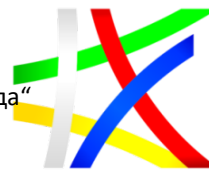




ЕВРОПЕЙСКИ СЪЮЗ
ЕВРОПЕЙСКИ ФОНД ЗА МОРСКО
ДЕЛО И РИБАРСТВО

ПРОГРАМА ЗА МОРСКО ДЕЛО И РИБАРСТВО 2014-2020
Процедура за подбор на проекти BG14MFOR001-6.004
„Повишаване на знанията за състоянието на морската среда“



ПРОГРАМА ЗА
**МОРСКО ДЕЛО И
РИБАРСТВО**



НАУЧЕН ДОКЛАД за изпълнение на проект

ПРОЕКТ № BG14MFOR001-6.004-0006 „ИЗСЛЕДВАНЕ НА ПРИОРИТЕТНИ
ХИМИЧНИ ЗАМЪРСИТЕЛИ И БИОТОКСИНИ ЗА ОЦЕНКА НА
СЪСТОЯНИЕТО НА МОРСКАТА СРЕДА“, ДОГОВОР № МДР-ИП-01-
13/25.01.2021, ПРОГРАМА ЗА МОРСКО ДЕЛО И РИБАРСТВО 2014-2020
МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ - ВАРНА

Докладът е изготвен на базата на обобщени данни от проведените изследвания по дейностите от проекта и е редактиран от доц. Станислава Кателиева Георгиева, дх, гл. ас. Златина Петева, дх, проф. Мона Станчева, дхн и проф. Тодорка Костадинова, ди, Медицински университет - Варна

Докладът е разработен на базата на изследвания на екипа на проекта от катедра Химия на Медицински университет – Варна в изпълнение на проект № BG14MFOP001-6.004-0006, договор № МДР-ИП-01-13/25.01.2021, Програма за морско дело и рибарство 2014-2020. Първичните данни от химичните анализи са дадени в приложения към междинните отчети по проекта.

Този документ е създаден с финансовата подкрепа на „Програма за морско дело и рибарство“ 2014 – 2020 съфинансирана от Европейския съюз чрез Европейския фонд за морско дело и рибарство. Цялата отговорност за съдържанието на документа се носи от Медицински Университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“, гр. Варна и при никакви обстоятелства не може да се приема, че този документ отразява официалното становище на Европейския съюз и Договарящия орган.

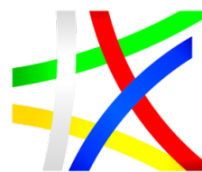
----- www.eufunds.bg -----

Проект № BG14MFOP001-6.004-0006 е финансиран от Програмата за морско дело и рибарство 2014 - 2020, съфинансирана от Европейския съюз чрез Европейския фонд за морско дело и рибарство.



ЕВРОПЕЙСКИ СЪЮЗ
ЕВРОПЕЙСКИ ФОНД ЗА МОРСКО
ДЕЛО И РИБАРСТВО

ПРОГРАМА ЗА МОРСКО ДЕЛО И РИБАРСТВО 2014-2020
Процедура за подбор на проекти BG14MFOP001-6.004
„Повишаване на знанията за състоянието на морската среда“



ПРОГРАМА ЗА
МОРСКО ДЕЛО И
РИБАРСТВО

Проект № BG14MFOP001-6.004-0006

„Изследване на приоритетни химични замърсители и биотоксини за оценка на състоянието на морската среда“, договор № МДР-ИП-01-13/25.01.2021,
Програма за морско дело и рибарство 2014-2020

СЪДЪРЖАНИЕ

Резюме на проекта	5
Цел и задачи	6
Дейност 1 Определяне нивата на приоритетни химични замърсители с антропогенен произход в морската среда	7
Поддейност 1 Организиране на вземане на проби за анализ	8
Поддейност 2: Определяне на нивата на приоритетни химични замърсители	11
Поддейност 3: Определяне на токсични елементи в морски организми	40
Поддейност 4: Пилотно проучване за съдържание на микрочастици под 5 mm в морската среда	49
Дейност 2 Идентифициране и определяне на нивата на замърсители с биогенен произход (морски биотоксини) в морската среда.	66
Разпространение на морски биотоксини в Черно море	66
Сезонна динамика в разпространението на морски биотоксини	71
Сравнение на средните концентрации на токсините по райони на улов	72
Сравнение на средните нива на морски биотоксини в диви и култивирани	73
Дейност 3 Оценка на състоянието на морската среда и безопасност на изследваните морски организми по отношение на замърсители с антропогенен и биогенен произход.	76
Поддейност 1: Оценка състоянието на морската среда по отношение на приоритетни химични замърсители в биота съгласно стандарти за качество на морската среда (СКОС)	77
Поддейност 2: Сравнение на получените резултати за антропогенни и биогенни замърсители в морската среда с данни от собствени проучвания	93
Поддейност 3: Анализ на състоянието на морската среда по отношение на физико-химични показатели.	103
Поддейност 4: Оценка на потенциалното влияние на мидените ферми върху състоянието на морската околна среда	109
Поддейност 5: Изследване на влиянието на физико-химичните параметри на морската среда върху продуцирането на морски биотоксини в планктон и натрупването им в двучерупчести аквакултури.	113
Поддейност 6: Оценка на безопасността на морските организми, използвани за консумация от човека	117
Поддейност 7: Анализ на стратегическото въздействие на резултатите от проекта върху "Синия растеж"	149
Дейност 4 Повишаване на осведомеността и знанията на обществеността за състоянието на морската среда и въздействието на антропогенните дейности.	156
Дейност 5 Осъществяване на сътрудничество със страни от Черноморския регион за подобряване на състоянието на морската среда.	158
Основни заключения и предложения	161
Постигнати резултати и приноси на проекта	166

----- www.eufunds.bg -----

Проект № BG14MFOP001-6.004-0006 е финансиран от Програмата за морско дело и рибарство 2014 - 2020, съфинансирана от Европейския съюз чрез Европейския фонд за морско дело и рибарство.

Проект № BG14MFOP001-6.004-0006
„Изследване на приоритетни химични замърсители и биотоксини за оценка на състоянието на морската среда“, договор № МДР-ИП-01-13/25.01.2021,
Програма за морско дело и рибарство 2014-2020



РЕЗЮМЕ НА ПРОЕКТА

Екологичното състояние на Черно море поражда загриженост поради замърсяване от антропогенни дейности, биогенни процеси и в резултат на климатичните промени. Замърсяването на морските води предизвиква неблагоприятни последици като токсичност за водните организми и намаляване на биологичното разнообразие. Оценка на състоянието на морската среда като система изисква да се определи влиянието на абиотичните и антропогенните фактори, и натиска, който морските организми упражняват, чрез жизнената си дейност върху средата.

Основната цел на проекта е оценка на състоянието на морската среда чрез анализ на нивата на приоритетни химични замърсители и биотоксини в морски организми и води.

В съответствие с Морската стратегия на България е проведен мониторинг на приоритетни замърсители като полихлорирани бифенили, хлорорганични пестициди, токсични елементи и морски биотоксини в биоиндикаторни организми (риби, миди). Проведено е пилотно проучване за определяне на микрочастици от полимерни материали в морската среда. Приложени са екологични методи, разработени в лаборатория по морски ресурси и аквакултури на МУ-Варна.

Данните от проведените анализи са използвани за оценка на актуалното състояние на морската среда, за въздействието на антропогенните дейности и безопасността на морските

----- www.eufunds.bg -----

организми. Резултатите са сравнени с данни от собствени проучвания, за да се проследят времевите тенденции в нивата на замърсителите.

Дейностите по проекта осигуряват нови научни данни за действителните нива на устойчиви органични замърсители, токсични елементи, микрочастици и биотоксини в морската среда.

Повишаването на знанията за състоянието на морската среда и безопасността на морските организми като храна ще допринесат за подкрепа за типични местни производства (мидени ферми, стопански улов на риба и др.). По този начин се постига насърчаване на местната "синя" икономика и „син растеж“ на региона.

Основна цел:

Оценка на състоянието на морската среда чрез анализ на нивата на приоритетни химични замърсители и биотоксини в морски организми и води

Основни задачи реализирани при изпълнението на проекта:

1. Мониторинг на приоритетни химически замърсители като устойчиви органични замърсители (УОЗ) и токсични метали в биота (различни видове риби, диви и култивирани миди).
2. Определяне на морски биотоксини в планктон, диви и култивирани миди.
3. Оценка на състоянието на морската среда по отношение на замърсители с антропогенен и биогенен произход на базата на получените резултати и чрез сравнение с резултати от собствени изследвания.
4. Оценка на потенциалното влияние на мидените аквакултури и на физико-химични параметри върху състоянието на морската околна среда.
5. Оценка на безопасността на изследваните видове морски риби и миди, използвани за храна.
6. Установяване на сътрудничество с научни и обществени организации от страни на Черноморския регион за обмен на информация и споделяне на добри практики.
7. Повишаване на знанията на обществеността за състоянието на морската среда и въздействието на антропогенните дейности.

Дейност 1 Определяне нивата на приоритетни химични замърсители с антропогенен произход в морската среда

- устойчиви органични замърсители (УОЗ)
- токсични елементи
- микрочастици с размер под 5 mm.

Изпълнени дейности и постигнати резултати:

Химическото замърсяване на морските води представлява заплаха за водната среда с такива последици, като остра и хронична токсичност за водните организми, натрупвания в екосистемата, загуба на естествени местообитания и на биологично разнообразие, а също така и опасност за човешкото здраве.

Рамковата директива за водите на Европейския съюз (РДВ) определя стратегия срещу замърсяването на всички европейски води (реки, езера, подземни и крайбрежни води) и изисква от държавите-членки да прилагат специфични мерки за контрол и предотвратяване на замърсяването (ЕС, 2000 г.). В това отношение една от директивите на ЕС определя стандартите за качество на околната среда (EQS) за 33 приоритетни вещества и други 8 замърсители с цел постигане на добро химично състояние на крайбрежните води (ЕС, 2008, Majeros et al., 2013). СКОС са определени както за води така и за тъкани на водни организми - биота (на база мокро тегло) и държавите-членки могат да изберат „най-подходящия индикатор измежду риби, мекотели, ракообразни и друга биота“ (Директива на ЕС, 2008 г.).

Според ДИРЕКТИВА 2013/39/ЕС по отношение на приоритетните вещества в областта на политиката за водите, приоритетни опасни вещества са: устойчиви органични замърсители (УОЗ) – полихлорирани бифенили (PCBs), полициклични ароматни въглеводороди, хлорорганични пестициди, тежки метали и токсични елементи.

В изпълнение на задачите по проекта е проведен мониторинг в периода февруари 2021 – май 2022 г на замърсители в морската среда в съответствие с Дескриптори 8, 9 и 10 на РЕШЕНИЕ (ЕС) 2017/848 НА КОМИСИЯТА от 17 май 2017 година за определяне на критерии и методологични стандарти за добро екологично състояние на морските води.

Мониторингът е извършен чрез прилагане на съвременни екологични методи за определяне на нивата на замърсителите в следните видове риби и черупчести (определени в дескриптор 9 и нови мерки съгласно чл. 13 от Рамкова директива за морска стратегия 2008/56/ЕО на РДМС): трицона (*Sprattus sprattus sulinus*), кая (*Neogobius melanostomus*), хамсия (*Engraulis encrasicolus ponticus*), калкан (*Psetta maxima maeotica*), чернокоп (*Pomatomus Saltatrix*), карагъз (*Alosa pontica*), кефал (*Mugil cephalus*) и сафрид (*Trachurus mediterraneus ponticus*), черна морска мида (*Mytilus galloprovincialis*).



Поддейност 1 Организиране на вземане на проби за анализ

Съгласно Дескриптори 8 и 9 на Морската стратегия на България и нови мерки съгласно чл. 13 от Рамкова директива за морска стратегия 2008/56/ЕО на РДМС са анализирани осем вида черноморски риби и черноморски миди, които имат стопанско значение и са традиционно консумирани в България – Таблица 1.1.

Таблица 1.1 Анализирани морски организми от Черно море

Вид проба	Латинско наименование	Английско наименование
Кая (попче)	<i>Neogobius melanostomus</i>	goby
Трицона	<i>Sprattus sprattus</i>	european sprat
Кефал	<i>Mugil cephalus</i>	grey mullet
Сафрид	<i>Trachurus mediterraneus ponticus</i>	horse mackerel
Хамсия	<i>Engraulis encrasicolus ponticus</i>	sprat
Калкан	<i>Psetta maxima maeotica</i>	turbot
Чернокоп	<i>Pomatomus Saltatrix</i>	bluefish
Карагъоз	<i>Alosa pontica</i>	scad
Черна морска мида	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	black mussel

Стратегията на мониторинга включва вземане на проби морски организми от различни райони на българското крайбрежие на Черно море:

- райони на стопански риболов,
- зони за отглеждане на аквакултури
- зони с потенциални източници на замърсяване.
- Защитени зони

Пробонабирането е извършено от професионални рибари с риболовен кораб в периода февруари 2021 – май 2022 г. Вzeti са проби риби и миди от район Север (Крапец, Шабла, Калиакра, Каварна, Балчик), Варна (Варненски залив, около нос Галата, Фичоза, Шкорпиловци и др.), Юг (Несебър, Бургас, Созопол) – Фигура 1.1.



Фигура 1.1. Карта на районите за вземане на проби

Във връзка с изпълнение на Дейност 1 е проведен мониторинг и са извършени анализи на хлорорганични съединения, полициклични ароматни въглеводороди и токсични елементи в общо 46 проби риби и миди взети в периода февруари 2021 – май 2022 г – Таблица 1.2.

Таблица 1.2. Списък на взети проби за анализ и места на улов

№	Проба №	Вид риба/мида	Място на улов	Дата на улов
1.	ME1	Черна морска мида-култивирана	Каварна	25.02.2021г.
2.	ME2	Хамсия	Варна	25.02.2021г.
3.	ME3	Карагъоз	Шкорпиловци	25.02.2021г.
4.	ME4	Черна морска мида-култивирана	Созопол	10.03.2021г.
5.	ME13	Карагъоз	Крапец	01.04.2021г.
6.	ME14	Калкан	Крапец	01.04.2021г.
7.	ME20	Хамсия	Бургас	21.04.2021г.
8.	ME21	Трициона	Бургас	21.04.2021г.
9.	ME23	Кая	Калиакра	28.05.2021г.
10.	ME28	Черна морска мида-дива	Крапец	23.06.2021г.
11.	ME29	Черна морска мида-дива	Балчик	22.06.2021г.
12.	ME30	Черна морска мида-култивирана	Каварна	23.06.2021г.
13.	ME31	Трициона	Варна	23.06.2021г.
14.	ME32	Кефал	Балчик	23.06.2021г.
15.	ME33	Кая	Каварна	23.06.2021г.
16.	ME34	Сафрид	Варна	23.06.2021г.
17.	ME35	Хамсия	Несебър	28.06.2021г.
18.	ME36	Сафрид	Несебър	28.06.2021г.
19.	ME37	Черна морска мида-култивирана	Равда	28.06.2021г.
20.	ME39	Черна морска мида-култивирана	Созопол	21.07.2021 г
21.	ME40	Сафрид	Бургас	21.07.2021 г
22.	ME41	Кая	Район юг Черноморец	21.07.2021 г
23.	ME42	Сафрид	Варна залив	20.07.2021 г
24.	ME43	Кая	Крапец	26.07.2021 г
25.	ME44	Чернокоп	Каварна	26.07.2021 г
26.	ME45	Хамсия	Балчик	27.07.2021 г
27.	ME46	Черна морска мида-култивирана	Каварна	26.07.2021 г
28.	ME50	Сафрид	Варна	29.09.2021 г
29.	ME51	Калкан	Крапец	29.09.2021 г
30.	ME55	Сафрид	Балчик	08.10.2021 г
31.	ME56	Лефер	Балчик	08.10.2021 г
32.	ME69	Чернокоп	Несебър	1.11.2021 г
33.	ME70	Сафрид	Несебър	1.11.2021 г
34.	ME80	Чернокоп	Каварна	4.11.2021 г
35.	ME81	Сафрид	Каварна	4.11.2021 г
36.	ME94	Кая	Варна	19.02.2022 г
37.	ME 95	Кефал	Варна - езеро	11.03.2022 г
38.	ME 105	Калкан	Дуранкулак	17.03.2022 г

----- www.eufunds.bg -----

39.	ME 106	Сафрид	Шабла	17.03.2022 г
40.	ME 107	Хамсия	Шабла	17.03.2022 г
41.	ME 108	Миди диви	Шабла	17.03.2022 г
42.	ME 109	Миди култивирани	Каварна	17.03.2022 г
43.	ME 114	Кефал	Варна (Фичоза)	14.04.2022 г
44.	ME 115	Миди култивирани	Каварна	14.04.2022 г
45.	ME 130	Кефал	Несебър	10.05.2022 г
46.	ME 131	Миди култивирани	Созопол	10.05.2022 г

Поддейност 2: Определяне на нивата на приоритетни химични замърсители

Извършване на анализи на морската среда за определяне на **приоритетни химични замърсители**: полихлорирани бифенили (PCB), хлорорганични пестициди (DDT и метаболити), хексахлоробензен, хексахлоробутадиен, полициклични ароматни въглеводороди (PAH) в морски организми (риби и миди) използвани за човешка консумация;

Анализ на нивата на устойчиви органични замърсители в проби риби и миди

Извършено е проучване за разработване на нови аналитични методи за приоритетни замърсители като е прегледана научна литература за определяне на полициклични ароматни въглеводороди (PAHs), хексахлороциклохексан и други хлорорганични пестициди в морски организми.

Въведена е в експлоатация нова апаратура **Система за ускорена екстракция с разтворители DIONEX ASE350, Thermo Scientific**, закупена със средства по проекта, чрез която се постига бърза и ефективна екстракция на приоритетни органични замърсители от тъкани на морски организми като се използват малки количества екстракционни разтворители.

Разработена е аналитична процедура за едновременна екстракция на приоритетни химични замърсители в морски организми чрез система за ускорена екстракция ASE350, чрез която се постига икономия на реактиви и екологосъобразни методи за анализ.

Разработени са инструментални режими на Газов хроматограф за качествено идентифициране и количествено определяне на приоритетни замърсители като полициклични ароматни въглеводороди (PAHs), полихлорирани бифенили (PCBs), хексахлороциклохексан и други хлорорганични пестициди в морски организми (миди и риби).

Във връзка с изпълнение на Дейност 1, Поддейност 2 е проведен мониторинг и са извършени анализи на хлорорганични съединения и полициклични ароматни въглеводороди в общо 46 проби риби и миди взети в периода февруари 2021 – май 2022 г:



Система за ускорена екстракция с разтворители DIONEX ASE350, Thermo Scientific

Извършена е пробоподготовка на взетите проби риба и миди – определяне на биометрични характеристики, смилане, хомогенизиране.

Екстракция на рибната и мидена тъкан е извършена чрез система за ускорена екстракция ASE DIONEX 350 (Thermo Scientific), извършено е колонно пречистване на получените екстракти.

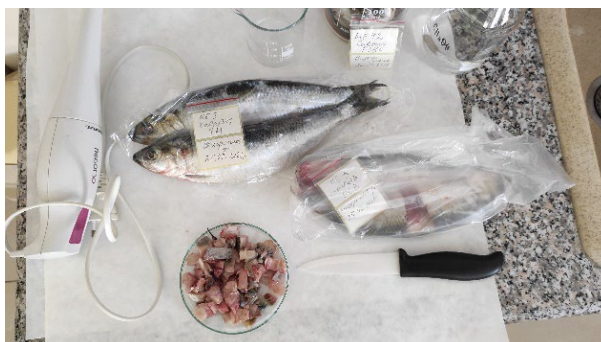


Таблица 1.3. Средни биометрични характеристики на проби черноморски риби

Вид	Латинско наименование	Средна дължина, cm	Средно тегло, g
Кая (попче)	<i>Neogobius melanostomus</i>	16,7±2,8	86,8±33,7
Трицона	<i>Sprattus sprattus</i>	10,9±1,2	5,1±1,4
Кефал	<i>Mugil cephalus</i>	42,8±8,0	592,5±66,8
Сафрид	<i>Trachurus mediterraneus ponticus</i>	12,8±2,0	14,4±3,9
Хамсия	<i>Engraulis encrasicolus ponticus</i>	9,2±1,4	6,2±0,9
Калкан	<i>Psetta maxima maeotica</i>	57,3±10,8	2333,3±650,6
Чернокоп	<i>Pomatomus Saltatrix</i>	22,7±7,0	135,7±145,4
Карагьоз	<i>Alosa pontica</i>	32±2,8	248,7±4,2
Черна морска мида	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	5,7±0,5	12,6±3,6

- Определено е липидното съдържание на анализираниите проби морски организми.

• Проведени са Газ-хроматографски анализи (Газов хроматограф GC Focus с масдетектор Polaris Q) на пречистените екстракти от проби биота за определяне на устойчиви хлорорганични замърсители, хексахлоробензен и хексахлоробутадиен, полициклични ароматни въглеводороди. Извършена е обработка на хроматограмите - качествено идентифициране и количествено определяне на хлорорганични замърсители в проби биота чрез Газов хроматограф с масдетекция. Изчислени са аналитичните резултати от газ-хроматографските анализи на проби биота за хлорорганични пестициди, полихлорирани бифенили, хексахлоробензен и хексахлоробутадиен, полициклични ароматни въглеводороди.

• Обработени са резултатите от газхроматографските анализи на хлорорганични замърсители в проби биота като е направено обобщение и сравнение на получените данни. Направена е статистическа обработка на получените резултати.

Анализирани са общо 46 проби морски организми (34 проби риби и 12 проби миди) и са определени следните приоритетни устойчиви съединения:

- Дихлордифенилтрихлороетан (p,p-DDT) и метаболитите p,p-DDD и p,p-DDE
- Хексахлоробензен (ХХБ) и хексахлоробутадиен (ХХБД)
- Хексахлороциклохексан (HCH) - изомери алфа, бета, гама (линдан) и делта HCH

- Хептахлор, Алдрин, Хептахлорепоксид, Ендосулфан, Ендриналдехид, Диелдрин, Ендрин (Heptachlor, Aldrin, Heptachlorepoxyd, Endosulfan_I, Endrinaldehyd, Dieldrin, Endrin)
- Полихлорирани бифенили (PCBs) – индикаторни и диоксиноподобни
- Полициклически ароматни въглеводороди (PAHs)

Анализ на резултатите за съдържание на дихлородифенил-трихлороетан (p,p-DDT) и метаболитите p,p-DDD и p,p-DDE в проби риби

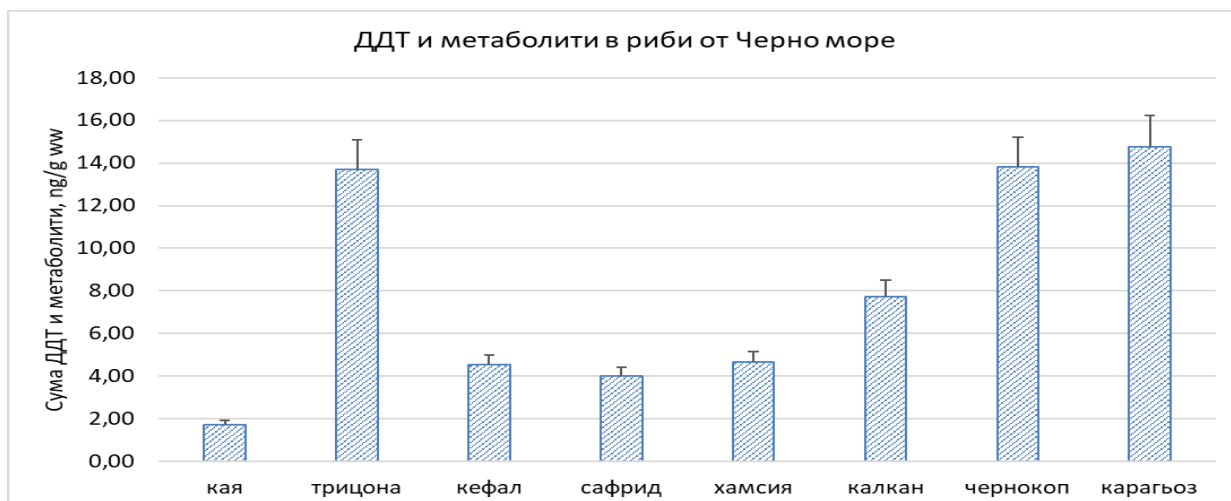
Резултати за средни концентрации на DDT и метаболитите DDE и DDD в проби риби са представени в Таблица 1.4. Сума DDT (като сума от концентрациите на p,p-DDE, p,p-DDD и p,p-DDT). Нивата на органични замърсители в мускулна тъкан на пелагични и дънни видове риби, изследвани в периода февруари 2021 – май 2022 г, варират в зависимост от вида, съдържанието на липиди, местообитанието, позицията им в трофичната верига.

Най-висока средна стойност за метаболитът DDE е установена в карагьоз, а за p,p-DDD стойността е най-висока при чернокоп. Тези видове риби са с най-високо липидно съдържание и резултатите са логични защото метаболитите на DDT са липофилни съединения и се натрупват в по-голяма степен в мастната тъкан на рибите.

Таблица 1.4. Резултати за средни концентрации на DDT и метаболитите DDE и DDD в проби **риби**, изчислени на база свежо тегло (мокро тегло), ng/g ww (wet weight)

Вид риба	n	p,p-DDE, ng/g ww	p,p-DDD, ng/g ww	p,p-DDT, ng/g ww
каля	5	1,08	0,66	< LOD
трициона	2	8,79	3,95	0,97
кефал	4	2,56	1,42	0,56
сафрид	9	2,39	1,51	0,10
хамсия	5	3,03	1,23	0,41
калкан	3	4,52	3,01	0,20
чернокоп	4	8,08	4,48	1,26
карагьоз	2	10,43	3,71	0,61

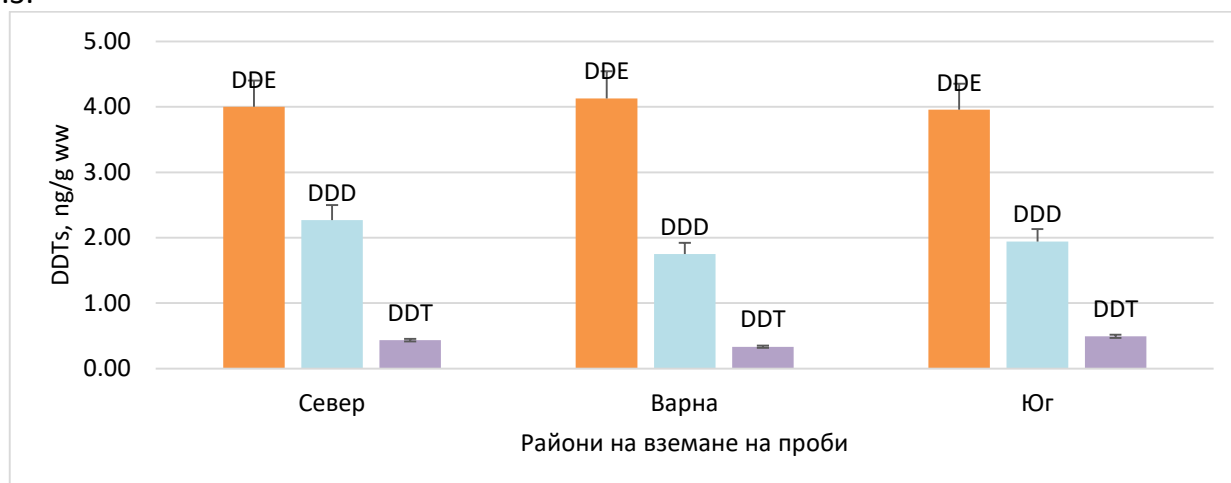
Направено е сравнение на средните концентрации на сумарно DDT в различните видове черноморски риби – фигура 1.2.



Фигура 1.2 Сравнение на резултати за сумарно DDTs, ng/g ww (като сума от концентрациите на p,p-DDE, p,p-DDD и p,p-DDT) в проби черноморски риби

Резултатите показват, че с най-високо съдържание на DDT и метаболитите DDE и DDD са пробите карагьоз и чернокоп. Тези данни могат да бъдат обяснени с високото липидно съдържание на тези видове риба, с хищния начин на хранене и с миграционния им начин на живот. Карагьозът и чернокопът са видове, които обитават различни райони на Черно море, извън крайбрежната територия на България. Затова концентрациите на замърсителите в този вид риба не могат да служат за оценка на локално (местно) замърсяване. Очаквано, в местните видове риба (кая, кефал, сафрид и хамсия) се наблюдава ниско съдържание на този вид замърсители като преобладава метаболитът DDE. Това показва, че остатъчните количества открити в пробите черноморски видове риба се дължат на употреба на DDT в миналото и неговото метаболизиране.

Статистическият анализ на данните и сравнението по райони на пробовземане показват, че не се установява статистически значима разлика между средните концентрации на DDT и неговите метаболити DDD и DDE в пробите риби от райони Север, Варна и Юг ($p > 0.05$) – Фиг. 1.3.



Фигура 1.3. Сравнение на средните стойности на DDT и метаболитите DDD и DDE в риби, ng/g ww по райони на пробовземане

Анализ на резултати

от газхроматографски анализи на хексахлоробензен и хексахлоробутадиен в проби риби

Хлорорганичните замърсители като хексахлоробензен (HCB) и хексахлоробутадиен (HCBDE) са определени като приоритетни замърсители с вредно въздействие за околната среда и особено за водните екосистеми. Поради тяхната стабилна структура и липофилен характер, те са склонни да се концентрират в масните тъкани на морските организми и да се натрупват по хранителната верига (Bordajandi et al., 2006).

Рибите и мидите са подходящ индикатор за мониторинг на замърсяването на околната среда, тъй като те концентрират замърсители в тъканите си директно от водата, но също и чрез диетата си, като по този начин позволяват да се оцени преноса на замърсители през трофичната верига (Fisk et al., 2001). Следователно данните за наличието и разпространението на органохалогенирани замърсители в рибата и особено годните за консумация видове риба са важни не само от екологична, но и от гледна точка на човешкото здраве (Macgregor et al., 2010). Хексахлоробензенът (HCB) е хидрофобно и силно устойчиво съединение (Verweij et al., 2004). HCBDE се използва главно като разтворител в производството на каучук и други полимери. Употребявани са в селското стопанство при обработка на семена, в хидравлични течности и редица други промишлени процеси (Jürgens et al., 2013).

Тъканите на осем вида риба, уловени от различни райони на Черно море, са анализирани за хексахлоробензен (ХХБ, HCB) и хексахлоробутадиен (ХХБД, HCBDE), определени като приоритетни вещества в европейското законодателство по отношение на стандартите за качество на околната среда (СКОС) в биота – Директива 2008/105/ЕО. Резултати за нивата на ХХБ и ХХБД по видове риби са представени в Таблица 1.5.

