ниски.

2. Изчислен е условно допустимия дневен прием за химичните елементи Pb, Cd, Hg и As. Получените резултати не надвишават стойностите за условно допустимия дневен и седмичен прием, установени от WHO/FAO.

За оценка на потенциалния риск, свързан с дългосрочното въздействие на тежките метали е необходимо да бъдат изчислени THQ стойности. За целта е необходимо да се използват резултати, получени за по-дълъг период от време, както и да се определят токсичните форми на живак и арсен.

Качество на черноморските риби като храна

Оценката за качеството на черноморските риби като храна е направена въз основа на следните определения: общи липиди, общ белтък, енергийна стойност и мастнокиселинен профил.

1. Съдържанието на общи липиди е в границите от 2,10 до 15,45g за 100g свежо тегло. С ниско липидно съдържание са видовете кая, паламуд, сафрид и трициона, а с високо – карагъоз, чернокоп и барбуна.
2. Съдържанието на общ белтък е в границите от 16,63 до 21,40g за 100g свежо тегло. С по-ниско съдържание на белтък са видовете карагъоз, чернокоп, барбуна и трициона, а с по-високо – кая, паламуд и сафрид.
3. Всички изследваните видове риби се отнасят към категорията на храни със средно енергийно съдържание (над 170 kJ/100g). Липидите имат по-висок дял от общата стойност на енергията при рибите карагъоз, чернокоп и барбуна, докато протеините осигуряват по-висок процент от енергията при кая, паламуд и трициона.
4. Определен е мастнокиселинния профил на изследваните риби, който включва наситени, мононенаситени и полиненаситени мастни киселини. Съдържанието на ненаситените мастни киселини е значително по-високо от това на наситените. Полиненаситените киселини преобладават над мононенаситените при всички рибни видове с изключение на барбуната, където процентът на полиненаситените киселини е по-малък.
5. При полиненаситените мастни киселини в най-големи количества се откриват омега-3 киселините: докозахексаенова и ейкозапентаенова, а от

омега-6 – линолова киселина. Определено е съотношението **омега-6/омега-3**, което е в границите 0,26-1,51 при всички анализирани видове риби. То е в рамките на препоръчаните от EFSA, 2009; WHO/FAO, 2010 норми, които допускат максимално съотношение до 4:1.

6. Получените резултати показват, че нашите черноморските риби са един много добър източник на протеини и полиненаситени мастни киселини, както и на важните омега-3 киселини. Това определя черноморските риби като храна с високо качество.

ИЗВОДИ

1. Обобщени и систематизирани са голяма част от изследванията за УОЗ и тежки метали в различни видове риби от Черно море за последните десет години. Резултатите са използвани за сравнение с получените в това изследване.
2. Разработена е аналитична процедура за определяне на УОЗ в храни от животински произход. Тя е приложена за изследване съдържанието на ПХБ и ДДТ в различни видове риби.
3. За качествено и количествено определяне на ПХБ и ДДТ е използван газхроматографски метод, който е валидиран. Приложена е система за контрол на качеството на анализите при използване на вътрешен стандарт и стандартизирани референтни материали. Методът може да се приложи при определяне на други пестициди, диоксини и фурани.
4. Анализирани са десет вида черноморски риби за 5 годишен период (2007-2011г.) и са определени концентрациите на 15 конгенера ПХБ, между които са важните индикаторни и диоксиноподобни ПХБ, както и ДДТ и метаболити. Резултатите са представени на база липидно тегло (ng/g lw) и на база свежо тегло (ng/g ww).
5. Направен е статистически анализ на резултатите по години на улов, по район на улов и по видове риби, като са използвани средната аритметична и средната геометрична стойности.
 - **По години на улов** – по-високо замърсяване се открива през 2007-2009г. и намаляване на замърсяването през 2010 и 2011г.
 - **По район на улов** – съществена разлика не се наблюдава за трите района: Север, Варна и Юг
Това е обяснимо с малките разстояния между тях.
 - **По видове риби:**

ПХБ – най-високо съдържание показват рибните видове кая и калкан, когато резултатите се представят на база липидно тегло (ng/g lw). При останалите видове риби значителни разлики не се наблюдават. Профилът се променя, когато резултатите се представят

на база свежо тегло (ng/g ww) – по-високи са стойностите при карагьоз, чернокоп, паламуд, зарган и барбуна. Това са рибни видове с високо съдържание на мазнини и затова те натрупват повече ПХБ.