Таблица 1.5. Резултати за средни концентрации на хексахлоробензен (ХХБ) и хексахлоробутадиен (ХХБД) в риби, изчислени на база свежо тегло, ng/g ww (wet weight)

Вид риба	n	ХХБ, ng/g ww	ХХБД, ng/g ww
каля	5	0.077	nd
трицона	2	1.217	nd
кефал	4	0.112	0.023
сафрид	9	0.198	0.005
хамсия	5	0.508	0.048
калкан	3	0.180	nd
чернокоп	4	0.508	0.103
карагьоз	2	2.545	nd

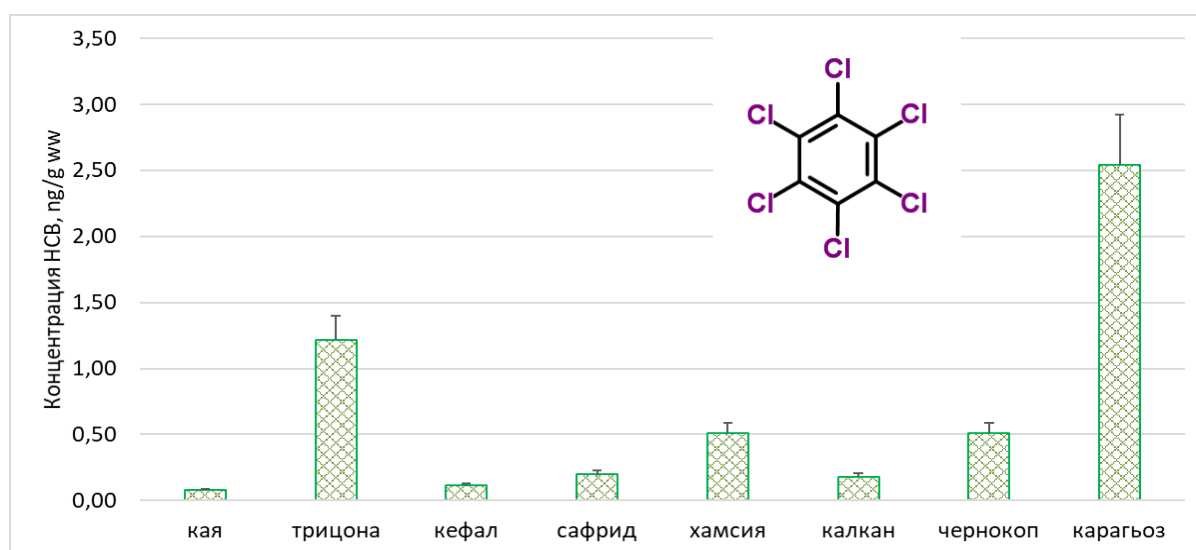
< LOD – под границата на откриване

----- www.eufunds.bg -----

Концентрациите на ХХБ в риби варират от < LOD до 3.04 ng/g ww (в проби карагъоз от Шкорпиловци).

От всички анализирани проби само в 4 проби е установено съдържание на ХХБД като резултатите са близки до границата на количествено определяне на метода. В останалите проби съдържанието на ХХБД е под границата на откриване на аналитичния метод (< LOD). Сравнение на резултатите за хексахлоробензен и хексахлоробутадиен в черноморски риби с определените СКОС от 10 µg/kg (=ng/g) и 55 µg/kg в биота (Директива на ЕС 39/2013), съответно, показва добро химично състояние на крайбрежните води по отношение на тези приоритетни замърсители.

Направено е сравнение на резултатите за ХХБ по видове риби, за да се оценят междувидовите различия в натрупването на този приоритетен замърсител – Фигура 1.4.



Фигура 1.4. Сравнение на средните концентрации на ХХБ, ng/g ww по видове черноморски риби

Статистическата обработка на данните показва, че съществува статистически значима разлика в нивата на хексахлоробензен в карагъоз и трициона, в сравнение с останалите изследвани видове риби. Карагъозът е мигриращ вид риба, който навлиза в устието на р. Дунав през пролетно-летния сезон и има потенциална вероятност по-високите нива на ХХБ именно при този вид да се дължат на влияние на р. Дунав. В скорошни проучвания на редица автори (project ANEMONE BSB319) са установени концентрации на ХХБ в риби (goby, кая) от крайбрежието на Украйна в диапазона от 2.03 до 6.17 µg/kg ww (=ng/g ww). Резултатите от нашето проучване за кая (*Neogobius melanostomus*) показват 0.08 ng/g ww (средна стойност за ХХБ).

Сравнението на резултатите с данни от други проучвания показва, че в проучвания на диви видове риби от английски реки е установено съдържание на ХХБ – най-висока стойност 6 µg/kg в змиорки (Jürgens et al., 2013), а в изследване на змиорки в Шотландия е установено

съдържание на хексахлоробутадиен само в една от 150 проби (Macgregor et al., 2010). При изследване на хексахлоробутадиен в сладководни риби от река Рона, Франция също не е установено съдържание на този вид хлорорганичен замърсител (Miege et al. 2012).

Литературни източници:

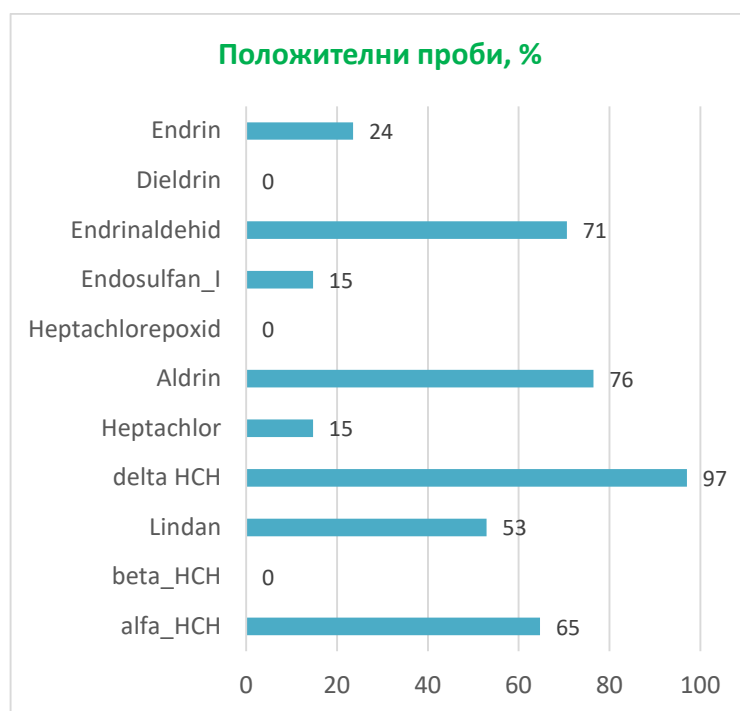
- Bordajandi LR, Martin I, Abad E, Rivera J, Gonzalez MJ (2006) Organochlorine compounds (PCBs, PCDDs and PCDFs) in seafish and seafood from the Spanish Atlantic Southwest Coast. Chemosphere 64: 1450–1457
- European Commission. Commission Regulation (EU) No 1259/2011 of 2 December 2011 amending regulation (EC) no. 1881/2006 as regards maximum levels for dioxins, dioxin-like PCBs and non dioxin-like PCBs in foodstuffs. Official Journal of the European Union 2011; L 320:18–23.
- European Commission, Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 Establishing a Framework for Community Action in the Field of Water Policy, Off. J. Eur. Comm., L327, 2000, p.1.
- European Commission, Directive 2008 /105/ EC of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on Environmental Quality Standards in the Field of Water Policy, Off. J. Eur. Union, L348, 2008, p.84.
- European Commission DIRECTIVE 2013/39/EU amending Directives 2000/60/EC and 2008 / 105 / EC as regards priority substances in the field of water policy (2013)
- Fisk AT, Hobson KA, Norstrom RJ. (2001) Influence of chemical and biological factors on trophic transfer of persistent organic pollutants in the Northwater Polynya marine food web. Environ Sci Technol, 35 732–8.
- Jürgens, M D Johnson AC, Jones K C, Hughes D, Lawlor A J, (2013) Science of the Total Environment 461–462 441–452
- Macgregor K, Oliver IW, Harris L, Ridgway IM, (2010) Environmental Pollution 158, 2402 - 2411
- Majoros L I, Lava R, Ricci M, Binici B, Sandor F, Held A, Emons H (2013) Full method validation for the determination of hexachlorobenzene and hexachlorobutadiene in fish tissue by GC–ID MS. Talanta 116 251–258
- Miege C, Peretti A, Labadie P, Budzinski H, Le Bizec B, Vorkamp K, et al. (2012) Occurrence of priority and emerging organic compounds in fishes from the Rhone River (France). Anal Bioanal Chem;404:2721–35.
- Project ANEMONE BSB319 “Assessing the vulnerability of the Black Sea marine ecosystem to human pressures” coordinated by the National Institute for Marine Research and Development “Grigore Antipa”, Romania
- Verweij F, Booij K, Satumalay K, van der Molen N, van der Oost R. (2004) Assessment of bioavailable PAH, PCB and OCP concentrations in water, using semipermeable membrane devices (SPMDs), sediments and caged carp. Chemosphere;54:1675–89.
- Проект на МУ – Варна по Договор №Д-33-49/30.06.2015 МОСВ, ФМ ЕИП, Повишаване капацитета на "Лабораторията по химия на храни и околна среда" в Медицински университет – Варна и превръщането ѝ в специализирана лаборатория за изследването на морски и сладководни ресурси и аквакултури

Анализ на резултати за съдържание на хлорорганични пестициди в проби риби

Проведени са газхроматографски анализи за определяне на 11 хлорорганични пестициди (хексахлороциклохексан – изомери: alfa_HCH, beta_HCH, Lindan, delta HCH, Heptachlor, Aldrin, Heptachlorepoxyd, Endosulfan_I, Endrin, Dieldrin, Endrin) в проби риби от различни райони на българското крайбрежие на Черно море.

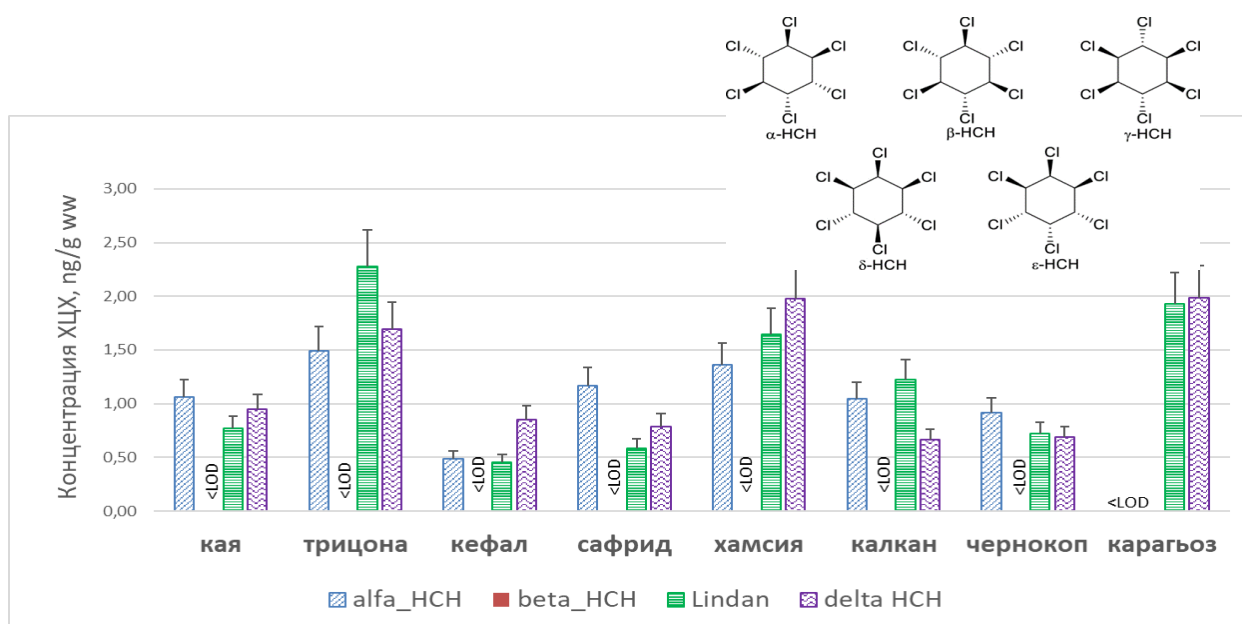
Направена е статистическа обработка и обобщение на резултатите като са сравнени данните за хлорорганични пестициди по видове риби и по райони на вземане на проби.

Получените резултати от газхроматографските анализи показват, че за 6 от изследваните пестицида положителните проби са под 25%. За 3 химични вещества (диелдрин, хептахлорепоксид и бета HCH) всички изследвани проби са под границата на откриване на метода (LOD) – Фигура 1.5.



Фигура 1.5. Разпределение на положителните проби хлорорганични пестициди в черноморски риби

Направено е сравнение на получените резултати за хексахлороциклохексан и неговите изомери по видове риби – Фиг. 1.6. Средните стойности на концентрациите показват, че нивата на линдан са най-високи при трицона, докато в кефал и сафрид са най-ниски. Изомерът beta-HCH не се открива в нито една от изследваните проби риба.

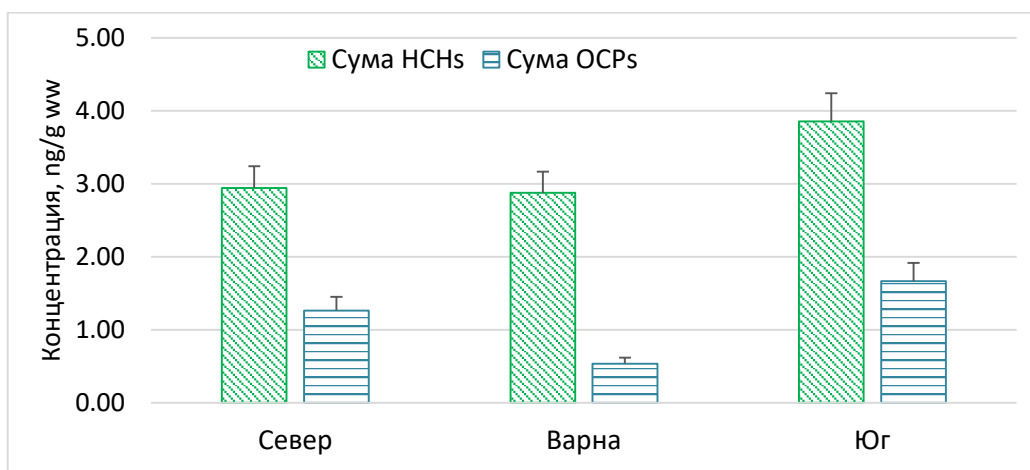


Фигура 1.6. Сравнение на концентрациите на изомерите на хексахлороциклохексан, ng/g ww по видове черноморски риби

www.eufunds.bg

Изомерът delta – HCHs има най-висока стойност в хамсия и карагъоз. Високите нива на изомерите на HCH в трикона и хамсия вероятно се дължат на факта, че за анализ са използвани цели риби (включително глави, вътрешности и кожа) поради малкия размер на тези видове. При по-едрите видове риба за химичен анализ се използва ядивната част (мускулна тъкан).

Сравнени са средните стойности на **сума HCH** (сума α _HCH, β _HCH, Lindan, delta HCH **изомери**) и хлорорганични пестициди (**OCPs** – сума от Heptachlor, Aldrin, Heptachlorepoxyd, Endosulfan_I, Endrin, Dieldrin, Endrin) в изследваните проби риби, ng/g ww по райони на пробовземане – Фигура 1.7.



Фигура 1.7. Сравнение на средните стойности на сума ХЦХ и сума от хлорорганични пестициди (OCPs) в риби, ng/g ww по райони на пробовземане

Сравнението показва, че средните стойности на сума HCH в проби риби от район Юг са по-високи в сравнение с райони Варна и Север. Статистическият анализ на данните обаче показва, че няма статистически достоверна разлика в нивата на хлорорганичните замърсители по райони на вземане на проби ($p > 0,05$).

Румънски изследователи през 2019 г са установили концентрации на OCPs при риби (*Psetta maeotica*, *Neogobius melanostomus* и *Mullus barbatus ponticus*) от южната част на Румънското крайбрежие (район Мангалия): средни стойности за HCB (66,06 ng/g ww, линдан 19,72 ng/g ww и сума DDT и метаболити 23,11 ng/g ww) (Project ANEMONE BSB319). Резултатите от настоящото изследване са по-ниски от данните в проекта на румънските учени.

Анализ на резултати от изследвания на приоритетни хлорорганични замърсители в миди

Използването на двучерупчести мекотели като биоиндикатори често се прилага в програмите за мониторинг, защото те концентрират замърсители до концентрации по-високи от нивата, присъстващи в морската вода. Мидите са водни организми, които имат неподвижен начин на живот, така че концентрацията на замърсители в тях може да се използва като показател за местно замърсяване. Предимства при използването на миди за мониторинг е широкото им географско разпространение, заседнал начин на живот, лесен начин за вземане на проби, устойчивост на стрес и сравнително бързо натрупване на токсични вещества, поради начина им на хранене.

В периода от февруари 2021 до май 2022 г. са взети 12 проби черна морска мида (*Mytilus galloprovincialis*) - култивирани миди и миди от естествени популации с цел да се проследи замърсяването с DDT и метаболити, други хлорорганични пестициди, хексахлоробензен и хексахлоробутадиен, в крайбрежната зона на българското Черноморие. Мидите са събрани от районите Каварна, Българево, Кранево, Равда, Созопол от ферми за култивирани миди и от свободни зони. От всеки район са събрани по три килограма миди с близки размери. Мидената тъкан е анализирана сурова като е подложена на ускорена екстракция с органични разтворители чрез система DIONEX ASE 350 (Методиката е описана в приложение). Определено е липидното съдържание, липидните екстракти са пречистени чрез колонна хроматография и са извършени газхроматографски анализи за определяне на хлорорганични пестициди:

- Дихлордифенилтрихлороетан (p,p-DDT) и метаболитите p,p-DDD и p,p-DDE
- Хексахлоробензен (ХХБ) и хексахлоробутадиен (ХХБД)
- Хексахлороциклохексан (HCH) - изомери алфа, бета, гама (линдан) и делта HCH
- Хептахлор, Алдрин, Хептахлорепоксид, Ендосулфан, Ендриналдехид, Диелдрин, Ендрин (Heptachlor, Aldrin, Heptachlorepoxyd, Endosulfan_I, Endrinaldehid, Dielldrin, Endrin)

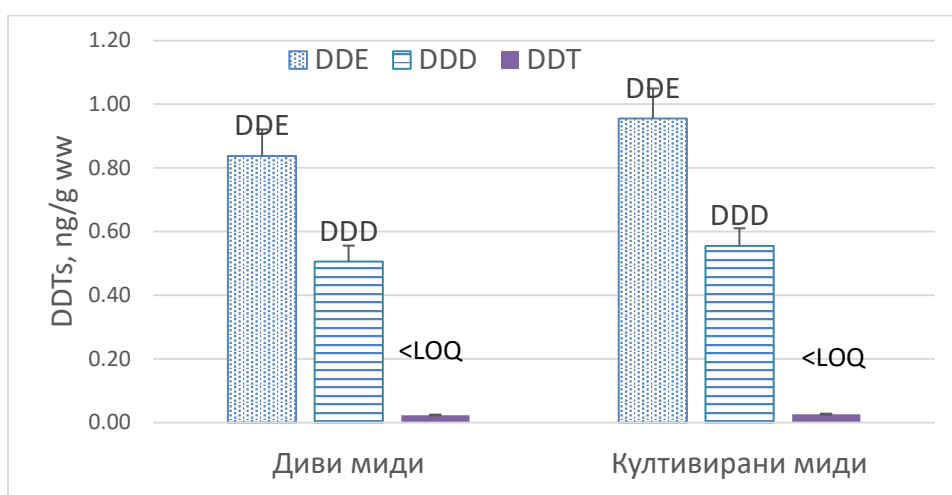
Резултатите за концентрации на DDT и метаболити, хексахлоробензен и хексахлоробутадиен, изомери на HCH и останалите хлорорганични пестициди са представени съответно в Таблица 1.6, Фигури 1.8 и 1.9.

Най-висока стойност за сума от DDT и метаболити е установена при проба миди от района на Созопол. Съдържанието на DDT и метаболити в миди от черноморското ни крайбрежие са по-ниски в сравнение с нивата във всички изследвани рибни видове. Тези резултати са логични, защото липидното съдържание на изследваните диви и култивирани миди е по-ниско в сравнение с рибните видове. Затова и нивата на липофилните хлорорганични замърсители е по-ниско. Подобни резултати са установени и при предишни наши изследвания.

Таблица 1.6. Резултати за концентрации на DDT и метаболитите DDE и DDD в проби миди, изчислени на база свежо тегло, ng/g ww

Проба №	Вид мида	Район на улов	DDE, ng/g ww	DDD, ng/g ww	DDT, ng/g ww	Сумарно DDT, ng/g ww
ME 1-2	Миди култивирани	Каварна	0,80	0,47	< LOD	1,27
ME4-1	Миди култивирани	Созопол	1,66	0,90	0,11	2,67
ME28	Миди диви	Крапец	0,86	0,49	0,07	1,42
ME29	Миди диви	Балчик	0,79	0,49	< LOD	1,28
ME30	Миди култивирани	Каварна	0,74	0,39	< LOD	1,13
ME37	Миди култивирани	Равда	1,07	0,66	0,05	1,78
ME39	Миди култивирани	Созопол	0,89	0,55	0,07	1,52
ME46	Миди култивирани	Каварна	0,98	0,70	< LOD	1,68
ME 108	Миди диви	Шабла	0,86	0,54	< LOD	1,40
ME 109	Миди култивирани	Каварна	0,93	0,48	< LOD	1,42
ME 115	Миди култивирани	Каварна	0,73	0,36	< LOD	1,09
ME 131	Миди култивирани	Созопол	0,79	0,49	< LOD	1,28

Направено е сравнение на концентрациите на DDT и неговите метаболити DDE и DDT в миди от естествени популации и култивирани миди. Резултатите показват, че няма статистически значима разлика в нивата на този приоритетен замърсител – Фигура 1.8.



Фигура 1.8 Сравнение на средните стойности на DDT и метаболитите DDD и DDE в диви и култивирани миди, ng/g ww

Разпределението на DDT и неговите метаболити е както следва: метаболитът DDE е 62%, DDD е 36%, а p,p-DDT се открива само в 4 от анализирани проби миди като стойностите са близки до границите на откриване на аналитичния метод, което показва, че откритите нива на тези замърсители в миди вероятно са в резултат на остатъци от стари замърсявания.

Средна стойност на сумарно DDT в миди е 1,49 ng/g ww и е по ниска от средната стойност на DDTs в миди от проучване проведено в периода 2015 г. (по проект на МУ – Варна по Договор №Д-33-49/30.06.2015 МОСВ, ФМ ЕИП) - 2.02 ng/g ww. Получените резултати са по-ниски от резултати за DDT и метаболити в миди от Белгийско северно море 30.4 ng/g ww. Концентрациите в зеленоушни миди от Хонг Конг варират от 300 до 4400 ng/g lw (липидно тегло) за общото съдържание на органохлорни пестициди. Италиански учени съобщават за нива на DDT в сини миди от залива на Неапол от 32.1 до 308.8 ng/g lw.

Румънски учени през 2019 г са установили средни нива на сумарно DDT в черноморски миди от северозападното крайбрежие на Черно море 54,4 ng/g ww (Project ANEMONE BSB319).

Статистическият анализ на данните за Нивата на DDT и метаболити в миди показва, че няма статистически значима разлика между райони Север и Юг ($p > 0,05$).

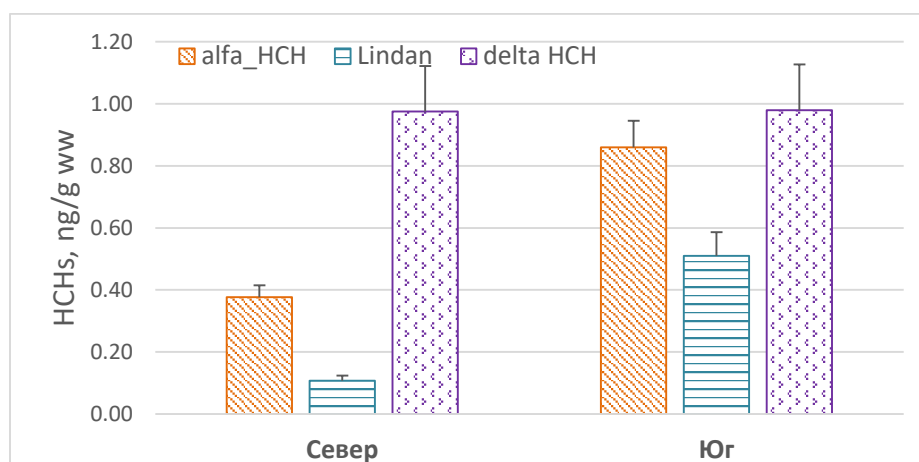
Резултатите от хроматографските анализи показаха наличие на HCB само в 3 от изследваните проби миди (най-висока стойност 0,49 ng/g ww в миди от Созопол), а HCBd не беше установен в нито една от анализирани проби миди. По проект ANEMONE са докладвани нива на хексахлоробензен (HCB) 41,92 ng/g ww (средна стойност) в проби *Mytilus galloprovincialis* от Румънското крайбрежие на Черно море (Project ANEMONE BSB319). Сравнение на резултатите за хексахлоробензен и хексахлоробутадиен в черноморски миди от естествени популации и култивирани миди с определените СКОС от 10 µg/kg и 55 µg/kg в биота (Директива на ЕС 39/2013), съответно, показва много ниски нива на замърсяване с тези хлорорганични съединения.

Получените резултати от изследване на съдържанието на хлорорганични замърсители в миди биха могли да послужат за първоначална оценка на състоянието на черноморските крайбрежни води.

Съдържание на изомери на хексахлороциклохексан в проби черноморски миди

Обобщени резултати от анализите за съдържание на изомери на хексахлороциклохексан в проби черноморски миди са представени на фигура 9. Сравнени са средните стойности за α -HCH, Lindan, δ -HCH изомери в изследваните проби миди, ng/g ww по райони на пробовземане – Фигура 1.9.

Сравнението показва, че средните стойности на линдан в проби миди от район Юг са по-високи в сравнение с резултатите за този изомер на хексахлороциклохексан в миди от райони Варна и Север. Румънски изследователи през 2019 г са установили концентрации на линдан в миди от Румънското крайбрежие - средни стойности 28,25 ng/g ww (Project ANEMONE BSB319).



Фигура 1.9. Сравнение на средните стойности на сума ХЦХ и сума от хлорорганични пестициди (OCPs) в миди, ng/g ww по райони на пробовземане

ОБОБЩЕНИЕ

на резултатите от анализите на проби биота за хлорорганични замърсители

Проведено е проучване за съдържание на приоритетни хлорорганични замърсители в черноморски видове риби и в проби миди от естествени популации и култивирани миди. Определени са приоритетни и специфични замърсители (съгласно Дескриптори 8 и 9 от Морската стратегия на България) в рибна тъкан на осем вида черноморски риби от естествени популации.

Данните от проучванията показват, че съществуват междувидови разлики в нивата на замърсяване с полихлорирани бифенили, DDT и метаболити, хексахлоробензен и хексахлоробутадиен при изследваните видове риби.

DDT присъства главно под формата на метаболитите DDE и DDD като DDE е преобладаващия метаболит във всички анализирани проби биота. Високото съотношение на метаболитът DDE към общото съдържание на DDT при пробите риби и миди, показва, че няма скорошна употреба на DDT в региона на проучените крайбрежни зони.

Получените резултати за концентрациите на приоритетните замърсители хексахлоробензен и хексахлоробутадиен в риби от естествени популации са под определените в европейското законодателство СКОС от 10 µg/kg и 55 µg/kg в биота съответно, показва добро екологично състояние на крайбрежните води по отношение на тези замърсители.

Резултатите показват, че в изследваните миди от естествени популации и в култивираните миди се съдържат само метаболитите DDE и DDD, а DDT се открива само в 4 от пробите миди. Това е показател, че няма скорошна употреба на DDT в района на черноморското крайбрежие на България, а остатъчните концентрации на метаболитите са в резултат на стари замърсявания.

Сравнението на получените данни с резултати от проучвания на други автори показва, че нивата на замърсяване с приоритетните замърсители: DDT и метаболити, хексахлоробензен, хексахлоробутадиен, хексахлороциклохексан на изследваните риби и миди от българското черноморско крайбрежие са по-ниски, от нивата на тези замърсители в морски организми от Черно море и съседните - Мраморно и Средиземно море.

----- www.eufunds.bg -----

Анализ на резултати за съдържание на полихлорирани бифенили (PCBs) в проби риби и миди

Полихлорираните бифенили (PCB, PCBs) включват 209 конгенера, промишлено произведени като технически смеси за диелектрични течности, органични разредители и забавители на горенето. Въпреки че производството и употребата им бяха забранени през 1977 г. в САЩ и през 1980 г. в повечето европейски страни, те все още присъстват в околната среда, поради тяхната дълготрайна устойчивост и биоакмулиращи свойства чрез различни хранителни вериги. Тези съединения могат да проявят токсични ефекти върху нервната, имунната, ендокринната и репродуктивната системи (Fonnum, F et al., 2006).

В научната литература са публикувани проучвания, в които се използват различни организми (риби, птици и бозайници) като биоиндикатори за замърсяване на околната среда. Такива биологични показатели осигуряват интегрирана информация за замърсяването и ефекта върху околната среда, които не могат да бъдат определени от химичните анализи на водните проби (O'Shea et al., 1980). Крайната цел на токсикологията на околната среда е да се предскажат и диагностицират причините за биологичните ефекти в резултат от експозиция на химични замърсители в околната среда.

Анализът на PCBs е извършен чрез газов хроматограф с масдетектор, след предварителна екстракция на липидите от мускулна тъкан на риби и миди чрез система за ускорена екстракция с органични разтворители (DIONEX ASE 350) и колонно пречистване на липидния екстракт – Приложения Д1-7 и Д1-8. Анализирани са общо 46 проби морски организми (миди и риби) от различни райони на черноморското крайбрежие и са определени 15 сродни съединения (конгенери) PCBs.

Данните за наличието на недоксиноподобни PCB в различни проби от храни и околната среда се докладват като сбор от шест конгенера на PCB (PCB 28, 52, 101, 138, 153 и 180) често наричани индикаторни I-PCBs (EFSA - Европейския орган за безопасност на храните). Тези PCBs са най-често срещаните конгенери от групата на недоксиноподобните PCB, открити в храната (приблизително 50%). Анализирани са и шест диоксиноподобни PCBs (dl-PCBs).

Резултати за концентрации на индивидуални полихлорирани бифенили (PCBs), в проби риби и миди са представени в приложения към междинните отчети.

Данните от проведените анализи показват специфичен профил на разпределение на индикаторните PCBs характерен за рибите – фигура 1.10. Доминирането на PCB 153, 138, 180 и 118 вероятно се дължи на тяхната висока липофилност, стабилност и устойчивост на техните молекулни структури, което улеснява адсорбцията им върху повърхността на седиментите и натрупването им във водната екосистема (Perugini et al., 2008; Baeyens et al., 2007). В европейските страни (включително България) са използвани търговски смеси като Aroclor 1254 и Aroclor 1260, в които преобладават конгенерите PCB 180, 153, 138. (МОСВ, 2005 а). Това е една от причините те да присъстват в морските екосистеми и да бъдат откривани в значителни количества в морските организми и седименти (Naso et al., 2005).

Подобен профил на доминиране на конгенери 153 и 138 (съединения с шест хлорни атома) е установен при предишни наши изследвания на риби от Черно море и докладвани в

----- www.eufunds.bg -----

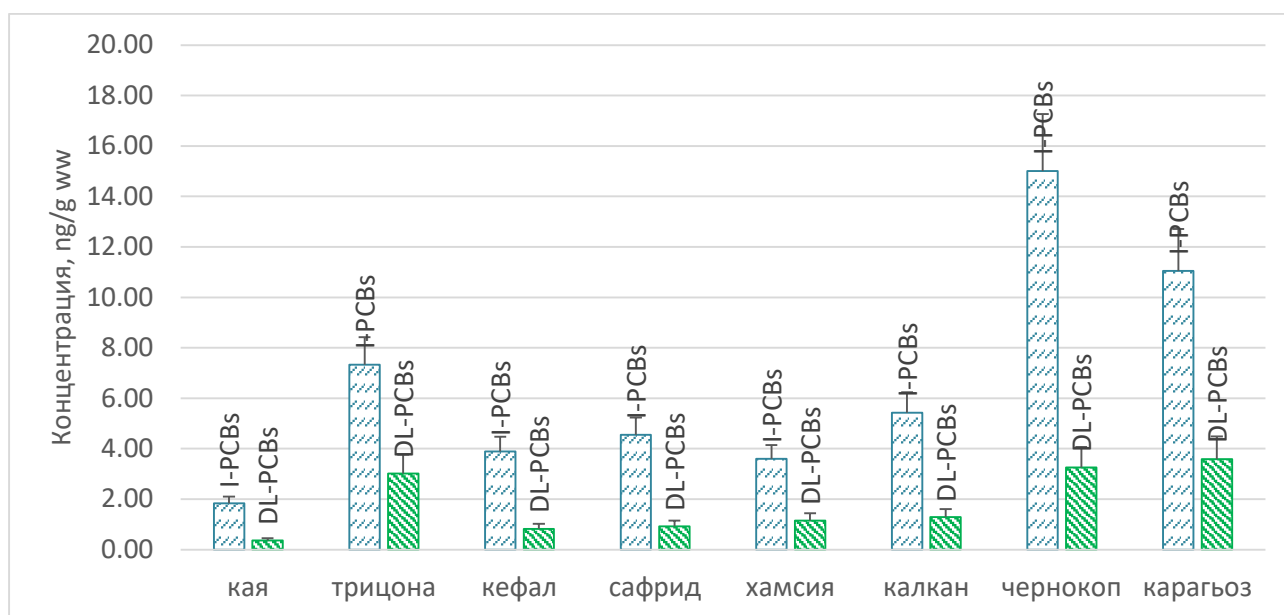
проучвания на други автори (Stancheva et al., 2013; Georgieva et al., 2013; Naso et al., 2005; Stefanelli et al., 1997; Masmoudi et al., 2007; Storelli et al., 2006 b; Isosaari et al., 2006). Преобладаването на хексахлорирани PCB 153 и 138 в рибни видове от различни крайбрежни зони в Средиземно море (Naso et al., 2005; Storelli et al., 2005), Адриатическо море (Bayarri et al., 2001) и други проучвания се съобщава от редица автори (Boscher et. al, 2010). PCB 153 и 138 са преобладаващите конгенери и в риби от Мраморно море, изследвани за органохлорни замърсители от (Coelhan et. al, 2006).



Фигура 1.10. Специфичен профил на разпределение на конгенерите PCBs в проби риби, ng/g ww

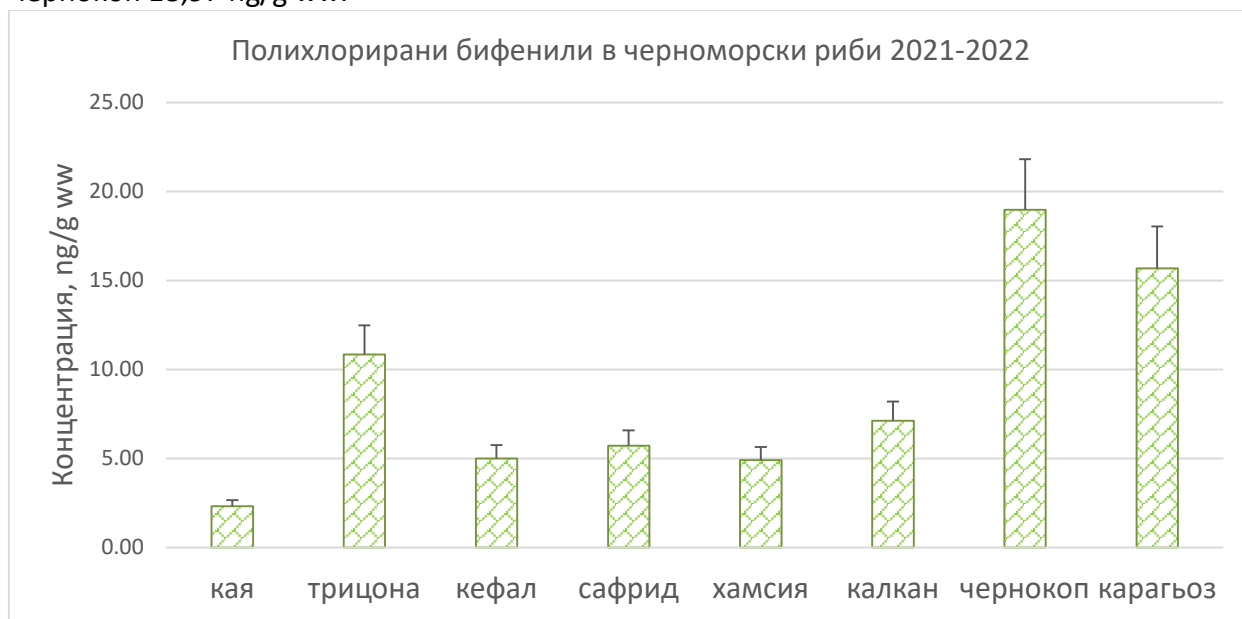
Наблюдават се междувидови различия в натрупването на PCBs при различните видове черноморски риби. Сумата от 6 индикаторни PCBs при различните видове риба варира от 1,83 (в кая) до 15,01 ng/g ww (в чернокоп) – фигура 1.11. Нивата на диоксиноподобните DL-PCBs са ниски и са в диапазона от 0,36 до 3,59 ng/g ww при кая и карагьоз съответно.

В Европейският съюз са определени максимално допустими стойности за индикаторни I-PCBs за мускулно месо от риба и рибни продукти 75 ng/g ww (за сума от 6 индикаторни PCBs) (COMMISSION REGULATION (EU) No 1259/2011). В настоящото проучване при всички видове риба резултатите за I-PCBs са много по-ниски от тази стойност.



Фигура 1.11. Сравнение на концентрациите на сума от 6 Индикаторни I-PCBs и сума от 6 диоксиноподобни DL-PCBs, ng/g ww по видове черноморски риби

Направено е сравнение на средните концентрации на сума от всички 14 PCBs в различните видове черноморски риби – фигура 1.12. Най-високи нива на PCBs са установени в чернокоп 18,97 ng/g ww.



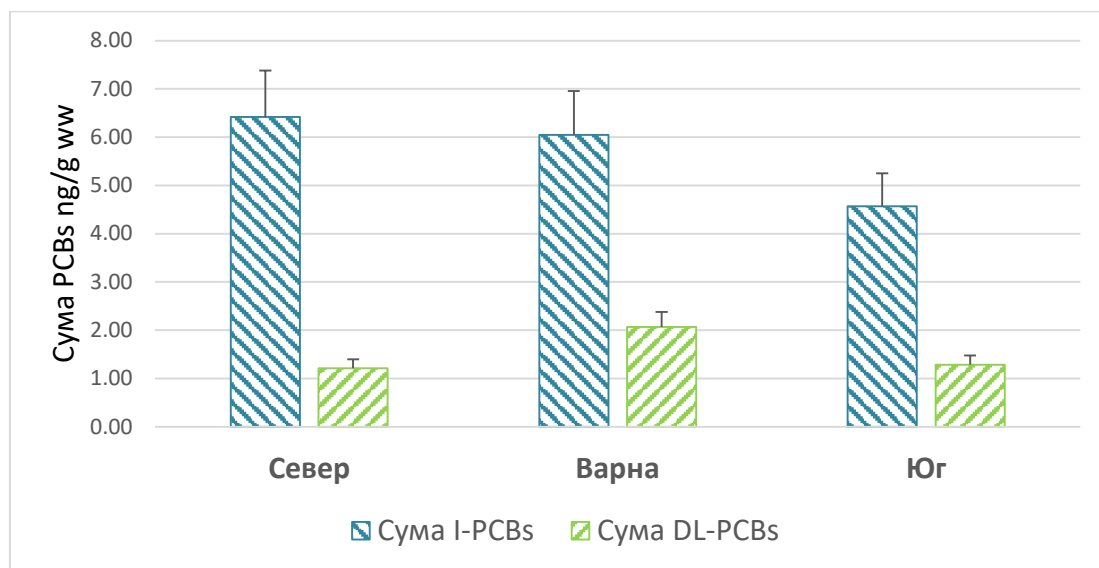
Фигура 1.12. Сравнение на концентрациите на сума 14PCBs, ng/g ww по видове черноморски риби

Статистическата обработка на данните показва, че съществува статистически значима разлика в нивата на PCBs между различните изследвани видове риби. Резултатите показват, че с най-високо съдържание на PCBs като сума от 14 анализирани конгенера са пробите карагьоз и чернокоп, които показват статистически значима разлика ($p < 0,05$). Тези данни

показват, че видовете риба с високото липидно съдържание и с хищния начин на хранене са склонни да натрупват в по-голяма степен липофилните полихлорирани бифенили. Карагьозът и чернокопът са видове, които обитават различни райони на Черно море, поради което нивата на замърсителите в тези видове риба не могат да дадат обективна оценка за местно замърсяване, но показват, че в черноморската екосистема все още се откриват PCBs, въпреки забраната за тяхното производство и употреба. За оценка на локално замърсяване са подходящи местните видове риба (кая, кефал и хамсия), при тях нивата на PCBs са значително по-ниски (статистическа значимост $p < 0,05$).

Сравнение на резултатите от настоящото проучване за сума от 6 I-PCBs в проби риби от Черно море (средна стойност 5,75 ng/g ww) показват много по-ниски нива в сравнение с резултати на румънски изследователи, които през 2019 г са установили концентрации на PCBs при риби (*Psetta maetotica*, *Neogobius melanostomus* и *Mullus barbatus ponticus*) от Румънското крайбрежие: средна стойност 201,13 ng/g ww (Project ANEMONE BSB319). Причината вероятно се дължи на влияние на водни потоци, които се вливат в северозападната част на Черно море от река Дунав.

Направено е сравнение на получените данни за PCBs в проби риби в зависимост от района на пробовземане – Север, Варна и Юг. Данните показват сравнително по-високи концентрации на замърсителите в пробите от район Север, но статистически значима разлика не се установи при статистическият анализ на данните – фигура 1.13.



Фигура 1.13. Сравнение на нивата на сума от индикаторни I-PCBs и сума от DL-PCBs, ng/g ww в черноморски риби по райони на вземане на проби

Резултатите за сума от I-PCBs във всички анализирани видове черноморски риби (най-висока стойност 23.26 ng/g ww в чернокоп от Каварна) не надвишават определеното от

----- www.eufunds.bg -----

Европейската комисия максимално ниво от 75 ng/g wet weight, за сума от индикаторни I-PCBs в мускулна тъкан на риба и рибни продукти (Регламент на ЕС No 1259/2011).

Сезоните и параметрите на околната среда, свързани с тях, като температура на водата, соленост и излагане на светлина, не само играят роля в биологичното развитие на рибите, но те могат да повлияят на липидното съдържание на рибите, периодите на хвърляне на хайвера и наличието на замърсители от околната среда. Настоящото изследване на I-PCBs и dl-PCB бяха проведени върху риби, уловени през различни сезони. Анализирани са риби, уловени през пролетта и лятото (от март до август) и през есента и зимата (от септември до февруари). Разликите в средните концентрации на I-PCBs и dl-PCB бяха статистически незначими между двата сезона за повечето от анализираните риби. Сезонните промени в съдържанието на PCBs може да се дължат на съдържанието на мазнини. Сезонни промени в концентрациите на липиди и PCBs са докладвани в предишни проучвания (Simm et al., 2006; Szlinder-Richert et al., 2009). Szlinder-Richert и др. (2009) докладват данни, които също показват статистически значими разлики в съдържанието на липиди и в общите стойности на PCBs в трикона, уловена през есента и пролетта в южната част на Балтийско море, и в херинга, уловена през есента и зимата.

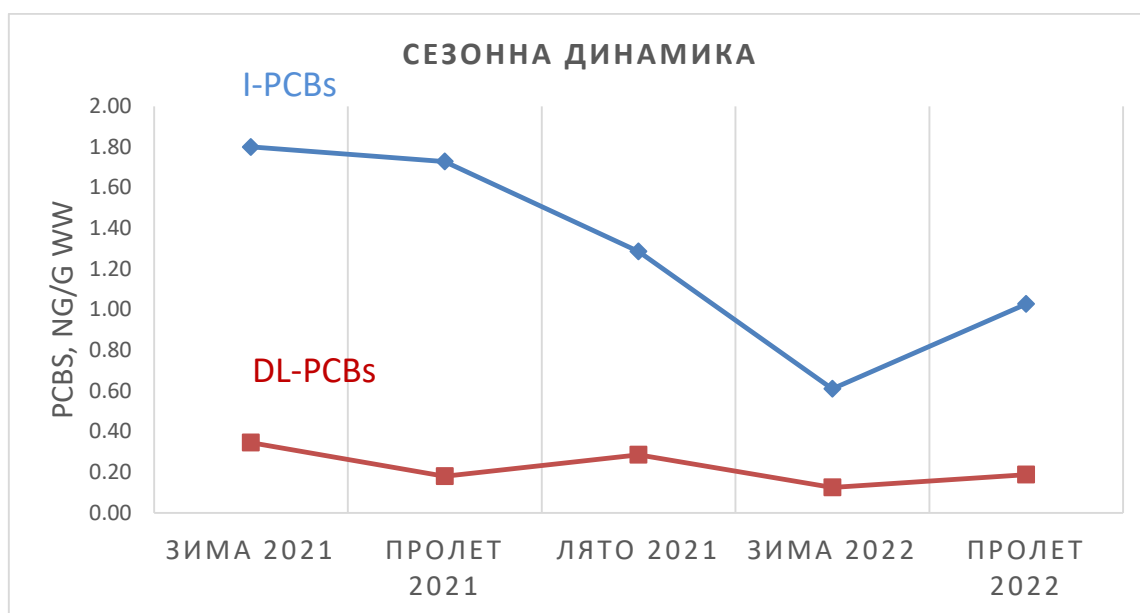
Анализ на резултати за съдържание на PCBs в диви и култивирани миди

Водните безгръбначни, като двучерупчестите, имат способност да натрупват следи от замърсители от водната среда. Мидите от рода *Mytilus* са сред най-често използваните контролни организми за наблюдение на биологичните ефекти на различни замърсители в морската среда поради техния заседнал начин на живот, изразена активност на филтриране, способност да натрупват устойчиви химикали и широко географско разпространение. Сред мекотелите мида *Mytilus galloprovincialis* е най-консумираната в България и тези морски организми са обект на аквакултурно отглеждане по черноморското крайбрежие.

Обобщени резултати за PCBs в диви и култивирани миди са представени на фигури 14 и 15. Концентрациите на шестте индикаторни PCBs (PCB 28, 52, 101, 138, 153, 180) са много по-ниски в сравнение с нивата в черноморски риби.

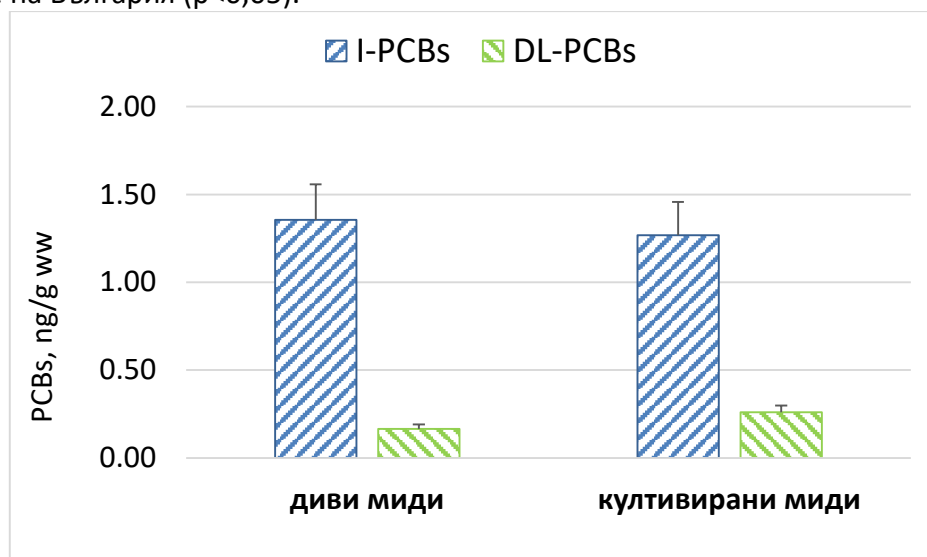
Проследена е сезонната динамика в нивата на индикаторни и диоксиноподобни PCBs в пробите *Mytilus galloprovincialis* в периода зима 2021 – пролет 2022 г.

Настоящото изследване на индикаторни I-PCBs и dl-PCB е проведено върху миди, уловени през пролетта и лятото (от март до август) и през есента и зимата (от септември до февруари). Наблюдава се по-високо съдържание на I-PCBs през зимния период на 2021 г, което вероятно се дължи на по-високото липидно съдържание на индивидите в началото на репродуктивния период – фигура 1.14. Разликите в средните концентрации на I-PCBs и dl-PCB бяха статистически незначими между сезоните зима -пролет.



Фигура 1.14. Сравнение на нивата на сума от индикаторни I-PCBs и сума от dl-PCBs, ng/g ww в черноморски миди по сезони

Сравнени са нивата на сума от индикаторни I-PCBs и сума от dl-PCBs, ng/g ww в диви и култивирани миди като средни стойности от всички анализирани проби – фигура 1.15. Резултатите показват съизмерими стойности и няма статистически значима разлика в съдържанието на тези видове замърсители в диви и култивирани миди от черноморското крайбрежие на България ($p < 0,05$).



Фигура 1.15. Сравнение на нивата на сума от индикаторни I-PCBs и сума от dl-PCBs, ng/g ww в диви и култивирани миди

Нивата на PCBs в миди, открити в настоящото проучване, са в съответствие с резултатите за миди, докладвани от турски учени. Okay et al. докладват концентрации на PCBs в миди от

пролива на Истанбул, Турция през периода януари-февруари 2007 г. и резултатите варират от 1,026 до 35, 983 ng/g ww.

Румънски учени през 2019 г по проект ANEMONE BSB319 са установили концентрации на PCBs в миди (*Mytilus galloprovincialis*) от Румънското крайбрежие: среда стойност 152,09 ng/g ww (Project ANEMONE BSB319). Резултатите от нашето проучване за сума от 6 I-PCBs в проби миди от Черно море (средна стойност 1,29 ng/g ww) показват много по-ниски нива в сравнение с резултатите за миди от крайбрежието на Румъния.

Изготвил: доц. Ст. Георгиева

Консултант: проф. М. Станчева

Литературни източници:

- Bayarri S, Baldassarri LT, Iacovella N, Ferrara F, di Domenico A. (2001) PCDDs, PCDFs, PCBs and DDE in edible marine species from the Adriatic Sea. *Chemosphere*;43:601–10.
- Baeyens, W., Leermakers, M., Elskens, M., Van Larebeke, N., De Bont, R., Vanderperren, H., Fontaine, A., Degroodt, J.M., Goeyens, L., Hanot, V., Windal, I. (2007). PCBs and PCDD/FS in fish and fish products and their impact on the human body burden in Belgium. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 52, 563–571.
- Boscher A, Gobert S., Guignard C., Ziebel J., L'Hoste L., Gutleb A. C, H.-M. Cauchie, Hoffmann L., Schmidt G.. (2010) Chemical contaminants in fish species from rivers in the North of Luxembourg: Potential impact on the Eurasian otter (*Lutra lutra*). *Chemosphere* 78 785–792
- Cappello T, Maisano M, D'Agata A, Natalotto A, Mauceri A Fasulo S (2013) Effects of environmental pollution in caged mussels (*Mytilus galloprovincialis*). *Mar. Environ. Res.* 91: 52–60. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2012.12.010>
- Carere M, Dulio V, Hanke G, Polesello S (2012) Guidance for sediment and biota monitoring under the Common Implementation Strategy for the Water Framework Directive. *Trends in Analytical Chemistry*. Vol. 36: 15–24. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.03.005>
- Coelhan M, Stroheimer J, Barlas H. (2006) Organochlorine levels in edible fish from the Marmara Sea, Turkey. *Environ Int* 32:775–780.
- European Commission. Commission Regulation (EU) No 1259/2011 of 2 December 2011 amending regulation (EC) no. 1881/2006 as regards maximum levels for dioxins, dioxin-like PCBs and non dioxin-like PCBs in foodstuffs. *Official Journal of the European Union* 2011; L 320:18–23.
- Fonnum, F.; Mariussen, E.; Reistad, T. Molecular mechanisms involved in the toxic effects of polychlorinated biphenyls (PCBs) and brominated flame retardants (BFRs). *J. Toxicol. Environ. Health Part A* 2006, 69, 21–35.
- Georgieva, Stanislava, Stancheva, Mona and Makedonski, L. "Organochlorine pesticides and PCBs in marine fish" *Ovidius University Annals of Chemistry*, vol.23, no.1, 2013, pp.92-98. <https://doi.org/10.2478/v10310-012-0015-4>
- Georgieva S, Stancheva M, Makedonski L (2016) Investigation about the presence of organochlorine pollutants in mussels from the Black Sea Bulgaria. *Ovidius University Annals of Chemistry* 27: 8–12. <https://doi.org/10.1515/auoc-2016-0006>
- IARC (International Agency for Research on Cancer) (2010) Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. some non-heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons and some related exposures. Lyon. Retrieved from <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol92/mono92.pdf>. Accessed 02 Jan 2018
- Isosaari, P., Hallikainen, A., Kiviranta, H., Vuorinen, P. J., Parmanne, R., Koistinen, J., et al. (2006). Polychlorinated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans, biphenyls, naphthalenes and polybrominated diphenyl ethers in the edible fish caught from the Baltic Sea and lakes in Finland. *Environmental Pollution*, 141, 213–225.
- Lehtonen K, d'Errico G, Korpinen S, Regoli F, Ahkola H, Kinnunen T & Lastumäki A (2019) Mussel Caging and the Weight of Evidence Approach in the Assessment of Chemical Contamination in Coastal Waters of Finland (Baltic Sea). *Frontiers in Marine Science*. 6. <https://doi.org/10.3389/fmars.2019.00688>
- Masmoudi W., M. S. Romdhane, S. Kherriji, M. El Cafsi, Polychlorinated biphenyl residues in the golden grey mullet (*Liza aurata*) from Tunis Bay, Mediterranean sea (Tunisia), *Food Chemistry* 105 (2007) 72–76
- Naso B, Perrone D, Ferrante MC, Bilancione M, Lucidano A. Persistent organic pollutants in edible marine species from the Gulf of Naples, southern Italy. *Sci Total Environ* 2005;343:83–95.
- Okay, O.S., B. Karacık, S. Basak, B. Henkelmann, S. Bernhöft, K.W. Schramm, *Chemosphere* 76, 159 (2009).
- Perugini M, Cavaliere M, Giammarino A, Mazzone P, Olivieri V, Amorena M. Levels of polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in some edible marine organisms from the Central Adriatic Sea. *Chemosphere* 2004; 57:391–400.

----- www.eufunds.bg -----

- Project ANEMONE BSB319 “Assessing the vulnerability of the Black Sea marine ecosystem to human pressures” coordinated by the National Institute for Marine Research and Development “Grigore Antipa”, Romania
- Simm, M., Roots, O., Kotta, J., Lankov, A., Henkelmann, B., Shen, H., Schramm, K.-W., 2006. PCDD/Fs in sprat (*Sprattus sprattus* balticus) from the Gulf of Finland, the Baltic Sea. *Chemosphere* 65 (9), 1570–1575. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.03.058>.
- Szinder-Richert, J., Barska, I., Usydus, Z., Ruczyńska, W., Grabic, R., et al., 2009. Investigation of PCDD/Fs and dl-PCBs in fish from the southern Baltic Sea during the 2002–2006 period. *Chemosphere* 74 (11), 1509–1515. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.11.038>
- Stancheva M.D., S.K. Georgieva, and L.E. Makedonski, Organochlorine pollutants in fish from the Bulgarian region of the Black Sea, *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods* 2013 5:3, 243–251
- Stefanelli, P., Di Muccio, A., Ferrara, F., Attard Barbini, D., Generali, T., Pelosi, P., et al. (2004). Estimation of intake of organochlorine pesticides and chlorobiphenyls through edible fishes from the Italian Adriatic Sea during 1997. *Food Control*, 15, 27–38.
- Storelli Maria M., G. Barone, N. Santamaria, G. O. Marcotrigiano. (2006 b) Residue levels of DDTs and toxic evaluation of polychlorinated biphenyls (PCBs) in *Scyliorhinus canicula* liver from the Mediterranean Sea (Italy). *Marine Pollution Bulletin* 52 696–718
- Suárez P, Ruiz Y, Alonso A, San Juan F (2013) Organochlorine compounds in mussels cultured in the Ria of Vigo: Accumulation and origin. *Chemosphere* 90: 7–19. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.02.030>
- Tanabe S and Subramanian A (2006) *Bioindicators Suitable for Monitoring POPs in Developing Countries*. Kyoto. Japan: Kyoto University Press 1–190.

Анализ на резултати за съдържание на полициклични ароматни въглеводороди (ПАНs) в проби биота

Сериозен екологичен проблем в морските системи се превръща замърсяването с полициклични ароматни въглеводороди (ПАНs). ПАНs са група от органични съединения, които се състоят от два, три или повече кондензирани ароматни пръстена. Те са много устойчиви и широко разпространени в морската среда. Международната агенция за изследване на рака (IARC) класифицира шестнадесет ПАНs като вероятни или възможни човешки канцерогени и те могат да причинят мутагенни ефекти при хора и животински видове (IARC 2010, Ferrante et al. 2018).

Основните емисии на ПАНs в атмосферата произтичат основно от горивни процеси (Li et al. 2006), изпускане на петролни продукти (Kucuksezgin et al. 2020) и движение на превозни средства (Napier et al. 2008). Оценката на замърсяването на околната среда в морските екосистеми и въздействието водните организми изисква подходящи биоиндикатори, които имат способност да натрупват замърсители директно от морската среда (Ruiz et al. 2011, Carere et al. 2012). Двучерупчести видове, като миди и стриди се препоръчват от много автори като най-подходящите биоиндикатори за определяне на биоаккумуляцията на следи от замърсители от морската среда (Tanabe and Subramanian 2006, Ruiz et al. 2011, Georgieva et al. 2016, Lehtonen et al. 2019). Те предоставят надеждни данни за бионаличността и натрупването на замърсители в околната среда (като ПАНs, PCB, пестициди и тежки метали) и техните токсични ефекти. Предимствата на използването на двучерупчести като биоиндикатори са тяхното широко географско разпространение, филтриране и бързо натрупване на токсични вещества в техните тъкани (Bayarri et al. 2001, Suárez et al. 2013, Tlili and Mouneyrac 2019). Освен това, мониторингът на морската среда за органични замърсители, особено ПАНs, чрез използване на мекотели е за предпочитане, тъй като рибите са в състояние по-лесно да метаболизират и разграждат тези вещества (Fasulo et al. 2012, Cappello et al. 2013). Въпреки това, натрупването на органични замърсители зависи не само от физико-химичните

характеристики на замърсителите, но и от физиологията на двучерупчестите и съдържанието на липиди в тях (Barhoumi et al. 2016, Lehtonen et al. 2019). Ruiz и др. (2011) показват, че липидното съдържание и репродуктивният стадий на двучерупчестите са пряко свързани с моделите на натрупване на PAHs.

Черната морска мида (*Mytilus galloprovincialis*) е двучерупчест вид, който се храни чрез филтриране на фитопланктон и суспендирани прахови частици в морската вода. В крайбрежната зона на българското Черноморие *Mytilus galloprovincialis* миди са изложени на приливния ритъм, интензивно вълново действие и широки колебания в абиотичните фактори (Gaspar et al. 2002, Gumus et al. 2020). Тези организми могат да натрупват липофилни замърсители като PAHs и да ги концентрират до нива доста над тези в морската вода (Baumard et al. 1999, Ruiz et al. 2011).

Анализирани са 12 проби миди (*Mytilus galloprovincialis*) – диви и култивирани, които са взети от различни райони.

Пробонабирането е извършено по следния начин:

- пробите **култивирани** миди (~ 2 kg) се вземат директно от въжетата, на които се отглеждат, прибират се в плик и се съхраняват в хладилна кутия.

- пробите **миди от диви местонахождения** (~ 2 kg) - чрез гагам или нож дивите мидите се изстъргват от субстрата, на който са израснали, прибират се в плик и се съхраняват в хладилна кутия.

Анализът на PAHs е извършен чрез газов хроматограф с масдетектор (GC-MS), след предварителна екстракция на липидите от сурова мидена тъкан чрез система за ускорена екстракция с органични разтворители (DIONEX ASE 350) и колонно пречистване на липидния екстракт. Процедурите са описани в приложения Д1-7 и Д1-8 към междинните отчети по проекта. Резултати за концентрации на индивидуални полициклични ароматни въглеводороди (PAHs), в проби миди са представени в приложенията към междинните отчети.

Четири от полицикличните въглеводороди са определени като индикаторни от EFSA (означени като 4 PAHs - benzo[a]pyrene, benz[a]anthracene, benzo[b]fluoranthene and chrysene). В анализираните проби черни миди хризенът се открива в най-високи концентрации. Benzo(b)fluoranthene беше открит в 75% от пробите, докато benzo[a]pyrene, известен като най-токсичният PAH, беше открит само в 33% от анализираните миди. Средната стойност за бензо[а]пирен 0.31 ng/g ww, е под пределно допустимата стойност, определена в ЕС - 5 µg/kg wet weight (ng/g) в двучерупчести мекотели (Регламент на ЕС 835/2011).

Съгласно Морската стратегия на България, Дескриптор 9 - Замърсители в риби и други морски храни и Критерий D9C1 нивата на замърсители в ядивните тъкани (мускулна тъкан) на морските хранителни продукти (в това число риби, ракообразни, мекотели), уловени или събрани в дивата природа не трябва да надвишава:

а) максималните нива на замърсителите, определени в Регламент (ЕО) № 1881/2006 (праговите стойности) и измененията му по отношение на някои вещества

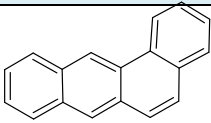
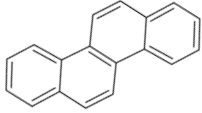
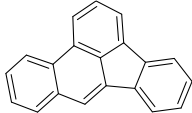
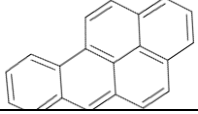
б) за допълнителни замърсители, които не са включени в Регламент (ЕО) № 1881/2006, праговите стойности, приети на регионално или под регионално равнище

----- www.eufunds.bg -----

За двучерупчести мекотели е определено гранично ниво от 30 µg/kg (=ng/g ww) за сумата от 4 PAHs: benzo[a]pyrene, chrysene, benzo[a]anthracene, and benzo[b]fluoranthene (Sum PAH4) (Регламент на ЕС 835/2011). Резултатите от анализите показват средна стойност на Sum PAH4 в миди от черноморското крайбрежие на България 0,35 ng/g ww.

Международната агенция за изследване на рака (IARC) класифицира четирите приоритетни PAHs като вероятни карциногени за хората – Таблица 1.7.