ДДТ и метаболити – при представяне на резултатите на база липидно тегло най-ниски стойности са установени при сафрид и паламуд, а най-високи – при кая, калкан, трицона и зарган.

При статистическия анализ на резултатите няма съществена разлика дали

той е направен при използване на средната аритметична или средната

геометрична стойност

6. Във всички изследвани рибни проби остатъчните количества ДДТ са много ниски в сравнение с метаболитите. Най-висок е процентът на метаболита ДДЕ.
7. Определените средни стойности за ПХБ и ДДТ и метаболити са сравнени с литературни данни. При ПХБ резултатите са по-ниски, а при ДДТ и метаболити – по-ниски и съизмерими с изследвания, проведени в риби от други части на Черно море и други морски екосистеми.
8. Получени са резултати за съдържанието на голям брой тежки метали в черноморските риби и е направена оценка на замърсяването за периода 2004-2011г.
 - За периода 2004-2007г. е определено съдържанието на пет химични елемента: Pb, Cd, Cu, Mn и Fe в четири вида риби. Изследвани са ядивна тъкан, черен дроб, хриле, кожа и кости, най-ниско е съдържанието в ядивната тъкан.
 - За периода 2010-2011 г са изследвани десет вида черноморски риби, миди, рапани и скариди, като са определени десет химични елемента: Pb, Cd, Cu, Mn, Fe, Ni, As, Hg, Zn и Cr при използване на друга пробоподготовка и апаратура.
 - Сравнението на резултатите от двата периода на изследване показва, че през 2010-2011г. се наблюдават по-ниски стойности при всички

химични елементи, особено при олово и кадмий, където те са приблизително десет пъти по-ниски.

9. Концентрациите на тежките метали Pb, Cd, Hg и As, които се акумулират в морски организми и са обект на контрол в морските храни, показват по-ниски стойности от допустимите норми, установени за България и ЕС. Живакът, оловото и кадмият са в много ниски концентрации.
10. Анализът на миди, рапани и скариди потвърждава тенденцията, наблюдавана при рибите, за по-ниски нива на замърсяване през последните години, което предполага и по-ниско ниво на замърсяване на Черно море.
11. Оценката на безопасността на рибите по отношение на ПХБ е направена на базата на TEQ стойности, на съдържание на индикаторни, както и на сумата от всички определени ПХБ.
 - Изчислените TEQ стойности са по-ниски от нормата, определена от Световната Здравна Организация (WHO-TEQ).
 - Сумата от индикаторните ПХБ е близка до общото съдържание на ПХБ, което показва, че замърсяването на черноморските риби с ПХБ се дължи главно на индикаторните. Измерените концентрации на индикаторните ПХБ са значително по-ниски от посочените гранични стойности, определени от Европейския съюз и норми, въведени в Германия.
12. Концентрациите на ДДТ и неговите метаболити във всички изследвани видове риби намаляват в реда ДДЕ > ДДД > ДДТ. Много ниските концентрации на ДДТ показват, че то е метаболизирано и няма нова употреба.
13. Безопасността по отношение съдържанието на тежки метали е оценена на базата на норми за България (Наредба № 31 от 2004г.) и Европейския съюз и по условно допустими дневни (седмични) приеми.
 - Концентрациите на анализирания десет химични елемента в изследваните черноморски риби са под нормите, посочени в Наредбата, като в редица случаи те са значително по-ниски.

- Изчисленият дневен прием за химичните елементи Pb, Cd, Hg и As е по-нисък от условно допустимия дневен (седмичен) прием, препоръчани от WHO/FAO.
14. Оценката за качеството на черноморските риби като храна е направена на основата на следните определения: общи липиди, общ белтък, енергийна стойност и мастно-киселинен профил.
- С ниско липидно съдържание са видовете кая, паламуд, сафрид и трициона, а с високо – карагъоз, чернокоп и барбуна.
 - Видовете карагъоз, чернокоп, барбуна и трициона са с по-ниско съдържание на белтък, а с по-високо – кая, палмуд и сафрид.
 - Всички изследваните видове риби се отнасят към категорията на храни със средно енергийно съдържание (над 170 kJ/100g). Липидите имат по-висок дял от общата стойност на енергията при рибите карагъоз, чернокоп и барбуна, докато протеините осигуряват по-висок процент от енергията при кая, паламуд и трициона.
15. Определен е мастно-киселинния профил на изследваните риби, който включва наситени, мононенаситени и полиненаситени мастни киселини.
- Съдържанието на ненаситените мастни киселини е значително по-високо от това на наситените. Полиненаситените киселини преобладават над мононенаситените.
 - При полиненаситените мастни киселини в най-големи количества се откриват омега-3 киселините: докозахексаенова (DHA) и ейкозапентаенова (EPA), а от омега-6: линолова киселина (ЛА)
 - Определено е съотношението омега-6/омега-3 и получените стойности са в рамките на препоръчваните от EFSA, 2009 и WHO/FAO, 2010 норми.
16. Резултатите за състава на черноморските риби показват, че те са един много добър източник на протеини, липиди и ненаситени мастни киселини, между които са изключително важните полиненаситени омега-3 киселини. Това определя черноморските риби като балансирана храна с високо качество.

ПРИНОСИ

1. За първи път в България са изследвани десет различни вида черноморски риби за съдържание на устойчивите органични замърсители - ПХБ, ДДТ, метаболити и тежки метали.
2. Разработена и приложена е аналитична процедура за едновременно определяне на ПХБ, ДДТ и метаболити. С известна модификация аналитичната процедура и използваният газхроматографски метод могат да се приложат за определяне на други УОЗ, като диоксини, фурани и хлорорганични пестициди в храни от животински произход с високо съдържание на мазнини.
3. Определянето на ПХБ, ДДТ и метаболити в черноморските риби е направено за петгодишен период. Замърсяването е оценено по години, по район на улов и по видове риби.
4. Изследвани са черноморски риби, мекотели и седименти за съдържание на голям брой тежки метали, между които са олово, кадмий, арсен и живак. Посочените метали се акумулират в морските организми и са обект на контрол в морските храни. Резултатите са сравнени с литературни данни за други видове риби, мекотели и са използвани за оценка на замърсяването на Черно море.
5. За първи път се прави опит за оценка на безопасността и качеството на нашите черноморски риби като храна, за да се определи ползата и риска от консумацията на риба.
6. Изследването има и мониторингов характер, рибите са използвани като биоиндикатор за оценка на замърсяването на Черно море. Подобно изследване в България се прави за първи път. Резултатите имат принос в обогатяването на данните за замърсяването на Черно море с УОЗ и тежки метали, които към този момент са малко, в сравнение с други морски екосистеми.
7. Резултатите могат да се използват за създаване на база данни за съдържанието на устойчиви органични замърсители и тежки метали в

нашите черноморски риби, която да бъде допълнена с подобни резултати за други морски организми, сладководни риби и аквакултури.

8. Разработените и приложени методики за определяне на УОЗ в черноморските риби са принос в развитието на Лабораторията по Химия на храните в МУ – Варна. Лабораторията има регионално значение за изследване на качеството и безопасността на черноморските риби и може да бъде една от водещите лаборатории в България за изследване на морски храни.
9. В България все още няма въведена система за контрол на храните по отношение съдържанието на УОЗ. Направените изследвания и резултатите могат да послужат за управленски решения, свързани с въвеждане на такава система, каквато е практиката в редица европейски страни.
10. Резултатите за ПХБ, ДДТ и метаболити са предоставени на Министерството на околната среда и водите и са включени в Актуализирания Национален План за действие по управление на устойчивите органични замърсители на Република България, за периода 2012-2020 г., свързан с изпълнението на Стокхолмската Конвенция.