Таблица 1.7. IARC Класификация на 4 PAH, регулирани от европейското законодателство

PAHs	IARC класификация*	Структурна формула
Benz[a]anthracene	group 2B	
Chrysene	group 2B	
Benzo[b]fluoranthene	group 2B	
Benzo[a]pyrene	group 1	

*IARC – Международна агенция за изследване на рака

group 1 – карциногенни за хората

group 2B – вероятни карциногени за хората

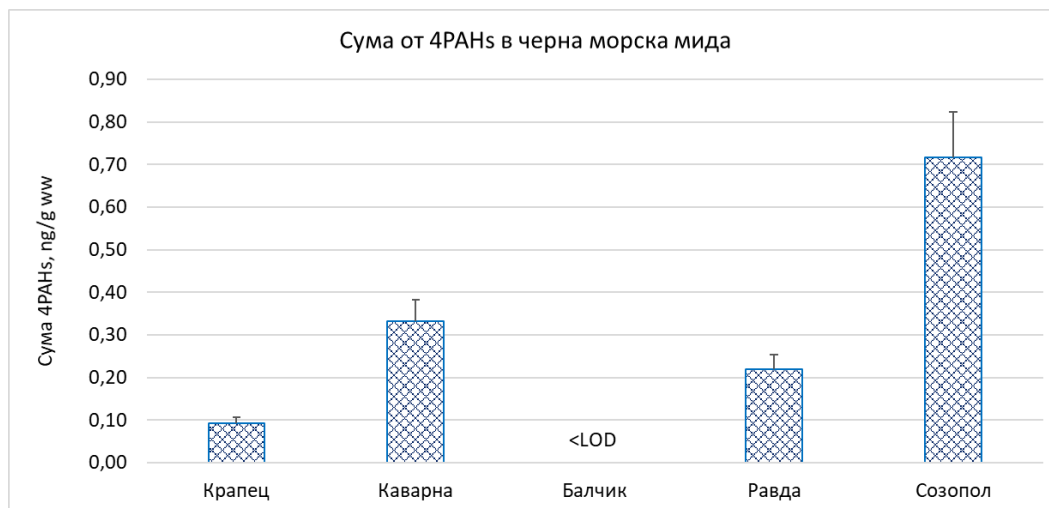
В морската среда PAHs постъпват от различни източници: нискомолекулните PAHs се определят като петрогени съединения (в резултат на разлив на дизелово гориво и мазут), а PAHs с високо молекулно тегло (HMW) имат пиролитичен произход (като продукти на непълно изгаряне на органични вещества) (Srogi, 2007; Mercogliano et al., 2016).

Съставът на PAHs в изследваните проби миди е както следва: PAHs с ниско молекулно тегло (LMW) с 3 пръстена (PHE и FL) представляват 96%, докато съединенията с високо молекулно тегло (HMW PAHs) с 4 и 5 пръстена са едва 4% като PAHs с 6 пръстена са под LOD. Подобни тенденции са открити при двучерупчести (*Mytilus galloprovincialis*) от Адриатическо море (Perugini et al., 2007) и подобни резултати са докладвани от Binelli и Provini (2003) при миди от пазарите в Италия и Европа.

Молекулното съотношение на LMW и HMW въглеводороди често се използва за изследване на антропогенните източници на PAH (Lin et al., 2005). В нашето проучване съотношението LMW/HMW PAHs е по-високо от единица (средно 28), което предполага, че замърсяването с PAH има предимно петроген произход (разлив на петролни продукти).

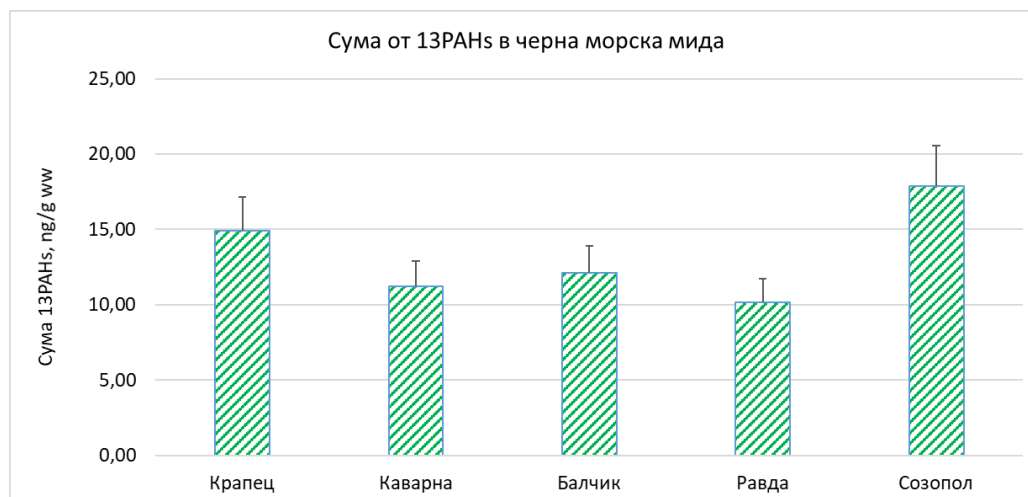
Високото присъствие на PAH с ниско молекулно тегло в мидите от Адриатическо море показва по-скоро замърсяването с нефт като основен източник на замърсяване (Perugini et al., 2007).

Направено е сравнение на получените данни за PAHs в проби миди в зависимост от района на пробовземане. Данните показват сравнително по-високи концентрации на замърсителите в пробите от район Юг (Созопол) – фиг. 1.16.



Фигура 1.16. Сравнение на концентрациите на **сума 4PAHs**, ng/g ww в проби миди по район на пробовземане

Сумарната концентрация на 13PAHs в проби миди от различните места за вземане на проби показват по-високо съдържание на пробите миди от Созопол – фиг. 1.17. Този резултат е в съответствие с предишно наше проучване за съдържание на PAHs в проби клиновидни миди (*Donax trunculus* L.) (Georgieva et al., 2022), в което установяваме по-високи концентрации на пробите миди от района на Созопол.



Фигура 1.17. Сравнение на средни стойности на сумата от 13PAHs в проби миди от различни места по черноморското крайбрежие на България

Фенантрен е преобладаващият замърсител от групата на 13PAHs като съдържанието му в миди варира от 6,89 до 19,79 ng/g ww в проби миди от Созопол. Фенантрен е от групата на нискомолекулни PAHs и е определен като приоритетен замърсител от Американската агенция за защита на околната среда (U.S. Environmental Protection Agency – US EPA), поради неговата липофилност и широко разпространение в околната среда, но в Европейското законодателство не е определена норма.

Твърде вероятно е относително високите нива на общи PAHs, които се откриват в района на Созопол да са вследствие от инцидентен разлив на корабно гориво. Подобни резултати са получени в предишно наше проучване на клиновидни миди *D. trunculus* от района на Дюни и Аркутино (Georgieva et al., 2022). Докладван е нефтения разлив през 2018 г. от потъналия кораб SS Morang близо до брега на Созопол (Panteleeva et al., 2021). Това предположение се потвърждава и от високото съотношение LMW/HMW PAH в проби от *D. trunculus* от тези места, което предполага петрогенен източник на замърсяване (Georgieva et al., 2022). Напълно възможно е нефтеният разлив от потъналия кораб все още да продължава да оказва влияние върху морската биота в района на аварията.

Сравнение на резултатите за 13 PAHs с данни от други изследвания на черноморски миди показва, че нивата в мидите от българското крайбрежие – средна стойност 13,49 ng/g ww са по-ниски в сравнение с резултати докладвани от учени от Румъния (сума от 9PAHs 18,59 ng/g ww) (Project ANEMONE BSB319).

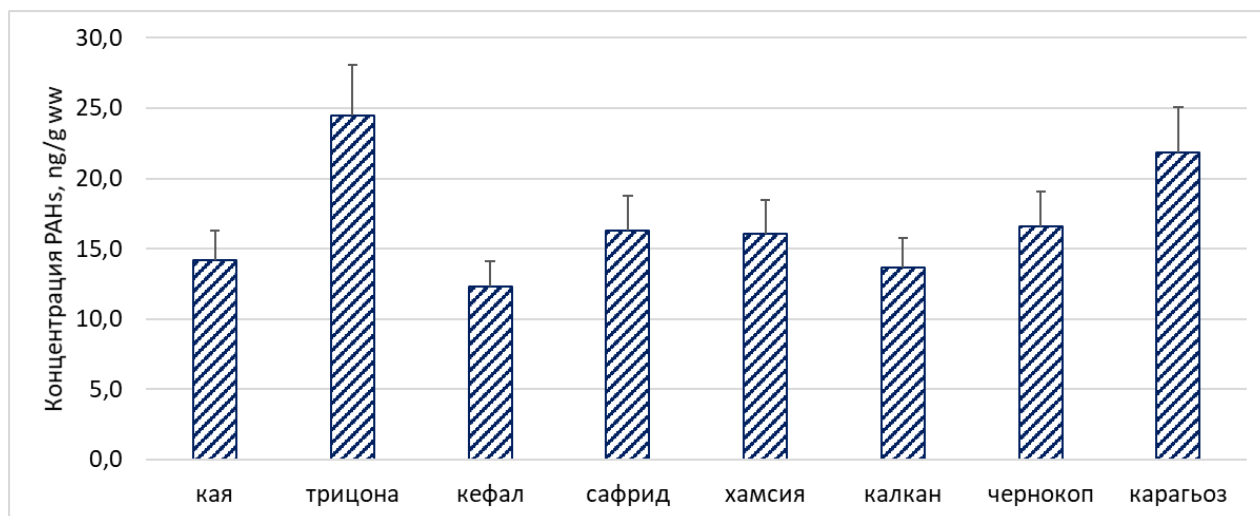
Анализ на резултати за съдържание на PAHs в риби от Черно море

Научни изследвания показват, че нивата на органични замърсители (включително PAHs) в мускулна тъкан на различни видове риби, варират в зависимост от съдържанието на липиди, местообитанието, начинът на хранене, както и позицията им в трофичната верига.

Направено е сравнение на средните концентрации на сума от 13 PAHs в различните видове черноморски риби – фигура 1.18.

От всички анализирани проби само в 4 проби е установено съдържание на приоритетните високомолекулни PAHs (4PAHs), които са нормирани в законодателството на ЕС. Бензо(а)пирен, най-токсичното съединение от тази група замърсители, не се открива в изследваните видове риби. Тези резултатите са логични, защото е установено че рибите имат способност да метаболизират и по-лесно да разграждат PAH, за разлика от мидите, които ги натрупват в тъканите си и по-трудно ги метаболизират (Fasulo et al. 2012; Carpello et al. 2013). Затова мидите са по-подходящ индикаторен организъм за мониторинг на PAH в морската среда.

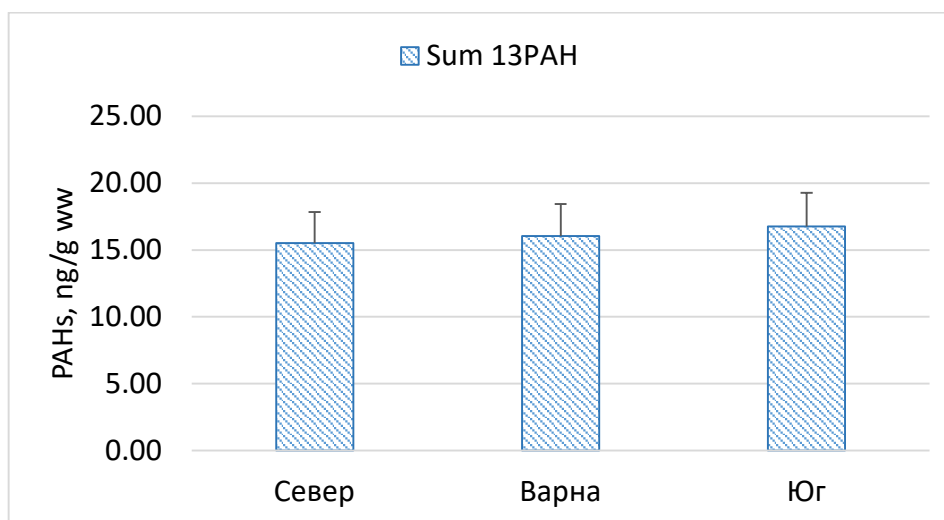
Средната общата концентрация на 13PAHs в рибите от българското крайбрежие на Черно море е 16,09 ng/g ww и е съизмерима с резултати от скорошно проучване на румънски учени по проект ANEMONE, които установяват средна стойност за сумата от 9 PAHs - 8,15 ng/g ww (Project ANEMONE BSB319).



Фигура 1.18. Сравнение на концентрациите на **сума 13PAHs**, ng/g ww по видове черноморски риби

Статистическата обработка на данните показва, че съществува статистически значима разлика в нивата на PAHs в трициона, в сравнение с останалите изследвани видове риби ($p < 0,05$).

Направен е статистически анализ и сравнение на нивата на PAHs в риби по райони на пробовземане и данните показват, че няма статистически достоверна разлика в нивата на PAHs в риби от райони Север, Варна и Юг – Фиг. 1.19.



Фигура 1.19. Сравнение на средни стойности на сумата от 13PAHs в проби риби по райони от черноморското крайбрежие на България

ОБОБЩЕНИЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ ОТ ПОДДЕЙНОСТ 2

Данните от проучванията показват, че съществуват междувидови разлики в нивата на замърсяване с полихлорирани бифенили, DDT и метаболити, хексахлоробензен и хексахлоробутадиен при изследваните видове риби.

Установените концентрации за Индикаторни PCBs в черноморските видове риба не надвишават максимално допустимите граници, установени в европейското законодателство за сума от Индикаторни PCBs от 75 ng/g ww.

Токсичните диоксиноподобни PCBs почти не се откриват в изследваните видове риби от Черно море, което е обяснимо с факта, че в България не е имало производство на PCBs.

Средните нива на приоритетните полициклични ароматни въглеводороди (4 PAHs) в проби миди *Mytilus galloprovincialis* са много по-ниски от пределната максимална граница от 30 ng/g ww, определена в ЕС.

Сравнението на получените данни с резултати от проучвания на други автори показва, че нивата на замърсяване с приоритетните замърсители: полициклични ароматни въглеводороди (PAHs), полихлорирани бифенили PCBs, хексахлороциклохексан (HCHs), хексахлоробензен, хексахлоробутадиен, DDT и метаболити в изследваните миди от българското черноморско крайбрежие са по-ниски, от нивата за миди от Черно море и съседните - Мраморно и Средиземно море.

Получените резултати за нивата на приоритетни замърсители от антропогенен произход в рибни видове и миди са използвани за оценка на състоянието на морската среда и безопасност на морските организми като храна.

Изготвил: доц. Ст. Георгиева

Литературни източници:

- Barhoumi B, El Megdiche Y, Clérandeau C et al. (2016) Occurrence of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in mussel (*Mytilus galloprovincialis*) and eel (*Anguilla anguilla*) from Bizerte lagoon Tunisia and associated human health risk assessment. Cont Shelf Res 124: 104–116. <https://doi.org/10.1016/j.csr.2016.05.012>
- Bayarri S, Baldassarri LT, Iacovella N, Ferrara F, di Domenico A (2001) PCDDs, PCFDs, PCBs and DDE in edible marine species from the Adriatic Sea. Chemosphere 43: 601–610. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(00\)00412-4](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(00)00412-4)
- Binelli A, Provini A (2003) POPs in edible clams from different Italian and European markets and possible human health risk. Mar. Pollut. Bull. 46: 879–886. [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(03\)00043-2](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(03)00043-2)
- Cappello T, Maisano M, D'Agata A, Natalotto A, Mauceri A Fasulo S (2013) Effects of environmental pollution in caged mussels (*Mytilus galloprovincialis*). Mar. Environ. Res. 91: 52–60. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2012.12.010>
- Carere M, Dulio V, Hanke G, Polesello S (2012) Guidance for sediment and biota monitoring under the Common Implementation Strategy for the Water Framework Directive. Trends in Analytical Chemistry 36: 15-24. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.03.005>
- EC (2011) Commission Regulation (EC) n.835/2011 of 19 August 2011 amending. 2011n. Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels for polycyclic aromatic hydrocarbons in foodstuffs. Off. J. Eur. Union L215: 4–8.
- European Commission. Commission Regulation (EU) No 1259/2011 of 2 December 2011 amending regulation (EC) no. 1881/2006 as regards maximum levels for dioxins, dioxin-like PCBs and non dioxin-like PCBs in foodstuffs. Official Journal of the European Union 2011; L 320:18–23.
- European Commission, Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 Establishing a Framework for Community Action in the Field of Water Policy, Off. J. Eur. Comm., L327, 2000, p.1.
- European Commission, Directive 2008 /105/ EC of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on Environmental Quality Standards in the Field of Water Policy, Off. J. Eur. Union, L348, 2008, p.84.

----- www.eufunds.bg -----

Проект № BG14MFOP001-6.004-0006 е финансиран от Програмата за морско дело и рибарство 2014 - 2020, съфинансирана от Европейския съюз чрез Европейския фонд за морско дело и рибарство.

- European Commission DIRECTIVE 2013/39/EU amending Directives 2000/60/EC and 2008 / 105 / EC as regards priority substances in the field of water policy (2013)
- European Food Safety Authority (EFSA). Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Food-Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain. EFSA J. 2008, 6, 724.
- Fasulo S, Iacono F, Cappello T, Corsaro C, Maisano M, D'Agata A, Giannetto A, De Domenico E, Parrino V, Lo Paro G, Mauceri A. Metabolomic investigation of *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck 1819) caged in aquatic environments. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2012 Oct; 84: 139-146. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2012.07.001>
- Ferrante M, Zanghi G, Cristaldi A, Copat C, Grasso A, Fiore M, Signorelli SS, Zuccarello P, Oliveri Conti G (2018) PAHs in seafood from the Mediterranean Sea: An exposure risk assessment. *Food Chem Toxicol.* 2018 May; 115: 385-390. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.03.024>.
- Gaspar MB, Santos MN, Vasconcelos P & Monteiro C (2002). Shell morphometric relationships of the most common bivalve species (Mollusca: Bivalvia) of the Algarve coast (southern Portugal). *Hydrobiologia*, 477 (1), 73-80. doi: 10.1023/A:1021009031717
- Georgieva S, Stancheva M, Makedonski L (2016) Investigation about the presence of organochlorine pollutants in mussels from the Black Sea Bulgaria. *Ovidius University Annals of Chemistry* 27: 8–12. <https://doi.org/10.1515/auoc-2016-0006>
- Georgieva SK, Stancheva MD, Peteva ZV, Ivanova TI, Alexandrova AV (2022) Assessment of PAHs accumulation in *Donax trunculus* (Linnaeus, 1758) (Bivalvia, Donacidae) from the Bulgarian Black Sea Coast. In: Chankova S, Peneva V, Metcheva R, Beltcheva M, Vassilev K, Radeva G, Danova K (Eds) Current trends of ecology. *BioRisk* 17: 95-104. <https://doi.org/10.3897/biorisk.17.77343>
- Gumus MR, Todorova VR, Panayotova MD (2020) Recent Observations on the Size Structure of *Donax trunculus* Linnaeus. 1758 and *Chamelea gallina* (Linnaeus. 1758) in the Bulgarian Black Sea as Status Indicators of Commercially Exploited Shellfish under the Marine Strategy Framework Directive (MSFD). *Ecologia Balkanica. Special Edition 3*: 63-71. http://web.uniplovdiv.bg/mollov/EB/2020_SE3/063-071_eb.20SE310.pdf
- IARC (International Agency for Research on Cancer) (2010) Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. some non-heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons and some related exposures. Lyon. Retrieved from <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol92/mono92.pdf>. Accessed 02 Jan 2018
- Kucuksezgin F, Gonul LT, Pazi I, Ubay B, Guclusoy H (2020). Monitoring of polycyclic aromatic hydrocarbons in transplanted mussels (*Mytilus galloprovincialis*) and sediments in the coastal region of Nemrut Bay (Eastern Aegean Sea). *Marine Pollution Bulletin.* 157: 111358. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111358>
- Lehtonen K, d'Errico G, Korpinen S, Regoli F, Ahkola H, Kinnunen T, Lastumäki A (2019) Mussel Caging and the Weight of Evidence Approach in the Assessment of Chemical Contamination in Coastal Waters of Finland (Baltic Sea). *Frontiers in Marine Science.* 6. <https://doi.org/10.3389/fmars.2019.00688>
- Li G, Xia X, Yang Z, Wang R & Voulvoulis N (2006) Distribution and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons in the middle and lower reaches of the Yellow River, China. *Environmental pollution.* 144(3): 985-993. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.01.047>
- Lin D, Tu Y, Zhu L (2005). Concentrations and health risk of polycyclic aromatic hydrocarbons in tea. *Food and Chemical Toxicology* 43(1): 41-48. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2004.08.010>
- Mercogliano R, Santonicola S, De Felice A, Anastasio A, Murru N, Ferrante MC, Cortesi ML (2016) Occurrence and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in mussels from the gulf of Naples. Tyrrhenian Sea. Italy. *Mar Pollut Bull.* 104(1-2): 386-390. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.01.015>
- Panteleeva M, Chamova R, Radeva N, Romanova H (2021) Anthropogenic Disasters on Bulgarian Territory: Chemical Accidents on Land and at Sea, *Journal of IMAB–Annual Proceeding Scientific Papers* 27 (2): 3718-3722 <https://doi.org/10.5272/jimab.2021272.3718>
- Perugini M, Visciano P, Giammarino A, Manera M, Di Nardo W, Amorena M (2007) Polycyclic aromatic hydrocarbons in marine organisms from the Adriatic Sea. Italy. *Chemosphere* Jan; 66(10): 1904-10. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.07.079>
- Project ANEMONE BSB319 “Assessing the vulnerability of the Black Sea marine ecosystem to human pressures” coordinated by the National Institute for Marine Research and Development “Grigore Antipa”, Romania
- Ruiz Y, Suarez P, Alonso A, Longo E, Villaverde A, San Juan F (2011) Environmental quality of mussel farms in the Vigo estuary: Pollution by PAHs origin and effects on reproduction. *Environmental Pollution* 159: 250-265. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2010.08.031>
- Srogi K (2007) Monitoring of environmental exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons: a review. *Environ. Chem. Lett.* 5: 169–195. <https://doi.org/10.1007/s10311-007-0095-0>
- Suárez P, Ruiz Y, Alonso A, San Juan F (2013) Organochlorine compounds in mussels cultured in the Ria of Vigo: Accumulation and origin. *Chemosphere* 90: 7–19. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.02.030>
- Tanabe S and Subramanian A (2006) Bioindicators Suitable for Monitoring POPs in Developing Countries. Kyoto. Japan: Kyoto University Press 1-190.
- Tlili S, Mouneyrac C (2019) The wedge clam *Donax trunculus* as sentinel organism for Mediterranean coastal monitoring in a global change context. *Reg. Environ. Change* 19: 995–1007. <https://doi.org/10.1007/s10113-018-1449-9>

Поддейност 3: Определяне на токсични елементи в морски организми

Анализ на резултати за токсични елементи в проби морски организми

Определени са елементите живак, арсен, алуминий, кадмий, хром, манган, никел, олово, цинк, кобалт, селен в черноморски видове риба, както и в миди – култивирани и от естествени популации. При анализа на взетите проби риби и миди за токсични елементи са извършени следните дейности:

- Извършена е пробоподготовка (определяне на биометрични характеристики, смилане, хомогенизиране) и микровълново разграждане на проби риби и миди за анализ на токсични елементи в лабораторията на МУ-Варна от екипа на проекта.
- Анализирани са минерализирани проби риби и миди за токсични елементи живак (Hg), арсен (As), алуминий (Al), кобалт (Co), кадмий (Cd), хром (Cr), манган (Mn), никел (Ni), олово (Pb) и цинк (Zn) **чрез Масспектрометър с индуктивно свързана плазма (ICP – MS)** в Регионална лаборатория – Варна, ИАОС. Методът е с по-висока чувствителност за приоритетни токсични елементи като кадмий, олово, арсен, живак, никел, които са важни за оценка на състоянието на морската среда.

Обобщени резултати за средни концентрации на изследваните химични елементи в проби риби и миди от различни райони на българското крайбрежие на Черно море са представени на фигури 1.20. до 1.30. (mg/kg ww свежо тегло). При анализа на рибните проби е изследвана ядивната (мускулната) им тъкан, като при анализ на по-малките по размер индивиди са използвани целите риби. При анализа на мидите е използвана сурова мидена тъкан, която е подложена на киселинно разграждане чрез микровълнова система CEM MARS 6 Microwave Digestion System.

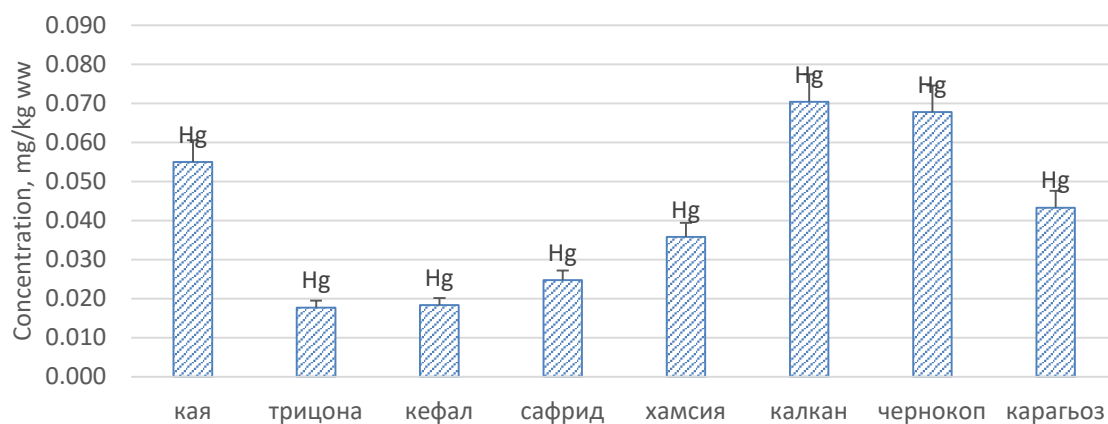
Анализирани са общо 46 проби морски организми – различни видове риби (34 проби), както и диви и култивирани миди (12 проби). Концентрациите на тежки метали и токсични елементи за всяка проба са дадени в приложения към междинен отчет 4.

Анализ на получените данни от мониторинга извършен в периода февруари 2021 – май 2022 г.

Направено е сравнение на резултатите за всеки токсичен елемент по видове риба – Фиг. от 1.20. до 1.30. Съгласно списъкът на опасните приоритетни вещества създаден от Агенцията за токсични вещества и регистър на заболяванията (ATSDR, 2013), токсичните метали и металоиди, са подредени в низходящия ред според тяхната опасност за човешкото здраве $As > Pb > Cd > Ni > Zn > Cr > Cu > Mn$ (Leung et al., 2014).

Живакът е приоритетен замърсител за морската среда и е обект на изследване в морски води и организми.

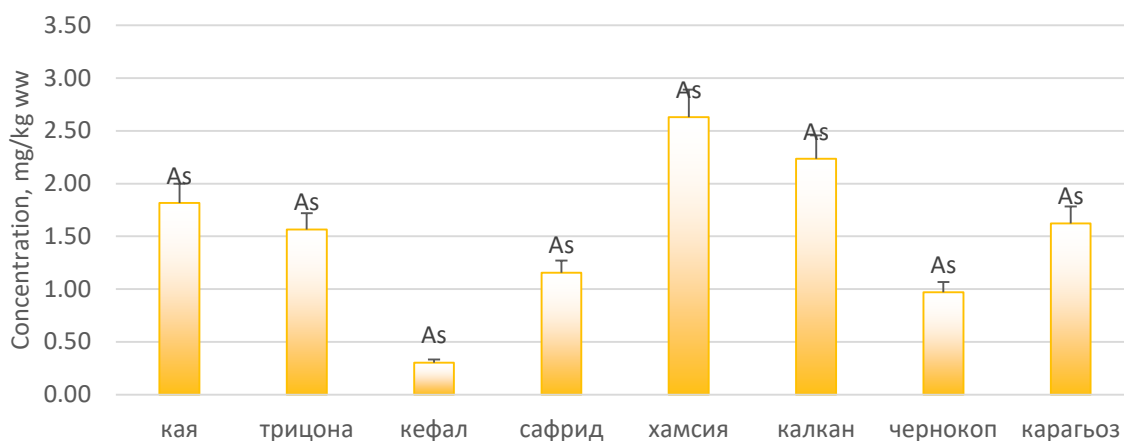
----- www.eufunds.bg -----



Фигура 1.20. Съдържание на живак в проби черноморски риби, mg/kg ww (свежо тегло)

Най-ниско съдържание на живак е установено в проби трициона (0,018 mg/kg ww) и кефал, докато резултатите за калкан (0,070 mg/kg ww) и чернокоп (0,068 mg/kg ww) са най-високи.

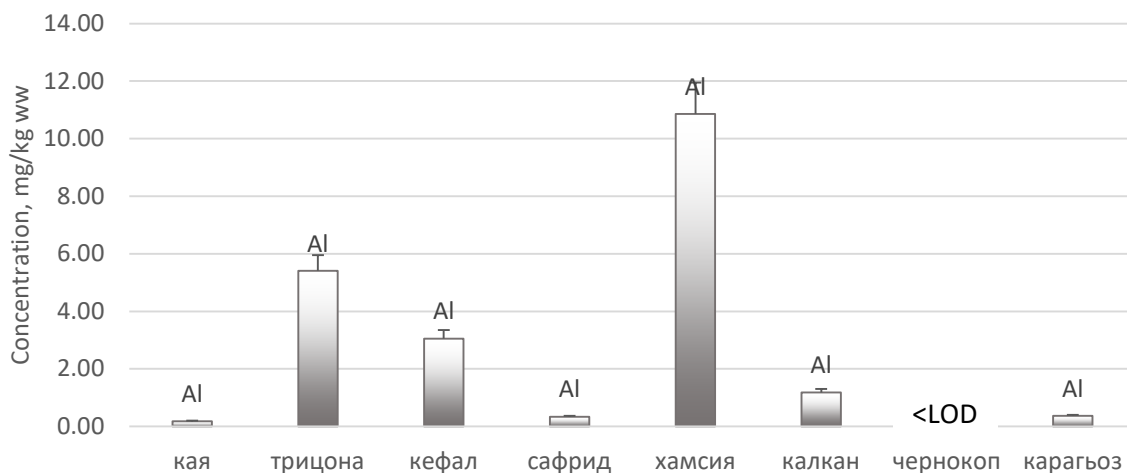
В изследване на калкан от Балтийско море учени (Polak-Juszczak, 2012) установяват, че съдържанието на Hg в плоските риби зависи от вида, тъканта, пола, дължината, храната и региона. Мускулната тъкан на калкана има висок афинитет към Hg и затова калкан е важен и подходящ биоиндикатор за нивата на Hg в морската екосистема. Освен това факторите на биоаккумуляция и биомагнификация показват, че плоските риби натрупват Hg от вода, седименти и храна (Polak-Juszczak, 2012).