Списък на научните публикации

1. M. Stancheva, T. Rizov, L. Makedonski, S. Georgieva;
Organochlorine Pollutants in Bluefish (*Pomatomus Saltatrix*) from Bulgarian Black Sea Coast;
Научни трудове, Пловдивски университет “П. Хилендарски”, 37,(5), 2010;
2. М. Станчева, С. Георгиева, Л. Македонски, Т. Ризов;
Съдържание на полихлорирани бифенили и органохлорни пестициди в черноморски риби - паламуд и карагъоз;
Научни трудове, Университет по хранителни технологии - Пловдив, том LVII, (2), 2010;
3. M. Stancheva, K. Peycheva, L. Makedonski;
Assessment of Heavy Metal Distribution in Muscle, Skin and Gills of Two Fish Species from the Black Sea, Bulgaria;
Научни трудове, Университет по хранителни технологии – Пловдив, том LVII, (2), 41, 2010;
4. M. Stancheva, K. Peycheva, L. Makedonski, T. Rizov;
Heavy Metals and PCBs Level of Bluefish (*Pomatomus Saltatrix*) from Bulgarian Black Sea Waters;
Ovidius University Annals of Chemistry, 21(1), 41-48, 2010;
5. S. Georgieva, M. Stancheva, L. Makedonski;
Organochlorine Pesticides and Polychlorinated Biphenyls in Freshwater Fish;
Научни трудове, Пловдивски университет “П. Хилендарски”, 38, (5), 2011;
6. M. Stancheva, L. Makedonski, S. Georgieva;
Organochlorine Pesticides in Fish From Bulgarian Region of Black Sea;
Archives of the Balkan Medical Union, 46 (4), 209-214, 2011;
7. L. Makedosnki, K. Peycheva, M. Stancheva;
Determination of Heavy Metals in Fish Species from the Bulgarian Black Sea Coast;
Archives of the Balkan Medical Union, 46 (4), 215-220, 2011;
8. T. Rizov, M. Stancheva, L. Makedonski;
Polychlorinated Biphenyls in Fishes from Bulgarian Black Sea Coast;
Scripta Scientifica Medica, Varna Medical University, 44 (1), 51-55, 2012;

9. M. Stancheva, S. Georgieva, L. Makedonski;
Persistent Organochlorine Pollutants in freshwater fish
Научни трудове, 40 години Шуменски Университет 1971-2011, 382-388, 2012
10. V. Ivanova, T. Sokrateva, M. Stancheva,
Heavy Metals in Surfice Sediments of Varna Bay and Varna Lake (Black Sea, Bulgaria);
Научни трудове, 40 години Шуменски университет 1971-2011, 329-335, 2012;
11. S. Georgieva, M. Stancheva and L. Makedonski;
Organochlorine Pesticides and PCBs in Marine Fish;
Ovidius University Annals of Chemistry, 23 (1), 92-98, 2012;
12. M. Stancheva, L. Makedonski, K. Peycheva;
Determination of Cd, Cu, Fe, Mn and Pb in European Carp (Cyprinus Carpio Carpio);
Scripta Scientifica Medica, Varna Medical University, 44 (1), 39-43, 2012;
13. M. Stancheva, V. Ivanova, K. Peycheva;
Determination of Heavy Metals in Black Sea MytilusGalloprovincialis and Rapana Venosa;
Scripta Scientifica Medica, Varna Medical University, 44 (2), 27-30, 2012;
14. M. Stancheva, S. Georgieva, L. Makedonski;
Organochlorine Pollutants in Fish from the Bulgarian Region of the Black Sea,
Quality assurance and Safety of Crops&Foods, 2012, приета за печат;
15. М. Станчева, С. Георгиева, Л., Македонски;
Устойчиви органични замърсители в черноморски риби;
АКТУАЛИЗИРАН НАЦИОНАЛЕН ПЛАН за действие по управление на устойчивите органични замърсители в Република България, 2012-2020г.
министерство на околната среда и водите, 5 септември 2012 г.;

Списък на участията в научни форуми

1. 7th Chemistry Conference, 10-11 October 2008, "St. st. Cyril and Juliett", Plovdiv, Bulgaria, L. Makedonski, T. Stoichev, M. Stancheva, F. Ribarova, *Determination of DDT in Fish from Bulgarian Region of the Black Sea*;
2. 5th Black Sea Basin Conference on Analytical Chemistry, 23-26 September 2009, Fatsa – Ordu, Turkey, M. Stancheva, T. Rizov, L. Makedonski, *Levels of PCBs in Fishes from Bulgarian Black Sea Coast*;
3. 5th Black Sea Basin Conference on Analytical Chemistry, 23-26 September 2009, Fatsa – Ordu, Turkey, L. Makedonski, M. Stancheva, T. Stoichev, *Organochlorine Pesticides in Fishes from Bulgarian Black Sea Coast*;
4. 5th Black Sea basin conference on analytical chemistry, 23-26 September 2009, Fatsa-Ordu, Turkey, L. Makedonski, K. Peycheva, M. Stancheva, Rumjana Milina, *Determination of Heavy Metals in Fish Species from the Northern Black Sea (Bulgaria)*;
5. 1st Southeast European Conference of Chemotherapy and Infection, 6-9 May 2010, Golden Sands, Bulgaria, M. Stancheva, T. Rizov, L. Makedonski, S. Georgieva, *Organochlorine Pesticides and Polychlorinated Biphenyls in Black Mussel and Goby from Black Sea, Bulgaria*;
6. Workshop Challenges in Food Chemistry, 27-29 May 2010, Constantza, Romania, M. Stancheva, K. Peycheva, L. Makedonski, T. Rizov, *Heavy Metals and PCBs Level of Bluefish (Pomatomus Saltatrix) from Bulgarian Black Sea Waters*;
7. 8th Chemistry Conference, 18-19 June 2010, Koprivshitzza, Bulgaria, M. Stancheva, T. Rizov, L. Makedonski, S. Georgieva, *Organochlorine Pollutants in Bluefish (Pomatomus Saltatrix) from Bulgarian Black Sea Coast*;
8. 8th Chemistry Conference, 18-19 June 2010, Koprivshitzza, Bulgaria, V. Ivanova, K., Peycheva, L. Makedonski, M. Stancheva, *Determination of Cd, Cu, Fe, Mn and Pb in European Carp (Cyprinus carpio carpio)*;
9. Научна конференция с международно участие, 15-16 октомври 2010, Университет по хранителни технологии – Пловдив, M. Станчева, С. Георгиева, Л. Македонски, Т. Ризов, *Съдържание на полихлорирани*

бифенили и органохлорни пестициди в черноморски риби - паламуд и карагьоз;

10. Научна конференция с международно участие, 15-16 октомври 2010, Университет по хранителни технологии – Пловдив, M. Stancheva, K. Peycheva, L. Makedonski, *Assessment of Heavy Metal Distribution in Muscle, Skin and Gills of Two Fish Species from the Black Sea, Bulgaria;*
11. 31st BALKAN MEDICAL WEEK, 28-31 October 2010, Athens-GREECE, M. Stancheva, S. Georgieva, L. Makedonski, T. Rizov, *Organochlorine Pollutants in European Sprat from Bulgarian Black Sea Coast;*
12. 31st Balkan Medical Week, 28-31 October 2010, Athens Greece, M. Stancheva, K. Peycheva, L. Makedonski, *Heavy Metal Content of Two Fish Species from Bulgarian Black Sea waters;*
13. Национална конференция с международно участие “40 години Шуменски Университет 1971 – 2011”, 13-14 септември 2011. M. Stancheva, S. Georgieva, L. Makedonski, *Persistent Organochlorine Residues in Freshwater Fish*
14. Национална конференция с международно участие “40 години Шуменски университет (1971-2011)”, 13-14 септември 2011, Шумен, България, V. Ivanova, T. Sokrateva, M. Stancheva, *Heavy Metals in Surface Sediments of Varna Bay and Varna Lake (Black Sea, Bulgaria);*
15. 3rd MoniQA International Conference, 27-29 September 2011, Varna, Bulgaria, M. Stancheva, L. Makedonski, S. Georgieva, *Organochlorine Pollutants in Fish from Bulgarian Region of the Black Sea;*
16. 9th CHEMISTRY CONFERENCE, 14-16 October 2011, Пловдивски университет, S. Georgieva, M. Stancheva, L. Makedonski, *Organochlorine Pesticides and Polychlorinated Biphenyls in Freshwater Fish*
17. International Conference CHIMIA, 24-26 May 2012, Constance, Romania, S. GEORGIEVA, M. STANCHEVA, L. MAKEDONSKI, *Organochlorine Pesticides and PCBs in Marine Fish, Ovidius University*