Фигура 1.21. Съдържание на арсен в проби черноморски риби, mg/kg ww (свежо тегло)

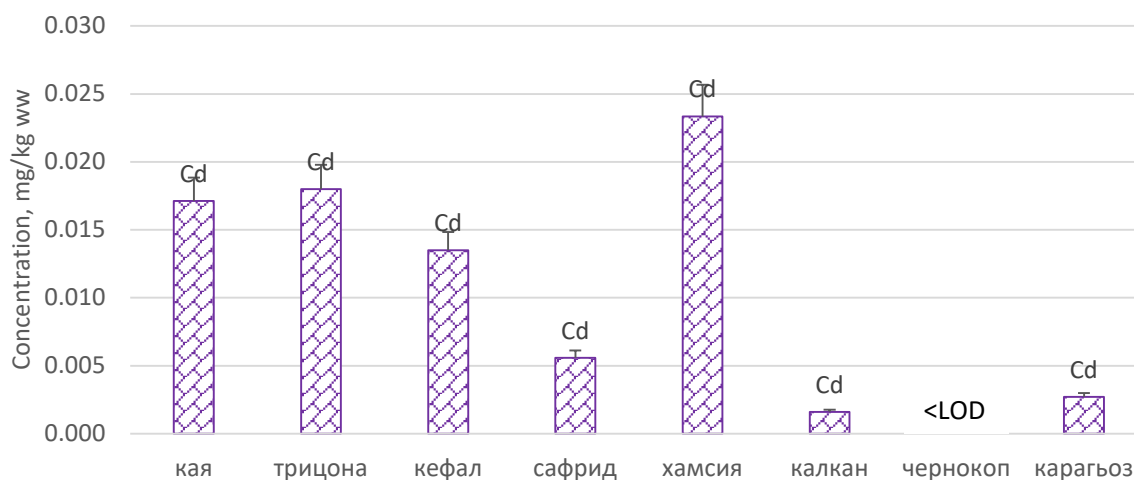
Съдържанието на арсен е най-ниско в пробите кефал (0,300 mg/kg ww), докато резултатите за калкан (2,230 mg/kg ww) и хамсия (2,63 mg/kg ww) са най-високи.

В анализираните видове риби се наблюдава високо съдържание на As, но е известно, че при рибите As се намира главно в органична форма, която не е токсична. Все пак е необходимо нивата на този елемент да се наблюдават при видове като кая и трициона.



Фигура 1.22. Съдържание на алуминий в проби черноморски риби, mg/kg ww (свежо тегло)

Най-високо съдържание на алуминий е регистрирано в проби хамсия (10,86 mg/kg ww), в кая, сафриди и карагьоз нивата са много ниски, докато в чернокоп този химичен елемент не се открива.

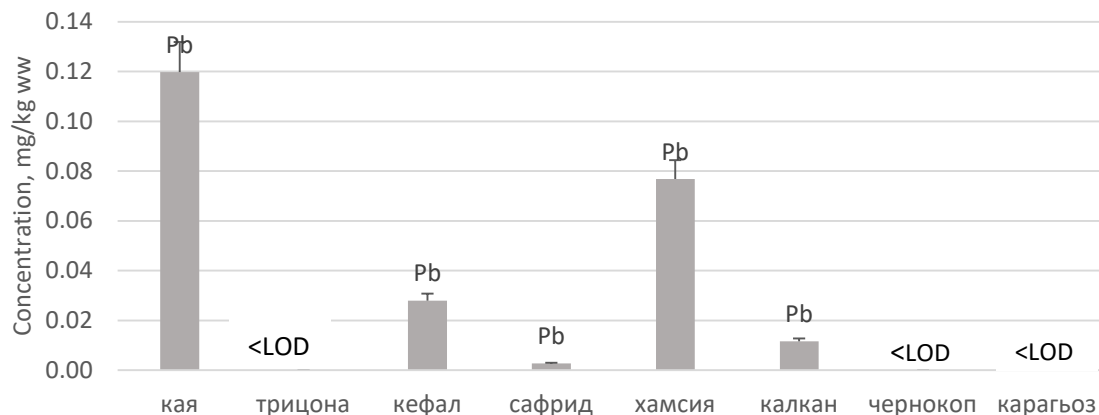


Фигура 1.23. Съдържание на кадмий в проби черноморски риби, mg/kg ww (свежо тегло)

По отношение на замърсяването с Cd само една проба кая е с превишение на допустимото ниво от 0,05 mg/kg ww. В 41% от анализираниите проби риба Cd не се открива.

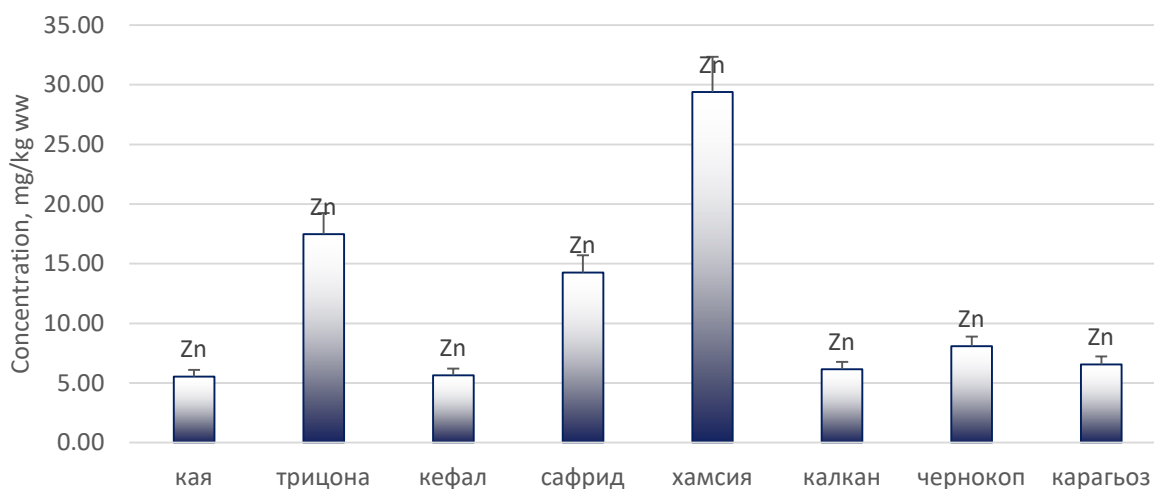
Сравнението на средните стойности показва, че съдържанието на кадмий е най-ниско в проби калкан и карагьоз (0,300 mg/kg ww), докато резултатите за хамсия (0,023 mg/kg ww) са най-високи. Румънски учени докладват за концентрации на кадмий в мускулите на изследвани видове риби от Черно море през 2014 - средни стойности от 0,0008–0,0338 mg/kg (Plavan et al., 2017). Резултатите от настоящото проучване показаха по-ниски стойности: Cd е в диапазона от <LOD до 0,023 mg/kg (най-висока стойност в хамсия).

Оловото (Pb) е токсичен тежък метал, който акумулира в човешкото тяло и може да представлява сериозен риск за общественото здраве. В човешкото тяло този елемент се разпределя главно в кръв, меките тъкани като черен дроб и бъбреци, а също и в кости и зъби (Jovic et al., 2014).



Фигура 1.23. Съдържание на олово в проби черноморски риби, mg/kg ww (свежо тегло)

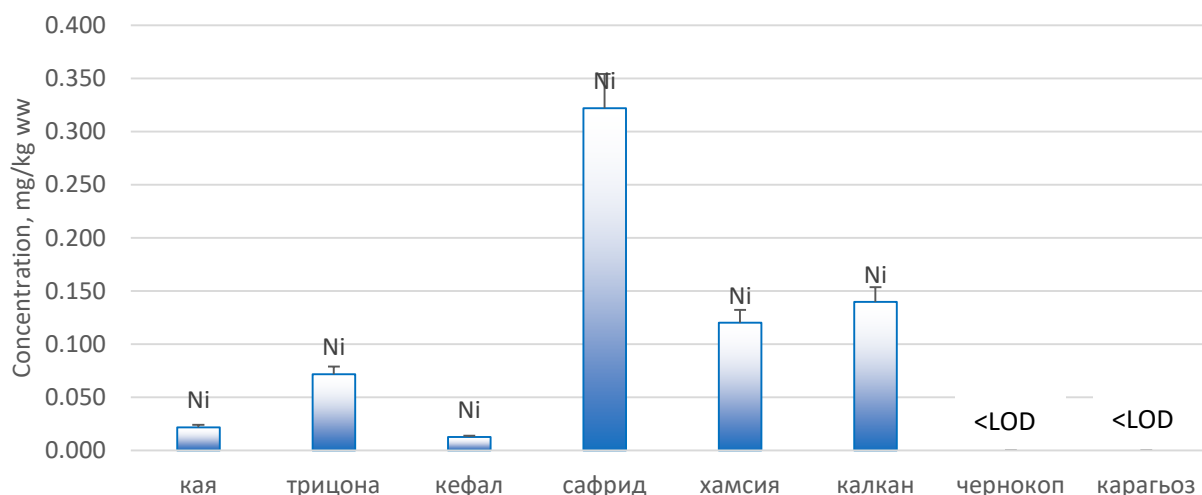
Най-високо съдържание на олово е открито в пробите кая (дънна риба) - 0,120 mg/kg ww), докато резултатите за калкан (0,010 mg/kg ww) и кефал (0,03 mg/kg ww) са най-ниски. В пробите трициона, чернокоп, карагьоз не бяха открити следи от олово.



Фигура 1.24. Съдържание на цинк в проби черноморски риби, mg/kg ww (свежо тегло)

Най-ниски са концентрациите на цинк в проби кая и кефал (5,64 mg/kg ww). Резултатите за съдържание на цинк в хамсия (29,40 mg/kg ww) са най-високи.

Трябва да се отбележи, че съдържанието на Cd, Pb и Zn в пробите хамсия и трициона е на база цяла риба (заедно с вътрешностите) и вероятно на това се дължи по-високото ниво на тези токсични елементи в тези видове. Известно е, че тежките метали като кадмий, олово и цинк се натрупват в черния дроб и вътрешностите на рибите.



Фигура 1.25. – Съдържание на никел в проби черноморски риби, mg/kg ww (свежо тегло)

Никелът е определен като приоритетен замърсител в Директивата за приоритетни вещества в областта на политиката за водите (DIRECTIVE 2013/39/EU). Най-високи концентрации на никел са открити в проби сафрид (0,322 mg/kg ww). Значително по-ниски са резултатите за кая (0,022 mg/kg ww) и кефал (0,015 mg/kg ww), а елементът никел не беше открит в чернокоп и карагьоз.



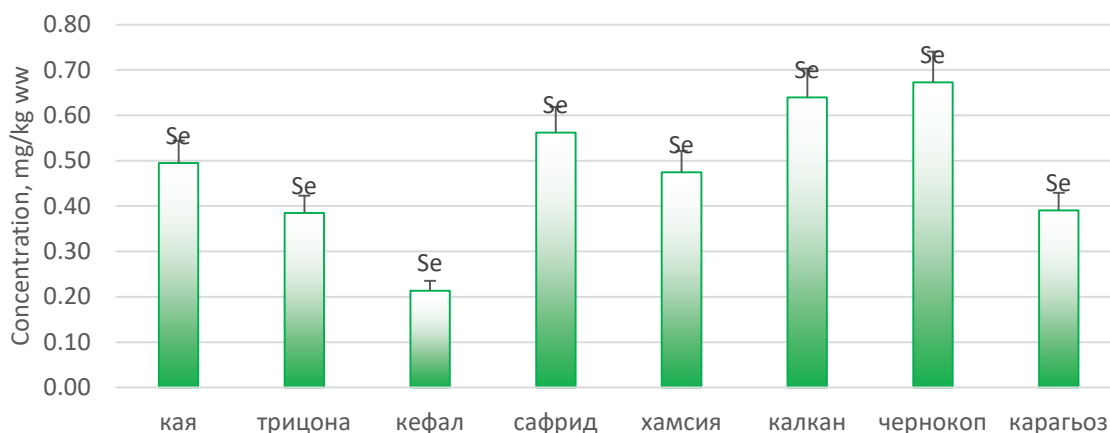
Фигура 1.26. Съдържание на манган в проби черноморски риби, mg/kg ww (свежо тегло)

Манганът е основен микроелемент, който активира или участва в структурата на определени ензими (гликозил-трансферази, пируват карбоксилаза, митохондриална супероксид дисмутаза). Този елемент се счита за един от най-слабо токсичните микроелементи. Съдържанието на манган е най-високо в проби хамсия (4,45 mg/kg ww), докато резултатите за сафрид, калка, чернокоп, карагьоз са най-ниски.

Селенът е важен хранителен микроелемент, който е абсолютно необходими за активността на ензими с важни функции, но този елемент има важна защитна роля срещу токсичния живак, но (Afonso et al., 2008; Kaneko & Ralston, 2007). Живакът се свързва със селен в комплекси като селенопротеин [(HgeSe)n]m и простото, но стабилно съединение - живачен селенид (HgSe), като и двете намаляват токсичността на живака (Yoneda & Suzuki, 2002). Затова

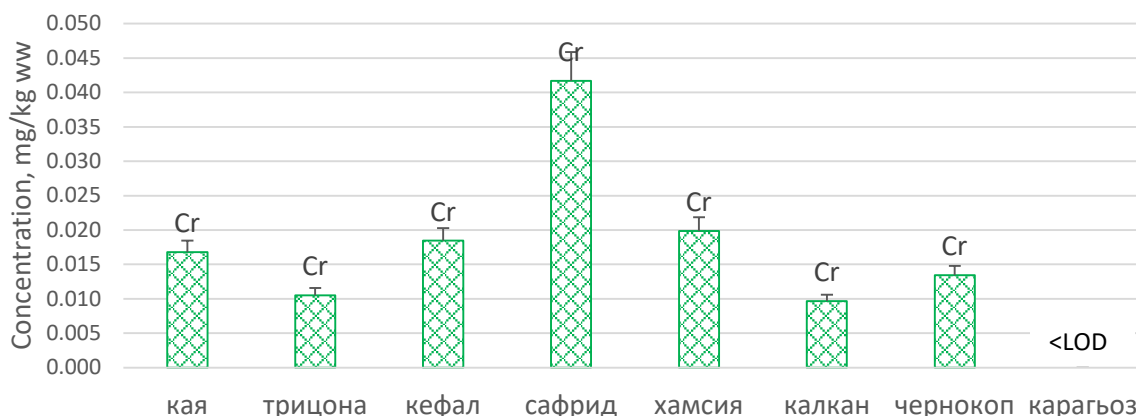
----- www.eufunds.bg -----

е важно при оценката на безопасност на морските организми да бъде оценявано моларното съотношение Se:Hg в мускулната тъкан на рибите.



Фигура 1.27. Съдържание на селен в проби черноморски риби, mg/kg ww (свежо тегло)

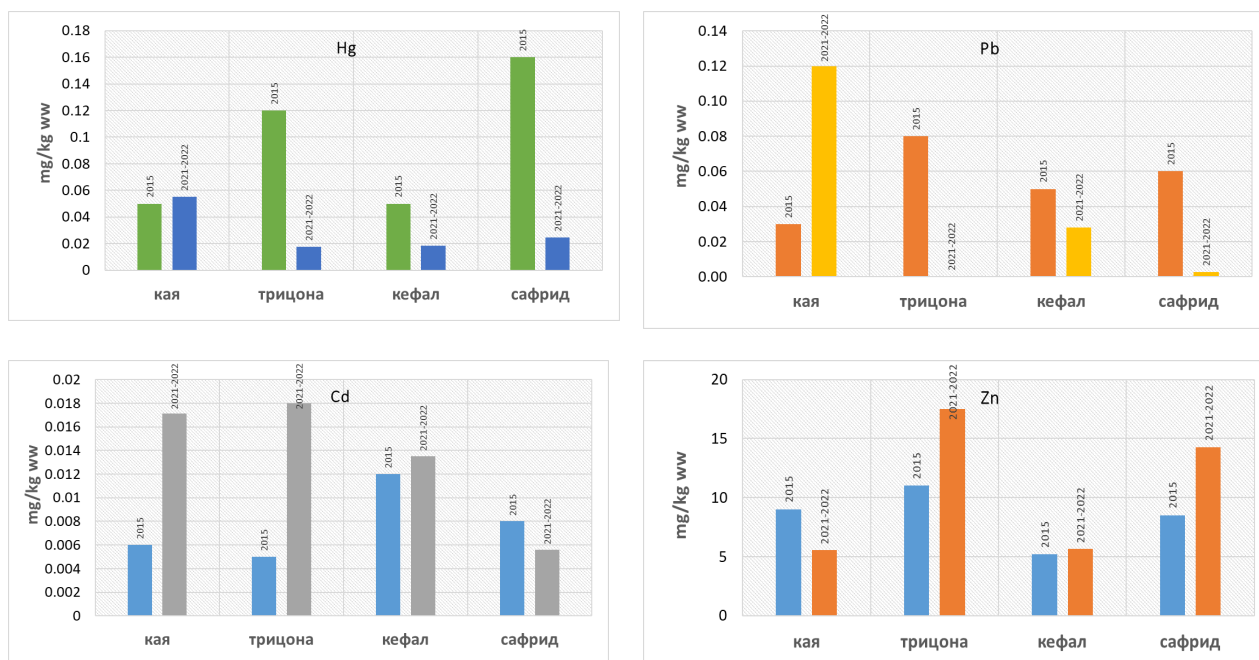
Най-високи концентрации на селен са открити в проби калкан и чернокоп (0,64 и 0,67 mg/kg ww, съответно). Прави впечатление, че при тези два вида риба са установени и най-високите концентрации на токсичния елемент Hg. Затова при оценката на безопасност по Дейност 3 е направен подробен анализ на съотношението Se:Hg в мускулната тъкан на рибите.



Фигура 1.28. Съдържание на хром в проби черноморски риби, mg/kg ww (свежо тегло)

Най-високо съдържание на елемента хром в проби риби е установено при сафрид (0,042 mg/kg ww), докато резултатите за калкан (0,010 mg/kg ww) и трициона (0,011 mg/kg ww) са най-ниски.

Направено е сравнение на резултатите за токсични елементи с нивата в риби от българското крайбрежие на Черно море, изследвани през 2015 г (Makedonski et al., 2017)



Фигура 1.29. Сравнение на съдържанието на живак, олово, кадмий и цинк в проби черноморски риби изследвани през 2015 и 2021-2022 г, mg/kg ww

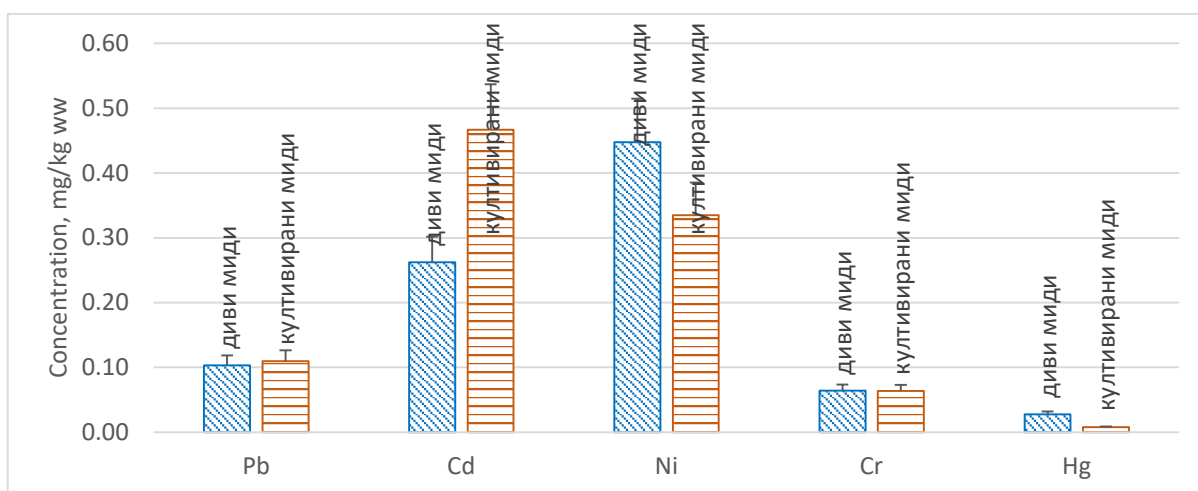
Сравнението на нивата показва, че за приоритетния замърсител Hg се наблюдава намаляване на нивата при всички видове риби. Съдържанието на олово в рибите, уловени през 2021 г са много по-ниски при трициона, кефал и сафрид, докато при кая се наблюдава повишение на концентрациите на олово. За токсичният елемент Cd се наблюдават по-високи нива, но стойностите са под допустимите норми, определени в Регламент (ЕО) № 1881/2006 (ЕС, 2006).

Не се наблюдава еднозначна тенденция във времето за нивата при различните токсичните метали и видове риби, затова е необходимо мониторингът на някои от химичните елементи (Cd и Ni) да продължи.

Резултати за токсични елементи в миди *Mytilus galloprovincialis* от Черно море

Анализирани са общо 12 проби диви и култивирани миди за съдържание на тежки метали и токсични елементи. Пробите са взети от различни райони на българското крайбрежие. Резултати за концентрациите на тежки метали и токсични елементи за всяка проба са представени в приложения към междинен отчет 4.

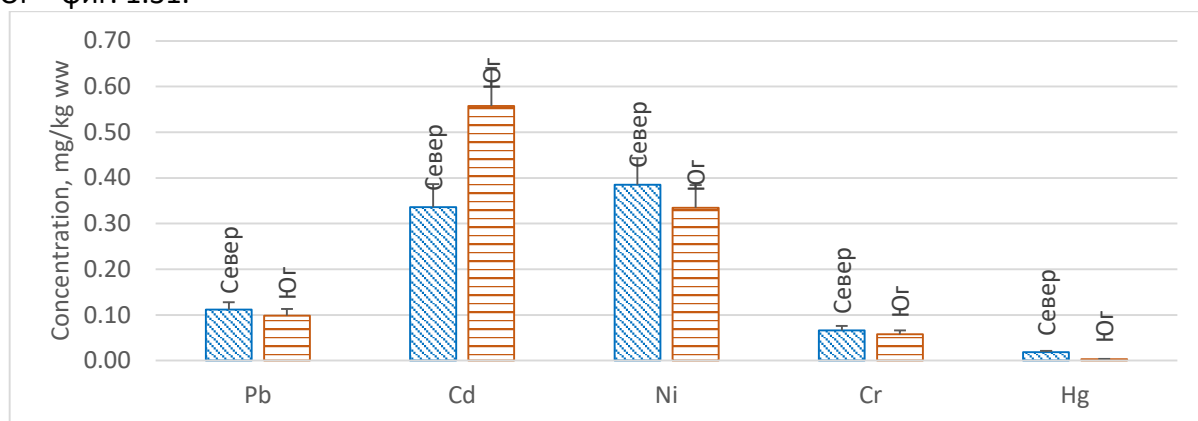
Сравнени са получените резултати за съдържание на токсични елементи в миди от естествени популации от различни райони на Черно море и култивирани миди – фигура 1.30.



Фигура 1.30. Съдържание на токсични елементи в проби миди, mg/kg ww (свежо тегло)

Данните за кадмий показват по-високо съдържание на елемента в проби култивирани миди (0,47 mg/kg ww), докато резултатите за никел в диви миди (0,45 mg/kg ww) са по-високи в анализирани култивирани миди (0,34 mg/kg ww).

Направено е сравнение на данните за токсични елементи в проби миди от райони Север и Юг – фиг. 1.31.



Фигура 1.31. Сравнение на средните стойности за съдържание на токсични елементи в проби миди, mg/kg ww (свежо тегло)

Данните показват по-високо съдържание на кадмий в проби миди от район Юг (0,56 mg/kg ww).

Нивата на различните токсични елементи в морските организми зависят от редица абиотични фактори като антропогенно въздействие, атмосферен пренос с отлагане на суспендирани прахови частици. Влияние върху натрупването на различните елементи (токсични метали и есенциални елементи) оказват и специфични за вида морски организъм процеси на натрупване и елиминиране. Това обяснява междувидовите разлики в нивата на различните токсични елементи в черноморската среда.

Резултатите от мониторинга на тежки метали и токсични елементи са обобщени, обработени статистически и са използвани за оценка на състоянието на морската среда по

----- www.eufunds.bg -----

отношение на тези замърсители както и за оценка на безопасност на морските организми хато храна за хората.

В заключение: Нивата на токсичния елемент кадмий като средни стойности при всички видове риба са под допустимата стойност в ЕС. По отношение на замърсяването с Hg - нивото на този елемент трябва да се следи във видове като кая, калкан и чернокоп — при тези видове средните стойности са по-високи от СКОС, но са под допустимата норма за консумация като храна. Олово се открива само в 10 от общо 34 анализирани проби риба (29%) като концентрациите на Pb са много под допустимото максимално ниво на замърсяване.

Изготвил: доц. Станислава Георгиева

Литературни източници:

- Chałabis-Mazurek, A., Rechulicz, J., & Pyz-Łukasik, R. (2021). A Food-Safety Risk Assessment of Mercury, Lead and Cadmium in Fish Recreationally Caught from Three Lakes in Poland. *Animals : an open access journal from MDPI*, 11(12), 3507. <https://doi.org/10.3390/ani11123507>
- M. Jovic, S. Stankovic, Human exposure to trace metals and possible public health risks via consumption of mussels *Mytilus galloprovincialis* from the Adriatic coastal area, *Food Chem. Toxicol.* 70 (2014) 241–251.
- Leung, H. M., Leung, A. O., Wang, H. S., Ma, K. K., Liang, Y., Ho, K. C., Cheung, K. C., Tohidi, F., & Yung, K. K. (2014). Assessment of heavy metals/metalloid (As, Pb, Cd, Ni, Zn, Cr, Cu, Mn) concentrations in edible fish species tissue in the Pearl River Delta (PRD), China. *Marine pollution bulletin*, 78(1-2), 235–245. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.10.028>
- Makedonski, L., Peycheva, K., & Stancheva, M. (2017). Determination of heavy metals in selected black sea fish species. *Food Control*, 72, 313-318.
- Polak-Juszczak, L. (2012). Bioaccumulation of mercury in the trophic chain of flatfish from the Baltic Sea. *Chemosphere*, 89, 585-591.
- Polak-Juszczak, L. (2015). Selenium and mercury molar ratios in commercial fish from the Baltic Sea: Additional risk assessment criterion for mercury exposure. *Food Control*, 50, 881-888.

Поддейност 4: Пилотно проучване за съдържание на микрочастици под 5 mm в морската среда

Анализ на резултатите за наличието на микрочастици от пластмаса в проби морски води

През последните десетилетия пластмасите станаха незаменими в някои сектори на икономиката, поради някои от техните уникални характеристики- те са универсални, здрави, издръжливи, евтини и леки [1,2]. Това доведе и до нарастване на тяхното производство. Но нарастващото потребление доведе и до генериране на милиони тонове пластмасови отпадъци, които навлизат и във водните екосистеми [3].

Микропластмасите (МП) се дефинират като пластмасови частици, по-малки от пет милиметра (5 mm), те са повсеместно разпространени като замърсяват околната среда, включително и Световния океан. Негативните последици от МП върху екологията, икономиката, човешкото здраве и безопасността на храните са актуални теми както сред учените и обществеността, но така и за управляващите [4]. Микропластмасите се натрупват и имат сериозни отрицателни въздействия върху важни видове екосистеми, и биват поглъщани и морски организми включително планктон, риби, морски костенурки, корали, морски птици и китове[5,6]. След като МП бъдат поглънати, те могат да служат като вектори за пренасяне на токсични замърсители (устойчиви органични замърсители), патогени и инвазивни видове от морската вода [7-9]. Поглъщането на МП и дългосрочната експозиция може да доведе до сублетални или смъртоносни ефекти при много животни [10,11].

Целта на настоящото изследване е да се определи концентрацията на микрочастици в проби морски води от българския бряг на Черно море.

Пробонабирането, пробоподготовката и анализа на пробите са извършени съгласно разработена методика за определяне на микрочастици от пластмаси в морски води. Всички резултатите са коригирани с данните от успоредна празна проба. Размерът на частиците (фрагменти и частици с друга форма) се измерва чрез Ферет_{max} диаметър. За идентифициране на частиците като микропластмаси са приложени критериите на Hidalgo-Ruz et al. (2012) и Kovač Viršek et al. (2016).

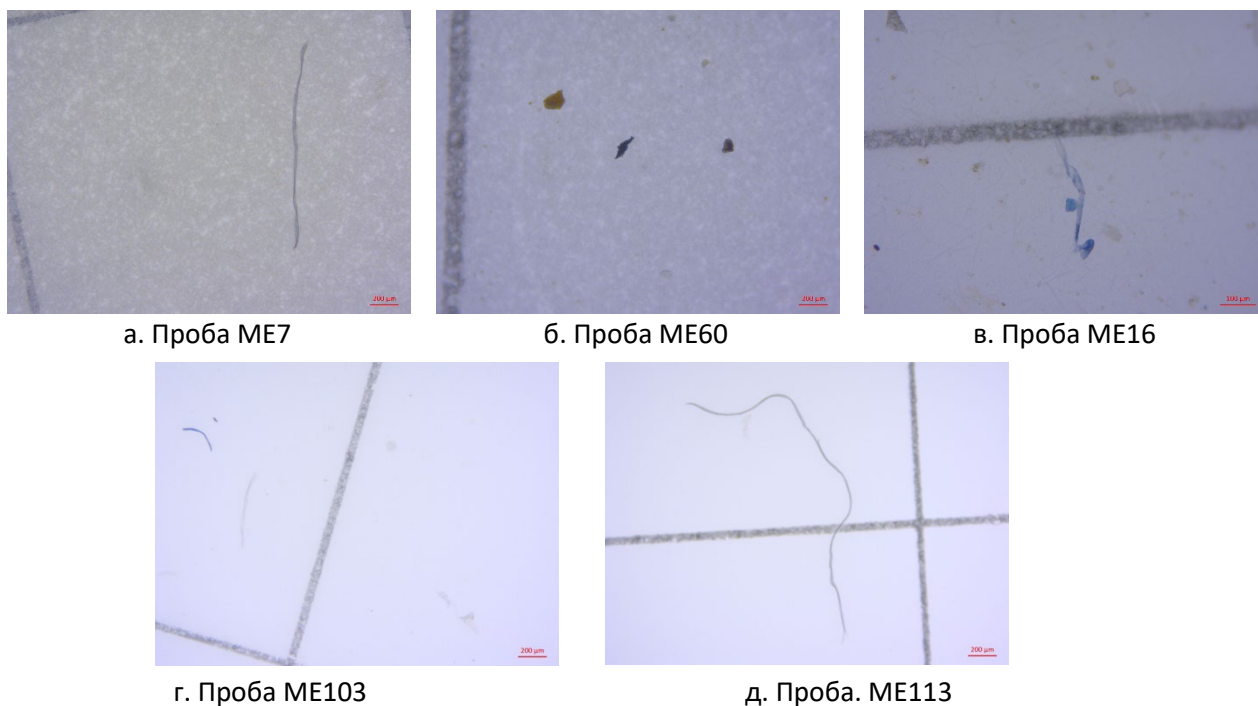
Изследвани са общо **23 проби морски води** (таблица 1.8), които са взети в периода март 2021 -май 2022 от трите района на изследване Север, Варна и Юг. Най-високите установени концентрации са в пробите ME60 (район Север/Паша дере) - $16,3 \pm 1,2$ pt/L, ME90 (Варна) - $14,3 \pm 0,6$ pt/L, ME16 (район Север/ Каварна мидена ферма) - $14,0 \pm 2,0$ pt/L, ME62 (район Север/Златни пясъци) - $12,7 \pm 0,3$ pt/L., ME(103)- (район Север/Крапец) $12,7 \pm 0,6$ pt/L . Изчислената средна концентрация на микрочастици в пробите е $7,3 \pm 4,9$ pt/L. Тази средна концентрация е сравнима с данни от изследване проведено в Средиземно море[12], както и с предишно изследване на Черно море[13,14]. Изчислената средна концентрация е значително по-висока от замърсяването с микрочастици, посочено от Scott et al. (2019) [15] в крайбрежните води на Обединеното Кралство- 1.97 до 3.38 pt/m³.

Разпределение на микрочастици в морска вода по вид

Определените микрочастици в пробите са разделени в три групи според формата им – фибри, фрагменти и частици с друга форма (таблица 1.8., фигура 1.32.а,б,в). Най-високи са нивата на фибрите $12,7 \pm 0,6$ pt/L (ME103), $12,3 \pm 1,5$ pt/L (ME46), $12,0 \pm 1,0$ pt/L (ME102), $11,0 \pm 1,0$ pt/L (ME60), $10,7 \pm 1,5$ pt/L (ME38 и ME90). Единствено в една проба (ME16) е установена висока концентрация на фрагменти - $11,7 \pm 1,5$ pt/L. Фибрите се срещат в 20 от пробите, фрагментите в 15, а другите видове микрочастици в 4 от анализираниите проби води.

Таблица 1.8. Концентрация на микрочастици в проби морски води (общо) и по вид частици (nd – не се открива; SD- стандартно отклонение)

Проба №	Място на вземане на проба	Концентрация на микрочастици - общо		Фибри		Фрагменти		Други	
		[pt/L]	SD	[pt/L]	SD	[pt/L]	SD	[pt/L]	SD
ME7	Калиакра	1,3	0,9	nd	-	0,7	0,9	0,7	0,9
ME10	Варна	2,3	2,3	0,3	0,6	1,3	0,6	0,7	1,2
ME16	Каварна мидена ферма	14,0	2,0	0,3	0,6	11,7	1,5	2,0	1,0
ME22	Бургас	2,3	0,6	nd	-	0,3	0,6	2,0	1,0
ME38	Камчия устие	10,7	1,5	10,7	1,5	nd	-	nd	-
ME49	район Юг Равда	12,3	1,5	12,3	1,5	nd	-	nd	-
ME60	Паша дере	16,3	1,2	11,0	1,0	5,3	0,6	nd	-
ME61	Св. Св. Константин и Елена	4,3	0,6	3,3	0,6	1,0	0,0	nd	-
ME62	Златни пясъци	12,7	0,3	9,0	1,0	3,7	0,6	nd	-
ME65	Поморие	2,3	0,6	2,3	0,6	0,0	-	nd	-
ME67	Несебър	3,3	0,6	2,3	0,6	1,0	-	nd	-
ME77	Нос Калиакра	3,3	0,6	3,3	0,6	0,0	-	nd	-
ME78	Каварна мидена ферма	3,7	0,6	2,7	0,6	1,0	-	nd	-
ME79	Емона	4,3	0,6	3,3	0,6	1,0	-	nd	-
ME84	Камчия устие	6,3	0,6	4,7	0,6	1,7	0,6	nd	-
ME87	Варна залив местност Карантината	4,7	0,6	2,7	1,2	2,0	1,0	nd	-
ME90	Варна, плаж 4та буна	14,3	0,6	10,7	1,5	3,7	1,5	nd	-
ME93	Варненско езеро, Гребна база	5,7	0,6	3,0	1,0	2,7	0,6	nd	-
ME102	Дуранкулак	12,0	1,0	12,0	1,0	0,0	-	nd	-
ME103	Крапец	12,7	0,6	12,7	0,6	0,0	-	nd	-
ME104	Шабла	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
ME112	Поморие	8,3	1,2	8,3	1,2	nd	-	nd	-
ME113	Несебър	10,0	1,0	8,0	1,0	2,0	-	nd	-
Средна концентрация		7,3	4,9	5,3	4,5	1,7	2,6	0,2	0,6



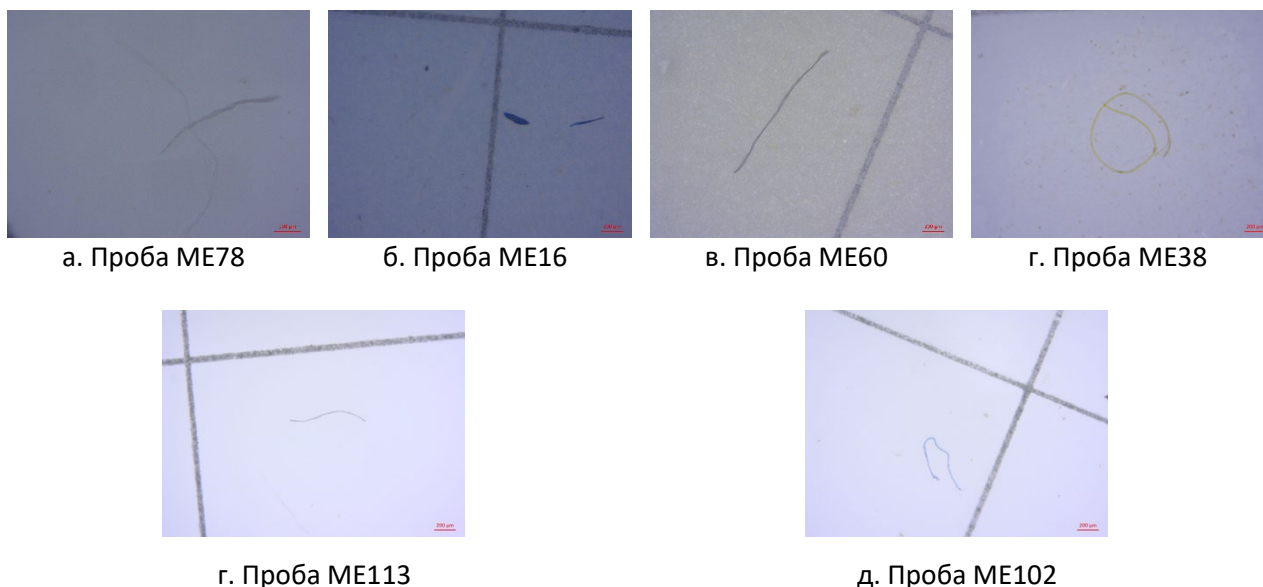
Фигура 1.32. Микрочастици с различна форма (а,г,д- фибри, б- фрагменти, в – с друга форма)

Анализът на общия брой частици по вид, установени във всички проби (фигура 1.33) показва обаче значителен превес на фибрите. Фибрите са и преобладаващият вид микрочастици в изследването на Vagstad et al. (2018) [16], както и в други изследвания от Черно море [14,17]. Тези данни са в съответствие със световните тенденции [18]. Все повече автори обаче посочват фрагментите като по-често срещан вид микропластмаса [19-21].



Фигура 1.33. Съотношение на микрочастици от полимерни материали по вид

Микрочастиците в пробите морски води са категоризирани и **според техния цвят**. Установени са следните основни цветови категории – прозрачни, сини, черни и червени/жълти/частици с друг цвят (фигура 1.34). Тези цветови типове значително се различават от установените от Dharmadasa et al (2021)[22] сини, зелени, червени, бели и кафяви частици. Но Scott et al (2019)[23] определя подобно оцветяване на микропластмасите от проби морски води от северозападния бряг на Англия.

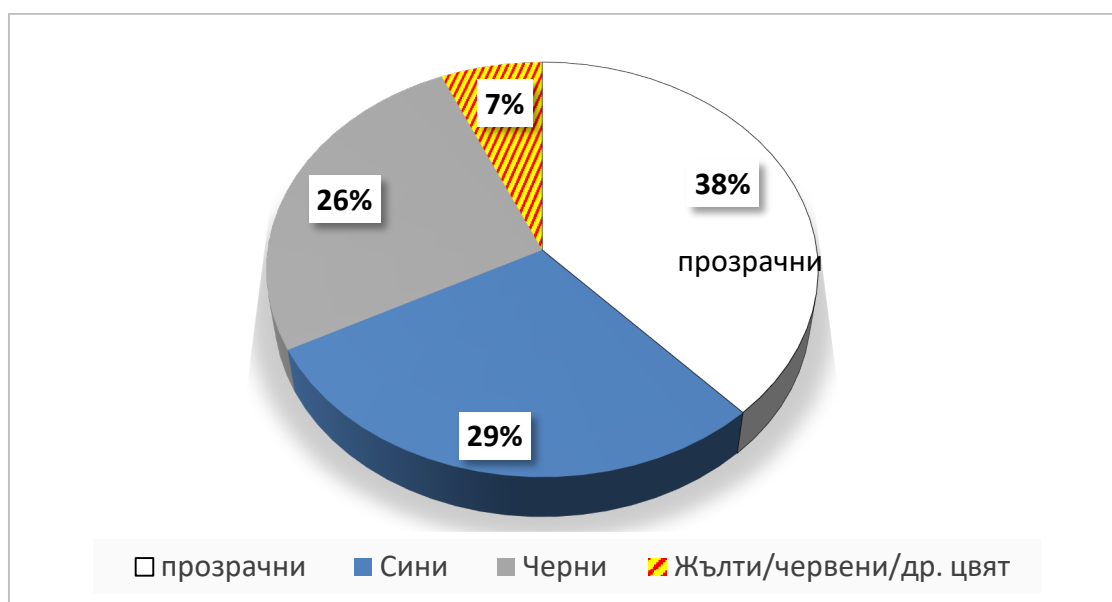


Фигура 1.34. Микрочастици с различен цвят (а – прозрачни и черни; б, д – сини; в – черни; г – жълти)

Данните от анализираниите проби (таблица 2) показват, че най-много прозрачни частици се откриват в проби ME60 ($10,3 \pm 0,6$ pt/L) и ME90 ($8,0 \pm 1,0$ pt/L). Сините частици се срещат в по-ниска концентрация – $8,3 \pm 1,2$ pt/L (ME 112, $6,7 \pm 0,6$ pt/L (ME 49) $5,7 \pm 1,2$ pt/L (ME 38). Най-високите установени нива на черни частици са $9,0 \pm 1,0$ pt/L, $3,7 \pm 1,2$ pt/L и $3,7 \pm 0,6$ pt/L, съответно в проби ME102, ME49 и ME60. Количеството на червени/жълти частици е много ниско ($0,3$ - $2,0$ pt/L) и се срещат само в 50 % от пробите.

Анализът на общия брой частици по цветови категории, установени във всички проби (фигура 1.35) показва значителен превес на прозрачните и сини частици.

Това е интересен резултат, тъй като прозрачни частици почти не се докладват в други научни изследвания. По-често срещани са черните, сиви и по-ярко оцветени частици [24-26]. По-нататъшно изследване на вероятните източници на замърсяване би могло да обясни тази по-висока концентрация на безцветните и сини частици.



Фигура 1.35. Съотношение на видовете микрочастици по цветови категории във всички анализирани проби

Разпределение на микрочастици в морски води по размер

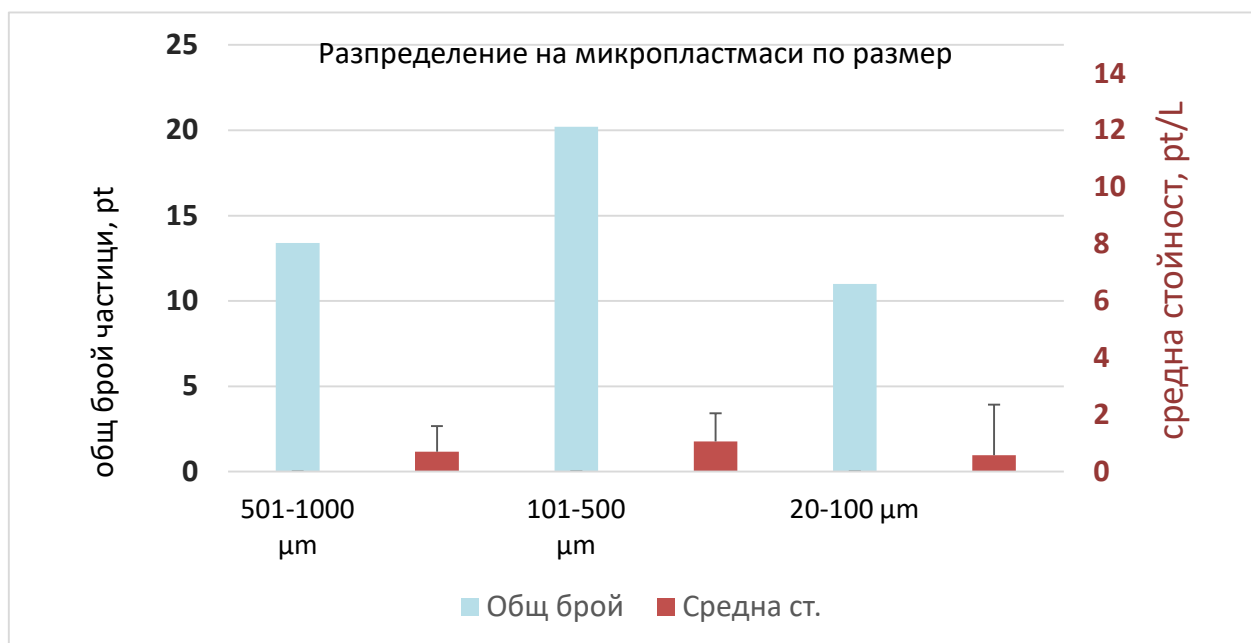
В пробите е установено наличие на 122,9 фибри, 39,1 фрагмента и 5,4 частици с друга форма (фигура 1.1). Определен е размера на фрагментите и частиците с друга форма (Ферет_{max} диаметър). Установено е, че частиците могат да се разделят в три категории - 501-1000 µm, 101-500 µm и 20-100 µm Таблица 1.9. В първата категория най-много частици се откриват в проба ME60 ($2,7 \pm 0,6$ pt/L), във втората категория в проба ME16 ($3,7 \pm 1,2$ pt/L). В същата проба са и най-многобройни частиците от третата категория - $7,7 \pm 1,5$ pt/L.

Таблица 1.9. Концентрация на микрочастици с различни размери в проби морски води (nd – не се открива)

Проба	Концентрация на фрагменти и други микрочастици* [pt/L]	Разпределение на микрочастиците – по размер [pt/L]		
		501-1000 µm	101-500 µm	20-100 µm
ME7	$1,3 \pm 0,9$	$0,7 \pm 0,5$	$0,7 \pm 0,5$	nd
ME10	$2,0 \pm 1,7$	nd	$0,7 \pm 1,2$	$1,3 \pm 0,6$
ME16	$13,7 \pm 2,5$	$2,3 \pm 0,6$	$3,7 \pm 1,2$	$7,7 \pm 1,5$
ME22	$2,3 \pm 0,6$	nd	$1,3 \pm 0,6$	$1,0 \pm 0,0$
ME38	nd	nd	nd	nd
ME49	nd	nd	nd	nd

ME60	5,3 ± 0,6	2,7 ± 0,6	2,7 ± 0,6	nd
ME61	1,0 ± 0,0	1,0 ± 0,0	nd	nd
ME62	3,7 ± 0,6	1,7 ± 0,6	2,0 ± 0,0	nd
ME65	nd	nd	nd	nd
ME67	1,0 ± 0,0	nd	1,0 ± 0,0	nd
ME77	nd	nd	nd	nd
ME78	1,0 ± 0,0	nd	1,0 ± 0,0	nd
ME79	1,0 ± 0,0	nd	1,0 ± 0,0	nd
ME84	1,7 ± 0,6	nd	1,7 ± 0,6	nd
ME87	2,0 ± 1,0	1,0 ± 0,0	1,0 ± 1,0	nd
ME90	3,7 ± 1,5	1,0 ± 0,0	1,7 ± 0,6	1,0 ± 1,0
ME93	2,7 ± 0,6	2,0 ± 0,0	0,7 ± 0,6	nd
ME113	2,0 ± 0,0	1,0 ± 0,0	1,0 ± 0,0	nd

Анализът на броя на частиците по различните категории размери (фигура 1.36) показва, че броят на частиците с размери 101-500 µm най- висок и е около 2 пъти по-висок от броя на частиците в другите две категории.



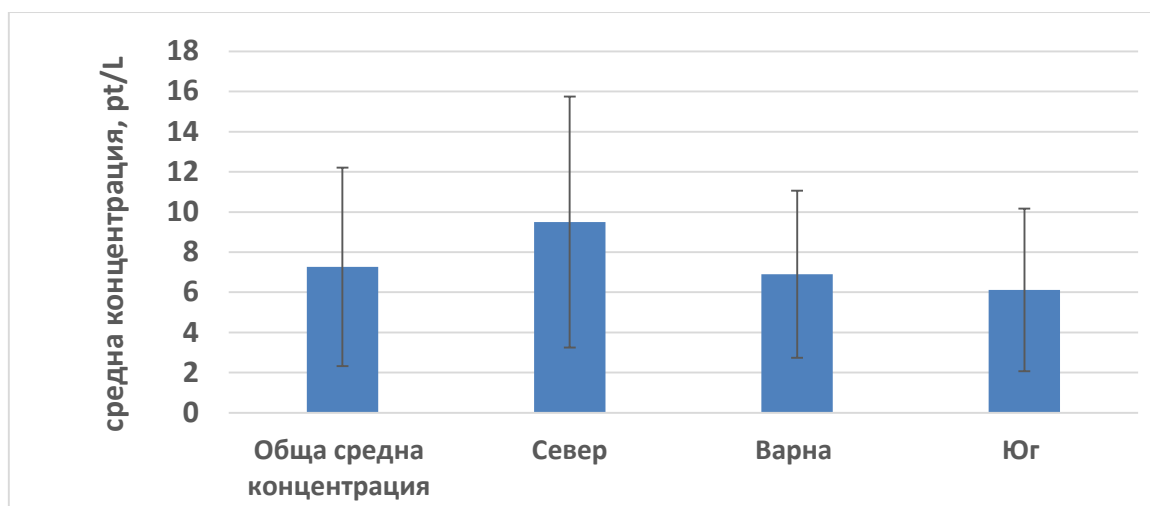
Фигура 1.36. Общ брой микрочастици разпределени по размери във всички анализирани проби

Този резултат е важен, защото в малък брой проучвания се изследват частици с толкова малки размери. За пробонабиране обикновено се използват мрежи с по-голям размер на

порите [27], което не позволява събирането на малки частици. Сравнението на средните нива на частиците от различните категории размери (фигура 1.36) обаче показва значителна разлика. Регистрираните в настоящото изследване микрочастици са с особено малки размери – те представляват сериозна заплаха за морските организми, защото много лесно могат да бъдат погълнати от околната среда. Но ниските средни концентрации показват, че все още рискът от натрупване на тези частици с малки размери е нисък. Все пак нивата трябва да се проследяват периодично.

Разпределение на микрочастици в морски води по райони

В това изследване са включени райони (Север, Варна и Юг), които са част от българската брегова ивица – фигура 1.1. В своето изследване Berov et al (2020) установяват, че замърсяването с микропластмаси е най-високо в района на нос Калиакра. В нашето изследване са включени и зони по-близки до икономически развити райони. Получените резултати потвърждават изводите на Berov et al (2020) – най-големият среден брой микрочастици е регистриран в район Север (фигура 1.37).



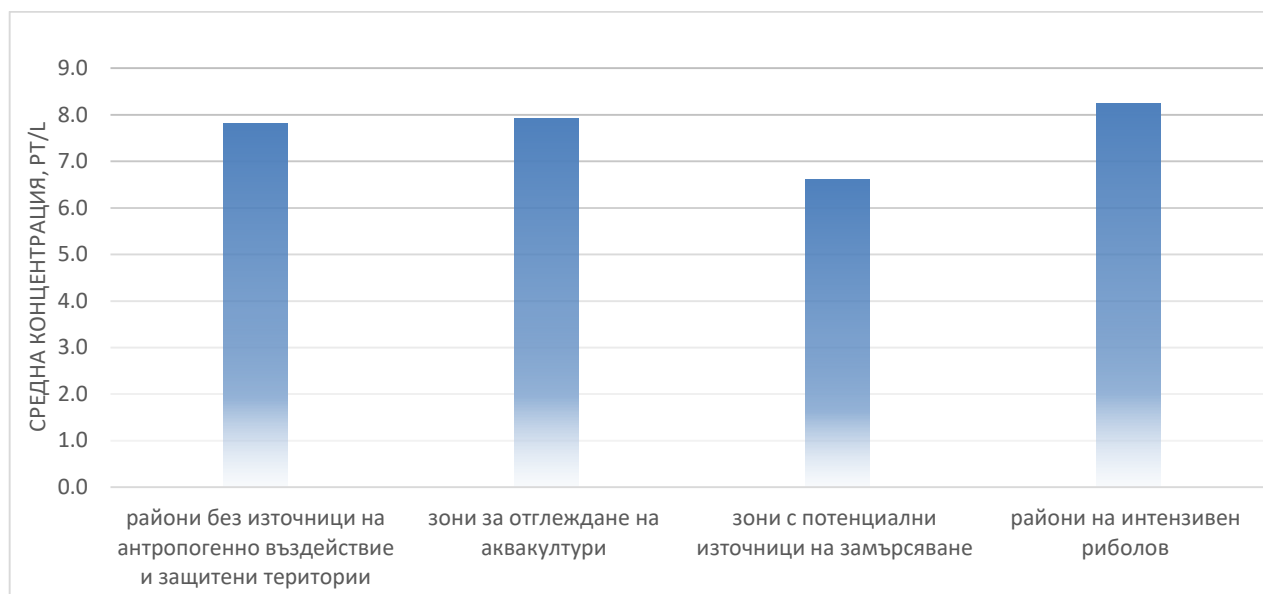
Фигура 1.37. Средни нива на микрочастици разпределени по райони.

Замърсяването с микрочастици в другите два района – Варна и Юг е по-ниско, близко до средните нива на микрочастиците за Българското Черноморие. Като цяло замърсяване от този порядък е регистрирано по други крайбрежия на морета с подобни характеристики – Балтийско море и Северозападното Средиземноморие [28, 29]. И при този анализ на данните стойностите на стандартните отклонения показват широк концентрационен диапазон на разпространение на микрочастиците.

По Българското Черноморие са разположени множество плажове, които се посещават от туристи ежегодно. Същевременно през последните години се полагат усилия за икономическото развитие на големите градове (Варна, Бургас). В тази връзка мониторингът на морските отпадъци по българското Черноморие [30] показва, че плажовете са силно замърсени поради местни източници, като преобладават угарките и филтрите. Тъй като най-високото натрупване на морски отпадъци се наблюдава през лятото, може да се заключи, че натрупването вероятно е резултат от развлекателни дейности, увеличен туристически поток и

диво къмпингуване. Следователно морските отпадъци по Българското Черноморие вероятно са почти изцяло от местен произход.

С цел анализ на произхода на микрочастиците изследваният район е разделен на четири индикаторни вида крайбрежни зони - райони на интензивен риболов (N=7) зони за отглеждане на аквакултури (N=4), зони с потенциални източници на замърсяване (N= 10), райони без източници на антропогенно въздействие и защитени територии (N= 9), обединени в три главни района Север, Варна и Юг. Резултатите (фигура 1.38) показват, че замърсяването в микрочастици е повсеместно – нивата в четирите категории райони са близки. Този резултат още веднъж потвърждава опасността от разпространението на микропластмасите и необходимостта от тяхното проследяване в морските води.



Фигура 1.38. Средни нива на микрочастици разпределени по предназначение на районите.

Пластмасовите микрочастици представляват сериозен риск за морската екосистема, но също така могат да доведат до сериозни социално-екологични последици за крайбрежните общности (туризъм, морски транспорт, аквакултура, риболовна индустрия).

В заключение: Получените данни за микрочастиците в морски повърхностни води показват повсеместно разпределение в районите през периода на изследване. Въпреки това с цел характеризиране на състоянието на морската среда по отношение на морските отпадъци е необходимо по-продължително изследване и анализ на данни.

Изготвили: Златина Петева и проф. Мона Станчева

Използвана литература

1. Andrady, A.L., 2011. Microplastics in the marine environment. Mar. Pollut. Bull. 62, 1596–1605.
2. Plastic Europe, 2017. Plastics – The Facts 2017: An Analysis of European Plastics Production, Demand and Waste Data. URL: www.plasticseurope.org.

----- www.eufunds.bg -----

Проект № BG14MFOP001-6.004-0006 е финансиран от Програмата за морско дело и рибарство 2014 - 2020, съфинансирана от Европейския съюз чрез Европейския фонд за морско дело и рибарство.

3. Borrelle, S.B., Ringma, J., Law, K.L., Monnahan, C.C., Lebreton, L., Mc-Givern, A., Murphy, E., Jambeck, J., Leonard, G.H., Hilleary, M.A., Eriksen, M., Possingham, H. P., De Frond, H., Gerber, L.R., Polidoro, B., Tahir, A., Bernard, M., Mallos, N., Barnes, M., Rochman, C.M., 2020. Predicted growth in plastic waste exceeds efforts to mitigate plastic pollution. *Science* 369, 1515 LP – 1518.
4. Nielsen, T.D., Holmberg, K., Stripple, J., 2019. Need a bag? A review of public policies on plastic carrier bags – where, how and to what effect? *Waste Manag.* 87, 428–440.
5. ICC, 2016. International Coastal Cleanup, Annual Report. Technical Report.
6. Gall, S.C., Thompson, R.C., 2015. The impact of debris on marine life. *Mar. Pollut. Bull.* 92, 170–179.
7. Avio, C.G., Gorb, S., Regoli, F., 2017. Plastics and microplastics in the oceans: from emerging pollutants to emerged threat. *Mar. Environ. Res.* 128, 2–11.
8. Zettler, E.R., Mincer, T.J., Amaral-Zettler, L.A., 2013. Life in the “plastisphere”: microbial communities on plastic marine debris. *Environ. Sci. Technol.* 47, 7137–7146.
9. Silva, M.M., Maldonado, G.C., Castro, R.O., de S’a Felizardo, J., Cardoso, R.P., Anjos, R.M. D., de Araújo, F.V., 2019. Dispersal of potentially pathogenic bacteria by plastic debris in Guanabara Bay, RJ, Brazil. *Mar. Pollut. Bull.* 141, 561–568.
10. Auta, H.S., Emenike, C.U., Fauziah, S.H., 2017. Distribution and importance of microplastics in the marine environment. A review of the sources, fate, effects, and potential solutions. *Environ. Int.* 102, 165–176.
11. Maes, T., Jessop, R., Wellner, N., Haupt, K., Mayes, A.G., 2017a. A rapid screening approach to detect and quantify microplastics based on fluorescent tagging with Nile Red. *Sci. Rep.* 7, 44501.
12. Gündoğdu, S. (2017). High level of micro-plastic pollution in the Iskenderun Bay NE Levantine coast of Turkey. *Su Ürünleri Dergisi*, 34(4), 401-408.
13. Aytan, U., Valente, A., Senturk, Y., Usta, R., Sahin, F. B. E., Mazlum, R. E., & Agirbas, E. (2016). First evaluation of neustonic microplastics in Black Sea waters. *Marine environmental research*, 119, 22-30.
14. Berov D., Klajn S. 2020. Microplastics and floating litter pollution in Bulgarian Black Sea coastal waters. *Marine Pollution Bulletin*, 156: 111225.
15. Scott, N., Porter, A., Santillo, D., Simpson, H., Lloyd-Williams, S., & Lewis, C. (2019). Particle characteristics of microplastics contaminating the mussel *Mytilus edulis* and their surrounding environments. *Marine pollution bulletin*, 146, 125-133.
16. Bagaev, A., L. Khatmullina, I. Chubarenko, Anthropogenic microlitter in the Baltic Sea water column, *Mar. Pollut. Bull.* 129 (2018) 918e923.
17. Pojar, I., Kochleus, C., Dierkes, G., Ehlers, S. M., Reifferscheid, G., & Stock, F. (2021). Quantitative and qualitative evaluation of plastic particles in surface waters of the Western Black Sea. *Environmental Pollution*, 268, 115724.
18. J Dehm, S Singh, M Ferreira, S Piovano, Microplastics in subsurface coastal waters along the southern coast of Viti Levu in Fiji, South Pacific, *Marine Pollution Bulletin* 156, 111239
19. M. Baini, M.C. Fossi, M. Galli, I. Caliani, T. Campani, M.G. Fonoia, C. Panti, Abundance and characterization of microplastics in the coastal waters of Tuscany (Italy): the application of the MSFD monitoring protocol in the Mediterranean Sea, *Mar. Pollut. Bull.* 133 (2018) 543e552.
20. P.G. Ryan, C.J. Moore, J.A. Van Franeker, C.L. Moloney, Monitoring the abundance of plastic debris in the marine environment, *Philos. Trans. R. Soc. B* 364 (2009) 1999e2012.
21. O. Güven, K. Gökdağ, B. Jovanović, A.E. Kideys, , Microplastic litter composition of the Turkish territorial waters of the Mediterranean Sea, and its occurrence in the gastrointestinal tract of fish, *Environ. Pollut.* 223 (2017), 286e294.
22. Dharmadasa, W. S., Andraday, A. L., Kumara, P. T. P., Maes, T., & Gangabadage, C. S. (2021). Microplastics pollution in Marine Protected Areas of Southern Sri Lanka. *Marine Pollution Bulletin*, 168, 112462.
23. Scott, N., Porter, A., Santillo, D., Simpson, H., Lloyd-Williams, S., & Lewis, C. (2019). Particle characteristics of microplastics contaminating the mussel *Mytilus edulis* and their surrounding environments. *Marine pollution bulletin*, 146, 125-133.
24. Khalik, W. M. A. W. M., Ibrahim, Y. S., Anuar, S. T., Govindasamy, S., & Baharuddin, N. F. (2018). Microplastics analysis in Malaysian marine waters: a field study of Kuala Nerus and Kuantan. *Marine pollution bulletin*, 135, 451-457.
25. Cole, M., Webb, H., Lindeque, P. K., Fileman, E. S., Halsband, C., & Galloway, T. S. (2014). Isolation of microplastics in biota-rich seawater samples and marine organisms. *Scientific reports*, 4(1), 1-8.
26. La Daana, K. K., Gardfeldt, K., Krumpfen, T., Thompson, R. C., & O'Connor, I. (2020). Microplastics in sea ice and seawater beneath ice floes from the Arctic Ocean. *Scientific reports*, 10(1), 1-11.
27. Cincinelli, A., Martellini, T., Guerranti, C., Scopetani, C., Chelazzi, D., & Giarrizzo, T. (2019). A potpourri of microplastics in the sea surface and water column of the Mediterranean Sea. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 110, 321-326.
28. Gewert, B., Ogonowski, M., Barth, A., & MacLeod, M. (2017). Abundance and composition of near surface microplastics and plastic debris in the Stockholm Archipelago, Baltic Sea. *Marine pollution bulletin*, 120(1-2), 292-302.
29. Franco, A. A., Arellano, J. M., Albendín, G., Rodríguez-Barroso, R., Zahedi, S., Quiroga, J. M., & Coello, M. D. (2020). Mapping microplastics in Cadiz (Spain): Occurrence of microplastics in municipal and industrial wastewaters. *Journal of Water Process Engineering*, 38, 101596.
30. Simeonova, A., R. Chuturkova, V. Yaneva. Seasonal dynamics of marine litter along the Bulgarian Black Sea coast. *Mar. Pollut. Bull.*, 119 (1) (2017), pp. 110-118

Анализ на резултатите за наличието на микрочастици от пластмаси в проби миди

Световното производство на пластмаса драстично се увеличава през последните десетилетия като около 10% от годишното производство попада в океаните (Plastic Europe, 2020; Barnes et al., 2009). Глобалното разпространение на микропластмаси (дефинирани като частици с полимерен произход <5 mm в диаметър) в морската среда е добре документирано. Те се срещат в световните океани от плажове и брегови линии, до субтропични океански зони, полярни ледени шапки и дълбокия океан (Wright et al., 2013 г.; Law and Thompson, 2014; Cole et al., 2014, Gallagher et al., 2016; Thompson et al., 2004). Заради повсеместното им присъствие и морфологични характеристики, микропластмасата е вероятно да застраши живота и развитието на биотата чрез преки и непреки пътища, включително поглъщане (Desforges et al., 2015), задържане (Kolandhasamy et al., 2018) и трофичен трансфер (Farrell and Nelson, 2013).

Основният риск за околната среда, свързан с микропластмасата, е тяхната наличност (Wright et al., 2013 г.; Desforges et al., 2015). В научната литература има данни, че множество морски видове поглъщат пластмаси от околната среда (Thompson et al., 2004; Lusher et al., 2013; Devriese и др., 2015; Steer et al., 2017). Неблагоприятните ефекти на пластмасата са документираны по отношение на заплитане и физически увреждания на опорно-двигателния, дихателния или храносмилателния апарат при морски бозайници, костенурки, морски птици и ракообразни (Andrady, 2011). Има доказателства също така, които предполагат потенциалната роля на микропластмасите като вектори на химически замърсители или адсорбирани директно от морска вода (Rios et al., 2007; Teuten et al., 2009; Engler, 2012).

Голяма част от морските организми, засегнати от микропластмасите, са различни видове риба и миди, които служат за храна на човека. Това представлява път на експозиция на хората с последици за здравето, които все още не са напълно изучени (Rochman et al., 2015; Van Cauwenberghe and Janssen, 2014).

Мидите са широко използвани в биомониторинга на морската среда (Mussel Watch, MEDPOL, OSPAR), тъй като се характеризират с повсеместно географско разпространение, достъпност и висока толерантност към значителен диапазон на соленост (O'Connor, 1998). Като представителен бентосен филтратор, например синята мида, *Mytilus edulis*, е идентифицирана като вид, податлив на поглъщане на микропластмаса (Browne et al., 2008; Santana et al., 2016; Li et al., 2016; Catarino et al., 2018). Мидите също така са използвани за изследване на токсичните ефекти на микропластмаси върху организмите при лабораторни експериментални експозиции, защото са уязвими към замърсяване с микропластмаси и вектор за пренос на липофилни замърсители в човешката хранителна верига (Browne et al., 2008).

По тези причини, замърсяването с микропластмаса в мидите е предложено като параметър за здравен статус на морето (De Witte et al., 2014), а микропластмасите са добавени към европейската база данни за замърсители на околната среда (Vandermeersch et al., 2015). Целта на това изследване е да се анализират проби миди от Българското Черноморие и данните да се сравнят по отношение на размера, цветовите категории на микрочастиците, както и по места на пробонабиране.

Черни морски миди са събрани от шест места от Българското Черноморие (Север – Каварна, Шабла, Балчик и Крапец и Юг – Созопол, Равда) в периода февруари 2021 – май 2022. Мидите от всяко на пробонабиране ($N = 20-30$, тегло $5,7 \pm 0,3$, дължина $12,9 \pm 3,9$) са почистени

www.eufunds.bg

от черупките. Процедурата за пробоподготовка на мидената тъкан преди микроскопско определяне на полимерните микрочастици е описана в Приложение Д1-4-3.

Всички резултатите са коригирани с данните от успоредна празна проба. Размерът на частиците (фрагменти) се измерва чрез Ферет_{max} диаметър. За идентифициране на частиците като микропластмаси са приложени критериите на Hidalgo-Ruz et al. (2012) и Viršek et al. (2016).

Изследвани са общо 12 проби (таблица 1.10). Микрочастици са установени в 8 от пробите (4 проби не съдържат микропластмаси). Изчислената средна концентрация е 2,7 pt/g. Концентрацията на микрочастиците в положителните проби варира от 0,8 до 7,1 pt/g. Най-високите установени концентрации са в пробите ME39 (район Созопол) -7,1 pt/g и ME108 (Шабла) - 6,3 pt/g. Средната положителна концентрация е 4,0 pt/g, която е по-висока от нивата установени от Li et al. (2018) в миди от Обединеното кралство и близка до данни от Йонийско море (Digka et al. 2018).

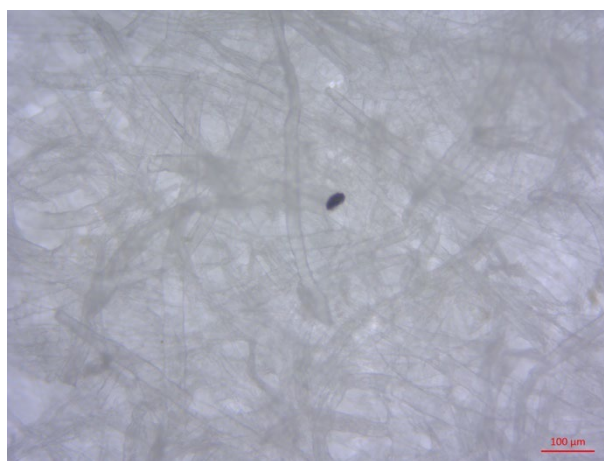
Определените микрочастици в пробите са разделени в две групи според формата им – фибри и фрагменти (таблица 1.10., фигура 1.39). Най-високи са нивата на фибрите в проба ME39 - 3,4 pt/g, а на фрагментите в проба ME109 – 4,6 pt/g. Фибрите се срещат в 4 от пробите, фрагментите в 8 проби миди.

Таблица 1.10. Концентрация на микрочастици в проби миди (общо) и по вид частици (nd – не се открива)

Проба	Вид	Концентрация на микрочастици (общо) [pt/g]	Концентрация на микрочастици – по вид [pt/g]	
			Фибри [pt/g]	Фрагменти
ME1	Миди култивирани	nd	-	-
ME4-1	Миди култивирани	3,8	1,7	2,1
ME4-2	Миди култивирани	2,8	nd	2,8
ME28	Миди диви	nd	-	-
ME29-2	Миди диви	4,8	1,4	3,4
ME30	Миди култивирани	nd	-	-
ME37	Миди култивирани	0,8	0,8	nd
ME39	Миди култивирани	7,1	3,4	3,7
ME46	Миди култивирани	3,9	nd	3,9
ME108	Миди диви	6,3	nd	6,3
ME109	Миди култивирани	4,6	nd	4,6
ME 115	Миди култивирани	nd	-	-
ME131	Миди култивирани	3,3	nd	3,3



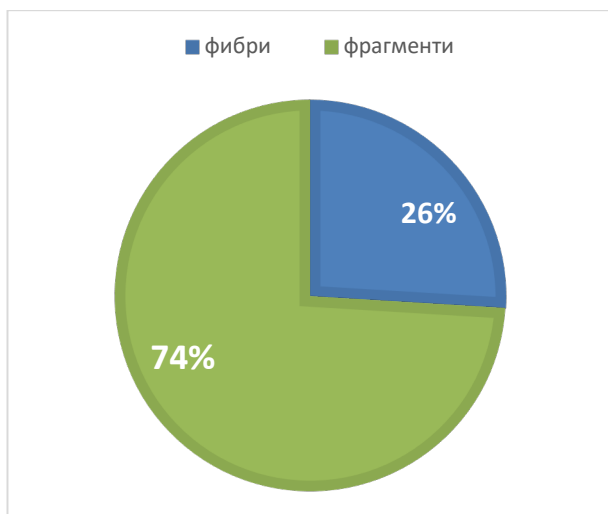
а. Проба ME29



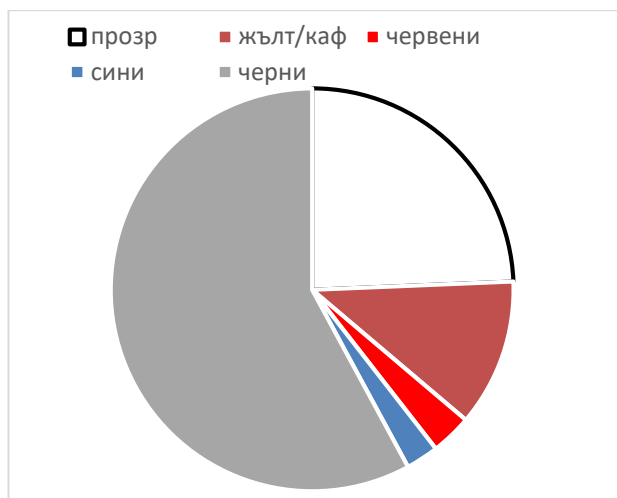
б. Проба ME4

Фигура 1.39. Микрочастици с различна форма (а – фибри, б – фрагменти)

Анализът на общият брой частиците по вид установени във всички проби (фигура 1.40) показва значителен превес на фрагментите. Фрагментите са и преобладаващият вид микрочастици в изследването на Gomiero et al. (2019) в изследване на морски организми от Адриатическо море, както и в изследване на миди от Средиземно море (Gedik et al. 2020).

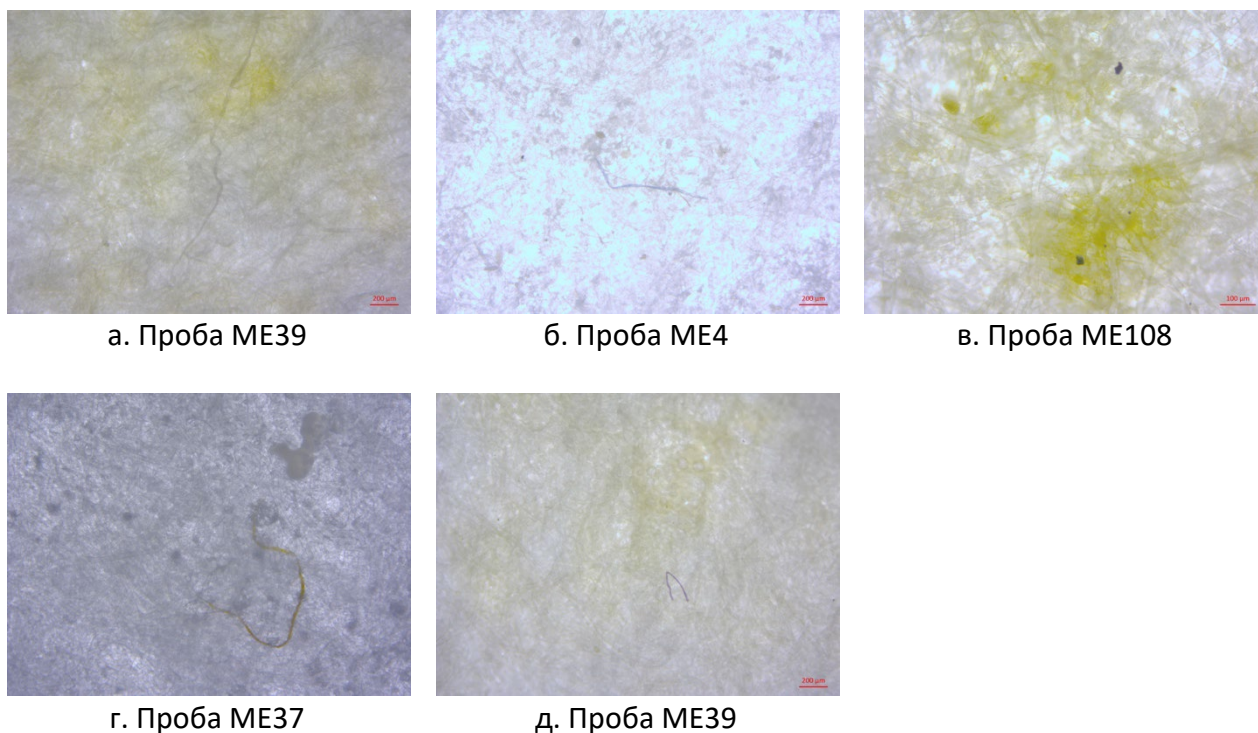


Фигура 1.40. Съотношение на броя микрочастици по вид във всички анализирани проби миди



Фигура 1.42. Процентно съотношение на микрочастиците по цветови категории

Микрочастиците са категоризирани и според цвета им. Установени са следните основни цветови категории – прозрачни, сини, черни, жълтокафяви и червени частици (фигура 1.41.а,б,в,г,д).

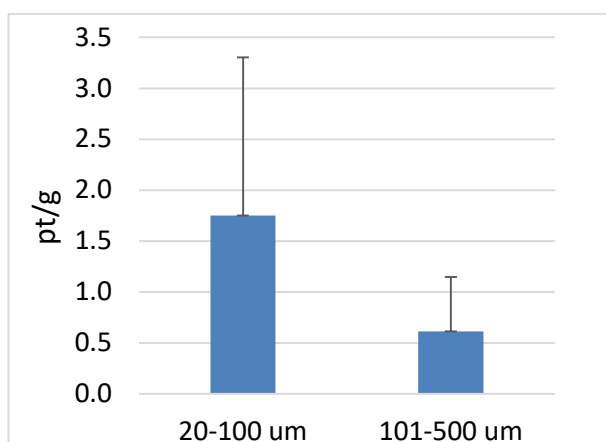


Фигура 1.41. Микрочастици с различен цвят (а- прозрачни, б- сини, в – черни, г- жълтокафяви, д-червени)

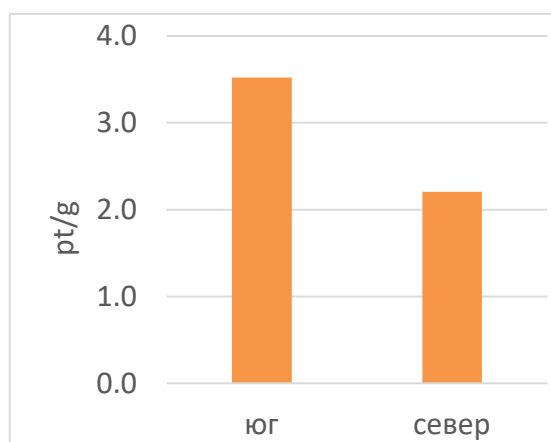
Данните от анализираниите проби показват, че най-много прозрачни частици се откриват в проби ME29 и ME108. По шест частици с жълтокафяв цвят се откриват в проби ME 39 и ME 108. Червените и сини частици се срещат рядко, само в по две проби. Най-често се установяват черни частици, които достигат до 16 pt/проба (ME39). Няма проби, които да съдържат и петте цветови категории, но една проба (ME39) съдържа прозрачни частици и частици в жълтокафяв, син и черен цвят. Анализът на общия брой частици по цветови категории, установени във всички проби (фигура 1.42) показва значителен превес черните частици, следвани от прозрачните частици. Това е интересен резултат, тъй като в други научни изследвания най-често се докладват частици в син цвят (Yozukmaz, A. (2021); Wakka, et al. 2020; Digka et al. 2018). По-нататъшно изследване на вероятните източници на замърсяване би могло да обясни тази по-висока концентрация на черните и безцветни частици.

В пробите е установено наличие на 30 фибри и 122 фрагмента. Определен е размера на фрагментите (Ферет_{max} диаметър). Установено е, че частиците могат да се разделят в две категории - 101-500 µm и 20-100 µm. В първата категория най-много частици (1,5 pt/g) се откриват в две проби ME4 и ME108. Най-висока е концентрацията на частици от втората категория в проба ME108 (4,9 pt/g).

Анализът на средната концентрация на частиците по различните категории размери (фигура 1.43) показва, че концентрацията на частиците с размери 20-100 µm е около 2 пъти по-висока от нивата на частици с размери 101-500 µm. Подобни резултати са докладвани в научната литература за проби миди от бреговете на Англия (Li et al, 2018; Nicholas et al, 2019), докато в миди от бреговете на Испания се срещат по-едри частици (Reguera et al, 2019).



Фигура 1.43. Брой микропластици разпределени по размери във всички анализирани проби миди



Фигура 1.44. Средна концентрация на микропластици в проби миди разпределени по райони

В това изследване са включени два района (Север и Юг), които са част от българската брегова ивица. Сравнението на средните концентрации показва, че новата на замърсяване с микропластмаси на Юг са по-високи отколкото на Север (Фигура 1.44).

В изследване на Berov et al (2020) авторите установяват, че замърсяването с микропластмаси на морските води е най-високо в района на нос Калиакра. В нашето изследване на морски води са включени и зони по-близки до икономически развити райони. Най-големият среден брой микропластици в морски води установихме в най-големия индустриален и жилищен район – Варна. Вероятно акумулирането на микропластмаси в пробите миди от Юг може да се обясни с хидродинамичните процеси по Черноморския бряг.

Изготвил: Златина Петева

Използвана литература:

- Andrady, A.L., 2011. Microplastics in the marine environment. Mar. Pollut. Bull. 62 (12), 1596e1605.
- Barnes, D.K.A., Galgani, F., Thompson, C.R., Barlaz, M., 2009. Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments. Philos. Trans. R. Soc. B 364 (1526), 1985-1998.
- Browne, M.A., Dissanayake, A., Galloway, T.S., Lowe, D.M. and Thompson, R.C., 2008. Ingested microscopic plastic translocates to the circulatory system of the mussel, *Mytilus edulis* (L.). Environmental Science & Technology 42, 5026-5031.
- Catarino, A.I., Macchia, V., Sanderson, W.G., Thompson, R.C., Henry, T.B., 2018. Low levels of microplastics (MP) in wild mussels indicate that MP ingestion by humans is minimal compared to exposure via household fibres fallout during a meal. Environmental Pollution 237, 675-684.
- Cole, M., Webb, H., Lindeque, P.K., Fileman, E.S., Halsband, C. and Galloway, T.S., 2014. Isolation of microplastics in biota-rich seawater samples and marine organisms. Scientific Reports 4, 4528.
- Desforges, J.P.W., Galbraith, M. and Ross, P.S., 2015. Ingestion of microplastics by zooplankton in the Northeast Pacific Ocean. Archives of Environmental Contamination and Toxicology 69, 320-330.
- Kolandhasamy, P., Su, L., Li, J., Qu, X., Jabeen, K. and Shi, H., 2018. Adherence of microplastics to soft tissue of mussels: A novel way to uptake microplastics beyond ingestion. Science of The Total Environment 610, 635-640.
- Devriese, L.I., van der Meulen, M.D., Maes, T., Bekaert, K., Paul-Pont, I., Frère, L., Robbens, J. And Vethaak, A.D., 2015. Microplastic contamination in brown shrimp (*Crangon crangon*, Linnaeus 1758) from coastal waters of the Southern North Sea and Channel area. Marine Pollution Bulletin 98, 179-560.
- De Witte, B., Devriese, L., Bekaert, K., Hoffman, S., Vandermeersch, G., Cooreman, and K., Robbens, J., 2014. Quality assessment of the blue mussel (*Mytilus edulis*): Comparison between commercial and wild types. Marine Pollution Bulletin 85, 146-155.
- Digka, N., Tsangaris, C., Torre, M., Anastasopoulou, A., & Zeri, C. (2018). Microplastics in mussels and fish from the Northern Ionian Sea. Marine Pollution Bulletin, 135, 30-40.

- Engler, R.E., 2012. The complex interaction between marine debris and toxic chemicals in the ocean. *Environ. Sci. Technol.* 46 (22), 12302-12315.
- Farrell, P. and Nelson, K., 2013. Trophic level transfer of microplastic: *Mytilus edulis* (L.) to *Carcinus maenas* (L.). *Environmental Pollution* 177, 1-3.
- Gallagher, A., Rees, A., Rowe, R., Stevens, J., & Wright, P., 2016. Microplastics in the Solent estuarine complex, U.K.: An initial assessment. *Marine Pollution Bulletin* 102, 243-249.
- Gedik, K., & Eryaşar, A. R. (2020). Microplastic pollution profile of Mediterranean mussels (*Mytilus galloprovincialis*) collected along the Turkish coasts. *Chemosphere*, 260, 127570.
- Gomiero, A., Strafella, P., Øysæd, K. B., & Fabi, G. (2019). First occurrence and composition assessment of microplastics in native mussels collected from coastal and offshore areas of the northern and central Adriatic Sea. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(24), 24407-24416.
- Hidalgo-Ruz, V., Gutow, L., Thompson, R. C., & Thiel, M. (2012). Microplastics in the marine environment: a review of the methods used for identification and quantification. *Environmental science & technology*, 46(6), 3060-3075.
- Law, K.L., Thompson, R.C., 2014. Microplastic in the seas. *Science* 345, 144-145.
- Li, J., Green, C., Reynolds, A., Shi, H., & Rotchell, J. M. (2018). Microplastics in mussels sampled from coastal waters and supermarkets in the United Kingdom. *Environmental pollution*, 241, 35-44.
- Li, J., Qu, X., Su, L., Zhang, W., Yang, D., Kolandhasamy, P., Li, D. and Shi, H., 2016. Microplastics in mussels along the coastal waters of China. *Environmental Pollution* 214, 177-184.
- Lusher, A.L., McHugh, M. and Thompson, R.C., 2013. Occurrence of microplastics in the gastrointestinal tract of pelagic and demersal fish from the English Channel. *Marine Pollution Bulletin*, 67(1), 94-99.
- Scott, N., Porter, A., Santillo, D., Simpson, H., Lloyd-Williams, S., & Lewis, C. (2019). Particle characteristics of microplastics contaminating the mussel *Mytilus edulis* and their surrounding environments. *Marine pollution bulletin*, 146, 125-133.
- O'Connor, T.P., 1998. Mussel Watch results from 1986 to 1996. *Marine Pollution Bulletin* 37(1-2), 14-19.
- Plastic Europe, 2021. *Plastics- the Fact 2021*.
- Reguera, P., Viñas, L., & Gago, J. (2019). Microplastics in wild mussels (*Mytilus* spp.) from the north coast of Spain. *Scientia Marina*, 83(4), 337-347.
- Rios, L.M., Moore, C., Jones, P.R., 2007. Persistent organic pollutants carried by synthetic polymers in the ocean environment. *Mar. Pollut. Bull.* 54 (8), 1230e1237.
- Rochman, C.M., 2015. Micro- and nono-plastics and human health. In: *Marine anthropogenic litter*. Eds. Bergmann, M., Gutow, L., Klages, M., 2015. Springer Open. DOI 10.1007/978-3-319-16510-3
- Santana, M.F.M., Ascer, L.G., Custódio, M.R., Moreira, F.T. and Turra, A., 2016. Microplastic contamination in natural mussel beds from a Brazilian urbanized coastal region: Rapid evaluation through bioassessment. *Marine Pollution Bulletin* 106, 183-189.
- Steer, M., Cole, M., Thompson, R.C., Lindeque, P.K., 2017. Microplastic ingestion in fish larvae in the western English Channel. *Environmental Pollution* 226, 250-259.
- Teuten, E.J., Saquing, J.M., Knappe, D.R.U., Barlaz, M.A., Jonsson, S., Bjorn, A., et al., 2009. Transport and release of chemical from plastics to the environment and to wildlife. *Philos. Trans. R. Soc. B.* 364, 2027e2045.
- Thompson, R.C., Olsen, Y., Mitchell, R.P., Davis, A., Rowland, S.J., John, A.W.G., McGonigle, D. and Russell, A.E., 2004. Lost at sea: where is all the plastic? *Science* 304, 838-838.
- Van Cauwenbergh, L., Janssen, C.R., 2014. Microplastics in mussels cultured for human consumption. *Environmental Pollution* 193, 65-70.
- Vandermeersch, G., Lourenço, H.M., Alvarez-Muñoz, D., Cunha, S., Diogène, J., et al. 2015. Environmental contaminants of emerging concern in seafood – European database on contaminant levels. *Environmental Research* 143(B), 29-45.
- Viršek, M. K., Palatinus, A., Koren, Š., Peterlin, M., Horvat, P., & Kržan, A. (2016). Protocol for microplastics sampling on the sea surface and sample analysis. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, (118), e55161.
- Wakkaf, T., El Zrelli, R., Kedzierski, M., Balti, R., Shaiek, M., Mansour, L., ... & Rabaoui, L. (2020). Microplastics in edible mussels from a southern Mediterranean lagoon: Preliminary results on seawater-mussel transfer and implications for environmental protection and seafood safety. *Marine Pollution Bulletin*, 158, 111355.
- Wright, S.L., Kelly, F.J., 2017. Plastic and human health: a micro issue? *Environmental Science and Technology* 51, 6634-6647.
- Yozukmaz, A. (2021). Investigation of microplastics in edible wild mussels from Izmir Bay (Aegean Sea, Western Turkey): A risk assessment for the consumers. *Marine Pollution Bulletin*, 171, 112733.

Постигнат резултат:

Данните показват, че микрочастици с полимерен произход се срещат в морската вода и в част от пробите миди. Нивата на микропластмасите са сравними с данните получени от други европейски изследвания. Тези резултати са важни, защото освен, че дават информация на потребителите за разпространението на тези замърсители, но и доказват, че този екологичен проблем не трябва да се подценява.

----- www.eufunds.bg -----

Проект № BG14MFOP001-6.004-0006 е финансиран от Програмата за морско дело и рибарство 2014 - 2020, съфинансирана от Европейския съюз чрез Европейския фонд за морско дело и рибарство.

ОБОБЩЕНИЕ НА ПОСТИГНАТИТЕ РЕЗУЛТАТИ ПО ДЕЙНОСТ 1

1. В резултат от проведените химични анализи са получени актуални данни за нивата на приоритетни химични замърсители в морската среда: полихлорирани бифенили (PCB), хлорорганични пестициди (DDT и метаболити), хексахлоробензен, хексахлоробутадиен, полициклични ароматни въглеводороди (PAH) в морски организми. Получените данни са използвани за оценка на актуалното състояние на морската среда

2. Получени са актуални данни от химични анализи на токсични елементи в морски организми (риба и миди), на базата на които е направена оценка на замърсяването на морската средата и безопасност на морските организми.

3. Проведени са първоначални проучвания и данни за наличие на микрочастици под 5 мм в морски води и биота за попълване на „празнините“ в научните знания.

4. Разработени и въведени са нови аналитични методи, които допринасят за развитие на лабораторията по Морски ресурси и аквакултури към катедра Химия на МУ-Варна:

- Въведената в експлоатация нова апаратура Система за ускорена екстракция Dionex ASE350 дава възможност за значително намаляване на времето за пробоподготовка на пробите морски организми на етап екстракция. Съкратено е времето за химичен анализ и е намалено количеството на екстракционните разтворители, така се спестяват средства за скъпоструващи реактиви. Чрез Системата за ускорена екстракция се намалява значително количеството на използваните органични разтворители, което допринася за опазването на околната среда.

- Разработени са нови методи за анализ на морската среда: екологосъобразни аналитични процедури за пробоподготовка (екстракция и пречистване) на проби морски организми (миди и риби) за определяне на нови приоритетни химични замърсители (като PAHs, HCH и др. хлорорганични замърсители).

- Разработени са нови аналитични процедури за разграждане на органичната материя на проби морски води и миди за определяне на микропластмаси.

5. Направено е сравнение на получените данни през 2021 – 2022 г с данни от мониторинга извършен от лабораторията по Морски ресурси и аквакултури през 2015 и 2011 г, както и сравнение с данни от предишни проучвания, което е необходимо за оценката на състоянието на морската среда и дава информация за времевите тенденции в нивата на приоритетните замърсители в морски организми.

6. Направено е оценяване на въздействието на замърсителите в морската околна среда и потенциалните биологични ефекти върху морските организми (матрица „биота“).

7. Проведеното пилотно проучване представя данни за наличие на микрочастици под 5 мм в морски води и биота (миди). По този начин се попълват „празнините“ в научните знания за разпространението и вида на микрочастиците, които се срещат по Българското Черноморие.

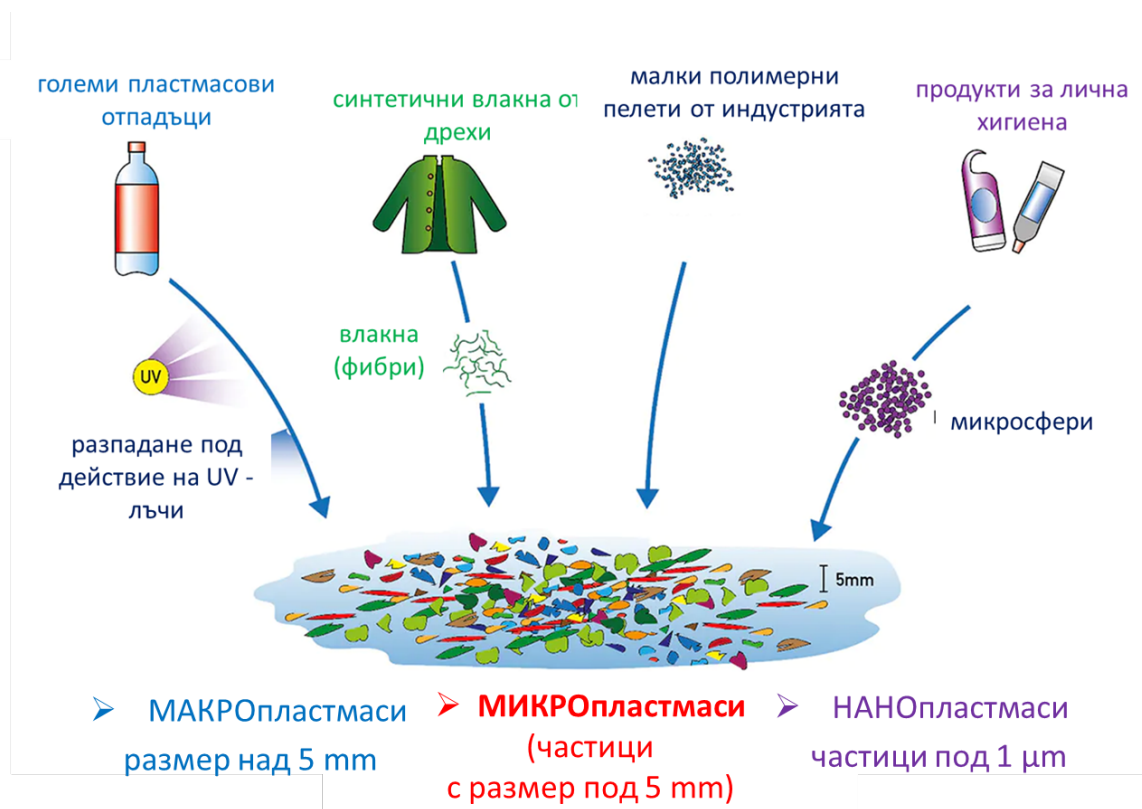
Приноси и положителен ефект:

Получените резултати от анализите на морски организми – рибни видове и черноморски миди са използвани за оценка на състоянието на морската среда по Дейност 3 .

Разработени и въведени са нови аналитични методи, които допринасят за развитие на лабораторията по Морски ресурси и аквакултури към катедра Химия на МУ-Варна:

Информирането на обществеността и институциите за състоянието на морската среда чрез оценка на нивата на приоритетни замърсители в морски организми е необходимо за да се вземат управленски решения за защита на морската еко система.

Глобалното замърсяване на морската среда с отпадъци от полимерен произход оказва влияние върху морските организми. Постъпването на микропластмасите в морските екосистеми крие рискове за здравето на хората и животните. Това проучване предоставя данни и допълнителни доказателства за нивата на микропластмасови частици (с размер под 5 mm) в проби миди, които са често консумирани от населението в България. Продължаването на изследванията в тази област ще даде възможност за управление и ефективна оценка на човешкия риск. Към настоящия момент все още няма определени пределно допустими нива за съдържание на микропластмаси в морски организми. Данните от настоящото проучване ще дадат информация на отговорните институции и възможност да бъдат определени управленски мерки на Европейско ниво.



<https://encounteredu.com/multimedia/images/sources-of-microplastics>

Дейност 2 Идентифициране и определяне на нивата на замърсители с биогенен произход (морски биотоксини) в морската среда.

Разпространение на морски биотоксини в Черно море през периода зима – лято 2021

Основно направление в „синия растеж“ е развитието на морските аквакултури чрез създаване и разширяване на ферми за риба, черупчести и други организми. Критичен фактор при отглеждането на аквакултурите е наличието на храна. При процеса хранене двучерупчестите мекотели (миди, стриди), обект на изследване на морската аквакултура в България, филтрират морската вода и по този начин натрупват микроскопичните планктонни видове. В повечето случаи размножаването на планктона (т. нар. „цъфтеж“) благоприятства развитието на мидите. Но в някои случаи може да има отрицателен ефект, причинявайки сериозни икономически загуби на аквакултурите, риболова и туризма, както и да има големи въздействия върху околната среда и здравето на хората. Т.нар. „вреден цъфтеж“ се предизвиква при размножаването на определени планктонни видове, които могат да продуцират морски биотоксини (алготоксини, фикотоксини).

По хранителната верига, морските биотоксини се акумулират, например в мидите, без да променят жизнеността на организмите, както и вкусовете им качества. По този начин, тези замърсители с биогенен произход могат да достигнат до крайния консуматор- човека. Попадайки в човешкия организъм фикотоксините могат да причинят сериозни здравословни проблеми. В зависимост вида на токсина, който причинява отравянето, то бива например:

- Амнезиево – причинява се от отравяне с домоена киселина
- Диарийно - причинява се от отравяне с окадаена киселина, пектенотоксин-2 и други липофилни токсини и др.

В някои части на Европа появата на морски биотоксини в култивирани миди, поради риска от интоксикация на консуматорите, мидени ферми биват затваряни за дълъг период от време – например в Ирландия този период достига до една година.

До момента знанията за състоянието на морската среда по отношение на замърсители с биогенен произход – морски биотоксини са малко. До 2016 година са анализирани малък брой проби и е установено наличие на някои токсини в отделни проби култивирани миди, в концентрации, значително под здравните норми. Но както авторите на тези изследвания твърдят, тези резултати не могат да бъдат представителни за целия период на изследване (2012-2016), тъй като са направени при анализ на ограничен брой проби.

Резултатите от наши изследвания за наличие на морски биотоксини в проби води (планктон) и миди (култивирани и диви) за периода 2016-2019 г. показват наличие на токсини, които могат да предизвикат амнезиево, паралитично и други видове отравяне, но в концентрации под здравните норми за ЕС. Голяма част от определените токсини се откриват както в пробите планктон, така и в мидите, което означава че условията в изследваните райони на Българското крайбрежие на Черно море, позволява те да преминават по

----- www.eufunds.bg -----

хранителната верига и да запазват токсичността си. Беше установена и значителна междусезонна разлика в нивата на определените токсини. Това показва, че концентрациите на тези замърсители трябва да се следят непрекъснато. Необходимо е да се потърси причината за вариациите в нивата им.

По този начин биха могли да се предложат мерки за предотвратяване повишаването на нивата им над здравните норми и за защита на териториите, в които се отглеждат аквакултури.

В рамките на настоящия проект са изследвани 21 проби планктон, 17 проби диви и култивирани миди от Българското крайбрежие за периода февруари 2021 – декември 2021 г. за наличие на фикотоксините - домоена киселина, окадаена киселина, динофизистоксин-1, динофизистоксин-2, азаспирин-1, пектенотоксин-2 и производни, йесотоксин и производни, гониодомин-А. Измерените концентрации в мидите са представени на база тегло хепатопанкреас (ng/g hepatopancreas (hp)).

Пробонабирането е извършено по следния начин:

- пробите **култивирани** миди (~ 1.5 kg) се вземат директно от въжетата, на които се отглеждат, прибират се в плик и се съхраняват в хладилна кутия.

- пробите **миди от диви местонахождения** (~ 1.5 kg) - чрез гагам или нож дивите мидите се изстъргват от субстрата, на който са израснали, прибират се в плик и се съхраняват в хладилна кутия.

- проби **планктон** се вземат с конична планктонна мрежа като се концентрира в съд, прикрепен за мрежата. Мрежата се спуска вертикално, еднократно на дълбочина от 1 до 5 m, в зависимост от условията на мястото на пробонабиране. Концентратът се събира в 50 ml полимерна центрофужна епруветка и се съхранява в хладилна кутия.

Пробоподготовката на мидената тъкан включва отделяне от черупката. Чрез скалпел от мидената тъкан се отделя хепатопанкреаса (храносмилателна жлеза), органът в който се акумулират морските биотоксини. Храносмилателните жлези се хомогенизират. Хомогенатите се събират в стерилни контейнери и се съхраняват във фризер при -18°C.

От подготвените проби миди се претеглят 4 g и се обработва с 90% метанол и хексан. Пробата планктон се обработва със 100% метанол. Пречистените екстракти се съхранява в хроматографско шишенце (виалка) във фризер при -18°C.

Качествено и количествено определяне на морски биотоксини е извършено чрез течнохроматографски метод с мас детекция, разработен от (Krock, et al., 2008). Използвана е хроматографска система - течен хроматограф Agilent 1100 LC (Waldbronn, Germany), Масспектрални експерименти са извършени на масспектрометър (линеен йон трап) AB-SCIEX-4000 Q Trap (Applied Biosystems, Darmstadt, Germany) с троен квадрупол, свързан с TurboSpray® интерфейс. За идентифицирането на анализите и количествена обработка на резултатите от хроматограмите и масспектрите е използван софтуер Analyst® Software SCIEX.

Идентифицирани са следните морски биотоксини:

- Домоена киселина (DA)

www.eufunds.bg

- Йесотоксин (YTX) и производното ОН- YTX (hydroxy YTX)
- Пектенотоксин-2 (PTX2) и производните РТХ-са и iso-PTX2-са (PTX2-са isomer)

По Българския бряг на Черно море са регистрирани множество потенциално токсични микроводорасли [1]. В Таблица 2.1. са представени данни за регистрираните потенциално токсични диатомеи и динофлагелати, както и токсините, за които има данни, че продуцират тези видове в Черно море и други морета.

Таблица 2.1. Потенциално токсични микроводорасли от Българското Черноморие (BAS-Ю, 2016-2018) и токсини, които е възможно да продуцират

Потенциално токсични микроводорасли	Възможни токсини, които продуцират
<i>Pseudo-nitzschia sp.</i>	Домоена киселина
<i>Alexandrium sp.</i> , <i>Gymnodinium sp.</i>	Паралитични токсини, SPX, GYM
<i>Dinophysis sp.</i> , <i>Prorocentrum sp.</i>	Диарийни токсини, РТХ2
<i>Gonyaulax spinifera</i> , <i>Lingulodinium sp.</i> , <i>Protoceratium sp.</i>	Йесотоксини

Проби планктон за периода февруари-декември 2021 г. са анализирани за домоена киселина, диарийни токсини, йесотоксини, пектенотоксин-2, и техните производни, азаспирациди, както и за вид новопоявяващи се токсини – гониодомин А. Изследвани са общо 21 проби планктон. Само три проби планктон са положителни. Те съдържат домоена киселина в концентрация както следва: ME6- 170,94 pg/μL, ME15- 138,48 pg/μL, ME59 – 13,38 pg/μL. Тези резултати показват, че в момента на пробонабирането в морската вода нивата на морски биотоксини са били много ниски. Тези резултати значително се различават от данните за периода 2016-2018 г., когато разнообразието от фикотоксини е било по-голямо, а нивата по-високи.

Мидите са двучерупчести мекотели, които филтрирайки морската вода, задържат фитопланктона в тъканите си и по този начин могат да акумулират образуваните от него фикотоксини. В мидите фикотоксините се акумулират в храносмилателната жлеза (хепатопанкреас). В този орган те се задържат дълго време и е възможно в един и същ период от време в пробите планктон да не се регистрират токсини, а в пробите миди нивата да са високи. Морските токсини са устойчиви, както на промените в условията на средата, така и при кулинарна обработка [2, 3, 4].

Пробонабирането на диви и култивирани миди е съобразено със сезоните, в които се събират миди с цел търговия и лична консумация. То е извършено през зима, пролет и лято 2021 (таблица 2.2).

Таблица 2.2. Брой изследвани проби миди по сезони и райони

Район	Северно Черноморие		Южно Черноморие	Общо
Сезон	Култивирани миди	Диви миди	Култивирани миди	
Зима 2021	2	-	1	3
Пролет 2021	3	1	2	6
Лято 2021	4	2	2	8
Общо	9	3	5	17

Поради факта, че потенциално токсични фитопланктонни видове са регистрирани по Българското Черноморие [5] (Таблица 2.3), както и поради особеностите в акумулирането на морските биотоксини в двучерупчестите мекотели, в аналитичната процедура екстракцията на цялата мидена тъкан е заменена с екстракция на хомогенат от храносмилателните жлези на мидите от пробата.

Чрез LC-MS/MS са анализирани общо 17 проби от Българското Черноморие от периода зима - лято 2021 за домоена киселина (DA), диарийни токсини (OA, DTX1, DTX2), йесотоксини (YTX), пектенотоксин-2 (PTX2), и техните производни (OH-YTX, PTX2-sa, iso-PTX2-sa), азаспирациди (AZA1), както и за вид новопоявяващи се токсини – гониодомин A(GONA). Определени са следните токсини – YTX, PTX2, OH-YTX, PTX2-sa, iso-PTX2-sa (Таблица 2.3).

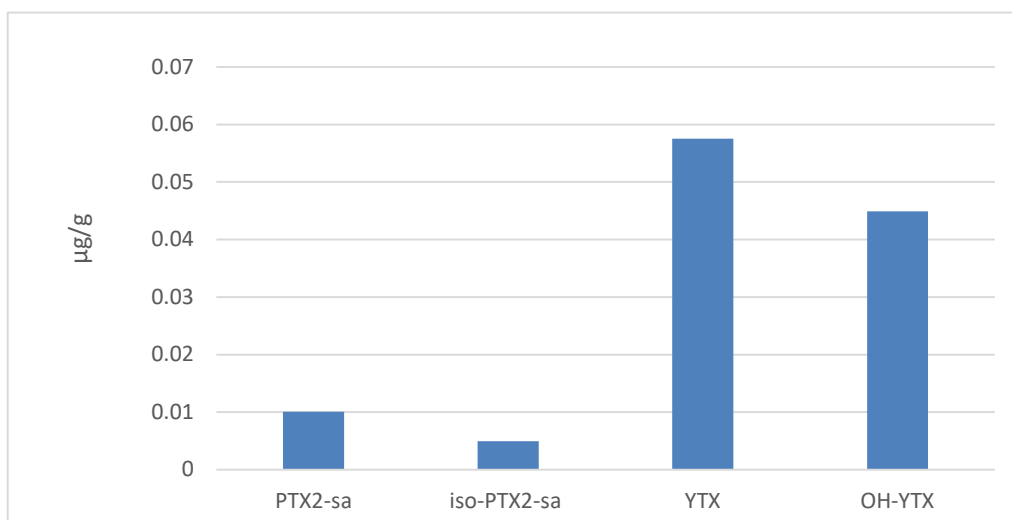
Таблица 2.3. Съдържание на морски биотоксини в проби миди от зима-лято 2021 (nd - не е открит)

Проба	Определени токсини				
	PTX2, µg/g	PTX2-sa, µg/g	Iso-PTX2-sa, µg/g	YTX, µg/g	OH-YTX, µg/g
ME1	nd	0,005	0,002	0,122	0,075
ME4	nd	0,006	0,002	0,074	0,051
ME5	nd	0,009	0,004	0,067	0,043
ME11	nd	0,020	0,014	0,032	nd
ME12	0,002	0,030	0,009	0,045	0,044
ME18	nd	0,019	0,007	nd	nd
ME19	nd	0,025	0,007	0,034	0,040
ME24	nd	0,008	0,004	nd	nd

----- www.eufunds.bg -----

ME25	0,002	0,012	0,009	nd	0,044
ME26	nd	0,007	0,004	nd	nd
ME27	nd	0,006	0,005	nd	0,026
ME28	nd	0,008	0,004	nd	nd
ME29	nd	0,004	0,002	nd	nd
ME30	nd	0,007	0,003	nd	nd
ME37	nd	0,001	nd	nd	0,036
ME39	nd	0,003	0,002	nd	nd
ME46	nd	0,002	0,001	0,028	nd

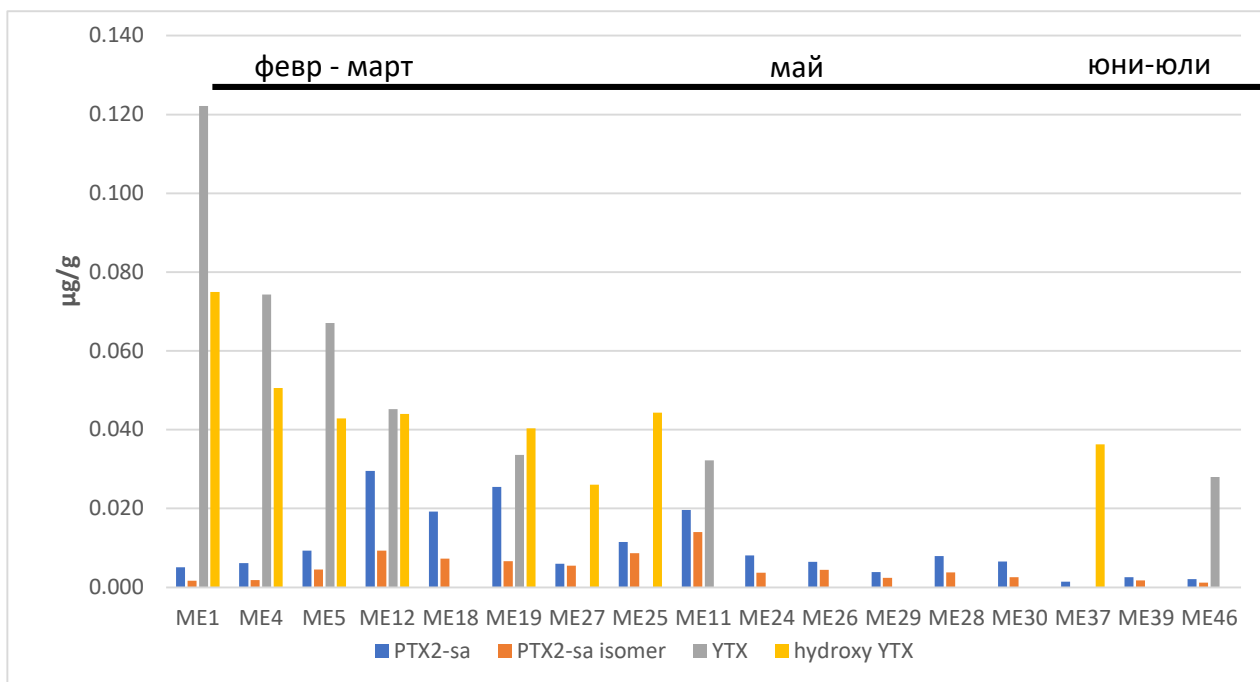
Данните показват, че в пробите се срещат само липофилни токсини – РТХ2, УТХ и техните производни. РТХ2 е регистриран само в две проби, докато неговите карбоксилни производни РТХ2-*sa* и *iso*-РТХ2-*sa*, съответно във всички и в 16 проби. УТХ се среща в 7 проби, а хидроксилното му производно ОН-УТХ в 8 проби. Прави впечатление и малкият концентрационен диапазон, в който се откриват определените токсини: РТХ2-*sa* – 0,001- 0,025 µg/g, *iso*-РТХ2-*sa* – 0,001- 0,014 µg/g, УТХ- 0,028- 0,122 µg/g, ОН-УТХ- 0,026-0,075 µg/g. Сравнението на средните стойности (фигура 2.1) показва, че най-високи са нивата на УТХ и ОН-УТХ, въпреки че тези токсини се срещат в по-малък брой проби.



Фигура 2.1 Изчислени средни концентрации на определените токсини в проби миди.
(* не е изчислена средна концентрация на РТХ2, тъй като този токсин е определен само в две проби)

Сезонна динамика в разпространението на морски биотоксини

Изследването на сезонната динамика в нивата на морските биотоксини е важен елемент от определянето на състоянието на морската среда. В някои страни [6] наличието както на морски токсини води до повтарящи се сезонни забрани за събиране на двучерупчести животни. В няколко случая забраните не били поставени навреме, не били правилно разпространени сред обществеността или пренебрегнати от любители мидари. Последвали са множество натравяния. В няколко от тези регистрирани случаи през годините се е появила обща особеност: събирането на двучерупчести животни често е било извършвано по едно и също време на годината. Следователно въпреки програми за мониторинг, които са били усъвършенствани през годините, все още се случват отравяния при хора поради бързото увеличаване на нивата на токсини и/или неспазване на забраните за събиране на миди. Анализът на сезонната динамика в нивата на определените токсини в пробите миди за периода март-юли 2021 (Фиг.2.2) показва различни тенденции при петте определени токсина. При пектенотоксин-2 не може да се потвърди наличието на сезонност, тъй като той е регистриран само в две проби и новата са много ниски (табл.2.3). При неговите производни – PTX2-sa и iso-PTX2-sa прави впечатление плавното покачване на концентрацията, като най-високите нива и при двата токсина са регистрирани през пролетта. През лятото нивата на тези токсини спадат.



Фигура 2.2. Сезонни колебания в нивата на морските биотоксини в проби миди за периода март-юли 2021

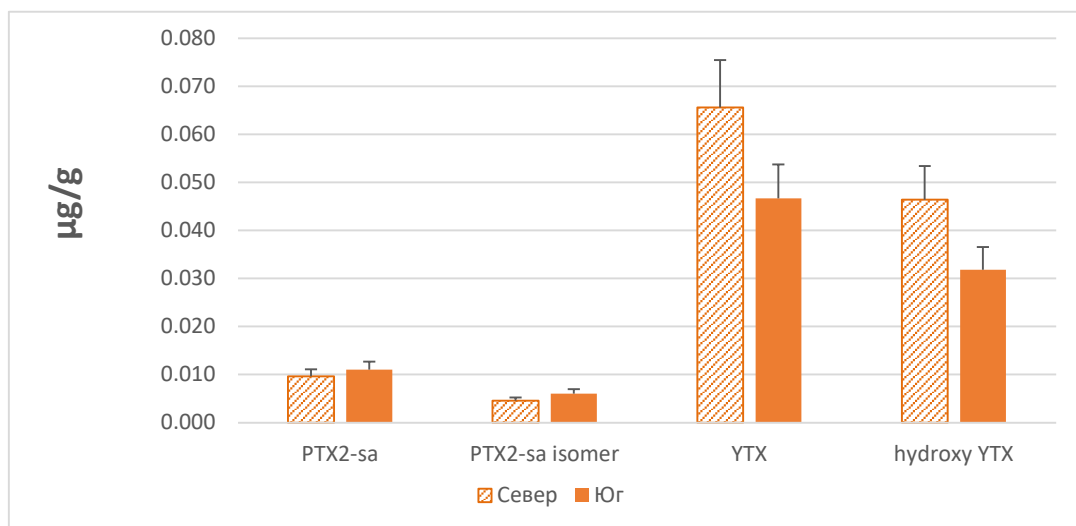
Друга особеност в динамиката на производните на PTX2 е, че максималните концентрации, които се достигат при PTX-sa са значително по-високи от максималните нива на iso-PTX2-sa като във всички проби нивата на PTX-sa са по-високи от нивата на iso-PTX2-sa.

Друга тенденция се наблюдава при YTX и ОН-YTX. Най-високите нива на двата токсина са регистрирани през зимата, като концентрацията на YTX се понижава и в началото на лятото

този токсин вече не се открива в пробите. Последната проба от края на м. юли съдържа YTX, чийто нива са сходни с тези в началото на лятото. При ОН-YTX тенденция е подобна, но понижаването на концентрацията е значително по-плавно. Отново през лятото и този токсин не се регистрира в пробите, с изключение на една проба от края на м. юни.

Сравнение на средните концентрации на токсините по райони на улов

Изследвано е и разпределението на съдържанието на морски биотоксини в проби диви и култивирани миди от два района на улов – Северно Черноморие (Север) и Южно Черноморие (Юг) с цел по-изчерпателно определянето на състоянието на морската среда. Този анализ е важен поради известните разлики в температурния, термодинамичния, хидрографския и солевия режим на повърхностните води в район Север и район Юг (Приложение ДЗ-6 Оценка на състоянието на морската среда по отношение на физико-химични показатели 2021 - май 2022). Анализът на данните от разпределението на морските биотоксини (Фиг.2.3) показва, че и четирите определени токсина се срещат в двата района на изследване. Нивата на YTX ОН-YTX са значително по-високи от нивата на PTX2-sa и iso-PTX2-sa. При сравнение на средните концентрации на фикотоксините се регистрира, че производните на PTX2 са с близки нива и в двата района. Средните концентрации на YTX и ОН-YTX са по-високи в район Север.



Фигура 2.3. Сравнение на средните нива на морските биотоксини в двата района на изследване

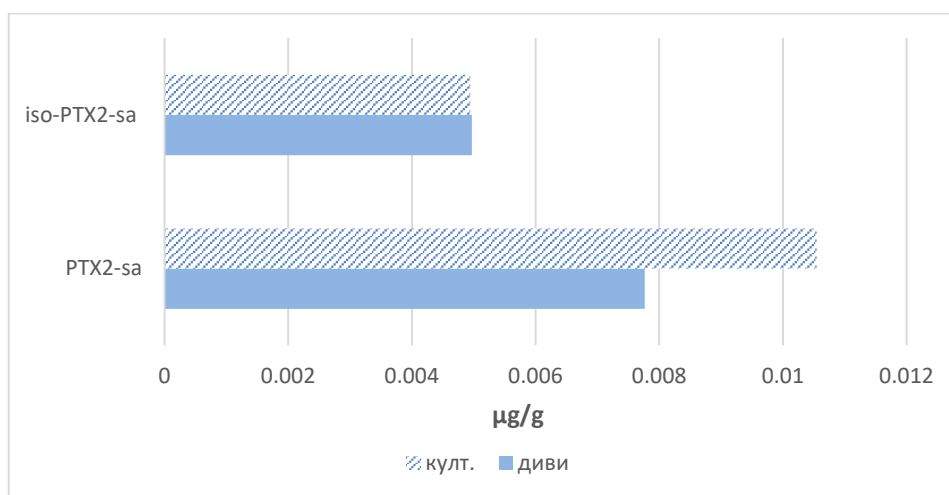
Тези резултати значително се различават от данните, получени от наше изследване в предишен период (2016-2018), в което много малка част от пробите (31%) от район Север съдържат YTX, докато 63 % от пробите от район Юг са положителни за този токсин. В същото изследване пробите от Север съдържат YTX в концентрационен диапазон (nd – 0.008 µg/g) и пробите от Юг – nd -0.025 µg/g. Тези данни са сравними с резултатите получени в настоящото изследване.

Пектенотоксин-2 е определен само в две проби (ME12 и ME25) (табл. 2.3). Тези резултати са аналогични на данните получени в изследването от периода 2016-2018 (4 от общо анализирани 29 проби) – концентрационен диапазон на положителните проби nd - 0.002 µg/g. Сравнението показва, че вероятно този токсин не се акумулира под тази форма в условията на

средата. Наличието на неговите производни PTX2-sa и iso-PTX2-sa показва, че е възможно PTX2 бързо да метаболизира и да се дериватизира с естествените метаболити в черноморските миди. Подобни изводи са потвърдени в литературата [7, 8]. Друго наше изследване (2017-2018) потвърждава наличието на производни на PTX2 в миди от Южното Черноморие [9].

Сравнение на средните нива на морски биотоксини в диви и култивирани миди

Особеностите в начина на растеж на култивираните и дивите миди предполага различия в техните метаболитни процеси [10, 11]. По тази причина сравнихме нивата на определените морски биотоксини в пробите диви и култивирани миди. Изследвани са три проби диви миди – двата токсина PTX2-sa и iso-PTX2-sa са регистрирани и в трите проби, докато YTX не е определен, а OH-YTX само в една проба. По тази причина са изчислени средните нива само на PTX2-sa и iso-PTX2-sa. Сравнението на средните концентрации е представено на фиг. 2.4.



Фигура 2.4. Сравнение на средните нива на морски биотоксини в диви и култивирани миди

Данните показват, че нивата на iso-PTX2-sa са много близки при двата вида миди, докато средната концентрация на PTX2-sa в култивираните миди е по-висока отколкото в дивите. За да се направят по-обобщаващи изводи във връзка с особеностите на диви и култивирани миди е необходимо изследване за по-дълъг период от време.

Състоянието на морската среда по отношение на морски биотоксини за периода февруари-декември 2021 се характеризира със следните особености:

- В изследваните проби планктон и миди са регистрирани шест токсина – домоена киселина (планктон), PTX2 (миди), PTX2-sa (миди), iso-PTX2 (миди), YTX (миди), OH-YTX (миди).
- Домоена киселина е регистрирана в малък брой проби планктон (14%).
- PTX2 се среща само в две проби миди.
- PTX2-sa е регистриран във всички 17 проби, а iso-PTX2-sa в 16 проби.
- Средната концентрация на PTX2-sa е по-висока от тази на iso-PTX2-sa.
- YTX е регистриран в 7 проби миди, а OH-YTX – в 8 проби.
- Средната концентрация на YTX е по-висока от тази на OH-YTX, но нивата на тези два токсина са значително по-високи от средните нива на PTX2-sa и iso-PTX2-sa.

- Сезонните колебания на определените токсини показват понижаване на нивата на УТХ и ОН-УТХ през в хода на годината (зима-пролет), докато през лятото тези токсини не се регистрират. Нивата на РТХ2-са и iso-РТХ2-са са ниски през зимата, повишават се през пролетта, а през лятото отново се понижават.

- Сравнението на средните концентрации на токсините по райони на улов показва, че нивата на РТХ2-са и iso-РТХ2-са са близки, докато средните концентрации на УТХ и ОН-УТХ са по-високи в район Север в сравнение с район Юг.

- Сравнение на средните нива на морски биотоксини в диви и култивирани миди показват, че нивата на iso-РТХ2-са са много близки при двата вида миди, докато средната концентрация на РТХ2-са в култивираните миди е по-висока отколкото в дивите

Изготвил: Златина Петева

Литературни източници:

- 1 Dzhembekova, N, I Atanasov, P Ivanova, and S Moncheva (2017). New potentially toxic Psedo-nitzschia species (Bacillariophyceae) identified by molecular approach in the Black Sea (Varna Bay). *Proceeding of the 17th International Multidisciplinary Conference SGEM 2017* 889-896.
- 2 O'Driscoll, Z Škrabáková, and KJ James (2014). Confirmation of extensive natural distribution of azaspiracids in the tissue compartments of mussels (*Mytilus edulis*). *Toxicon* 92: 123-128
- 3 Mafra, L, VM Briceli, and K Fennel (2010). Domoic acid uptake and elimination kinetics in oysters and mussels in relation to body size and anatomical distribution of toxin. *Aquatic toxicology* 100: 17-29.
- 4 MacKenzie, L, P Holland, P McNabb, and V Beuizenberg (2002). Complex toxin profile in phytoplankton and Greenshell mussels (*Perna canaliculus*), revealed by LC-MS/MS analysis. *Toxicon* 40: 1321-1330
- 5 BAS-IO (2016-2018). Phytoplankton protocols. <http://www.bgodc.io-bas.bg/Monitoring>
- 6 Vale, P. (2020). Shellfish contamination with marine biotoxins in Portugal and spring tides: a dangerous health coincidence. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(33), 41143-41156.
- 7 Wilkins, A. L., Rehmann, N., Torgersen, T., Rundberget, T., Keogh, M., Petersen, D., ... & Miles, C. O. (2006). Identification of fatty acid esters of pectenotoxin-2 seco acid in blue mussels (*Mytilus edulis*) from Ireland. *Journal of Agricultural and food chemistry*, 54(15), 5672-5678.
- 8 Mackenzie, L. A. (2019). A long-term time series of Dinophysis acuminata blooms and associated shellfish toxin contamination in Port Underwood, Marlborough Sounds, New Zealand. *Toxins*, 11(2), 74.
- 9 Peteva, Z., Krock, B., Stancheva, M., & Georgieva, S. (2020). Comparison of seasonal and spatial phycotoxin profiles of mussels from South Bulgarian coast. *Bulgarian Chemical Communications*, 52(B), 16-21.
- 10 Schmidt, W., O'Shea, T., & Quinn, B. (2012). The effect of shore location on biomarker expression in wild *Mytilus* spp. and its comparison with long line cultivated mussels. *Marine environmental research*, 80, 70-76.
- 11 Montagnac, V., Guyondet, T., Comeau, L., & Tremblay, R. (2020). Physiological differences between wild and cultured bivalves in Prince Edward Island, Canada. *Aquatic Living Resources*, 33, 8.

ОБОБЩЕНИЕ НА ПОСТИГНАТИТЕ РЕЗУЛТАТИ ПО ДЕЙНОСТ 2

Във връзка с изпълнението на Дейност 2 са постигнати следните резултати:

- Извършено е вземане на общо 21 проби планктон и 17 проби черноморски миди в периода февруари 2021 – декември 2022 от различни райони на българското крайбрежие на Черно Море за определяне на морски биотоксини
- Всички проби планктон и миди, взети през периода 2021 -2022 г са обработени като са преминали процедура за пробоподготовка
- Извършени са хроматографски анализи за качествено и количествено определяне на морски биотоксини във всички проби миди (общо 17 броя диви и култивирани) и планктон (общо 21 проби) чрез течна хроматография с маспектрометрия LC/MS
- Направен е анализ на получените резултати от качествено и количествено определяне на морски биотоксини в пробите миди и планктон като са актуализирани знанията за състоянието на морската среда по отношение на морски биотоксини в миди и планктон в Черно море
- Направено е сравнение на резултатите за състоянието на морската среда по отношение на морски биотоксини с данните за тези замърсители в други морета и предишни периоди на изследване. Получените резултати са представени в научни публикации
- Данните за морски биотоксини са представени във форма, удобна за интерпретация във връзка с обезпечаване на здравните стандарти, утвърдени в Регламент (ЕС) № 853/2004, за количеството на общите морски биотоксини в двучерупчести мекотели, които се пускат на пазара за човешка консумация. Това допринася за развитие на сектори като „Аквакултури“ и „Туризм“
- Данните за морски биотоксини са използвани за оформяне на предложение за промяна в обхвата на другите мерки за пространствена защита по член 13, параграф 4 от Директива 2008/56/ЕО
- Установени са контакти с производители, представители на бизнеса и регионална туристическа организация, което е предпоставка за обмяна на опит и информация, които ще допринесат за развитие на сектори като „Аквакултури“ и „Туризм“

Принос и устойчивост на постигнатите резултати

Аквакултурите са ключов компонент на стратегията на ЕС за син растеж и може да има значителни положителни ефекти върху качеството на водата. Аквакултурата е най-бързо развиващият се сектор за производство на храни и в момента представлява близо 50% от световното производство на риба, ракообразни и мекотели (FAO, 2018 г.).

Мидите филтрират водата като се хранят с фитопланктон и улавят хранителни вещества, което допринася за по-добрите им качества като храна на човека. Резултати, представени в настоящото изследване, показват, че Българското крайбрежие предоставя добри условия за отглеждането на миди. В много малка част от пробите планктон се откриват морски токсини и нивата им са изключително ниски. Концентрациите на морските токсини също са много ниски и обезпечават здравните стандарти. Тези фактически данни могат да бъдат в подкрепа на политически решения за насърчаване на устойчивостта на региона чрез отглеждане на миди, което ще допринесе за социалната и икономическа устойчивост на крайбрежните райони.

----- www.eufunds.bg -----

Дейност 3 Оценка на състоянието на морската среда и безопасност на изследваните морски организми по отношение на замърсители с антропогенен и биогенен произход.

Оценката на състоянието на морската среда като многокомпонентна система изисква да се определи както влиянието на абиотичните и антропогенните фактори, така и натиска, който морските организми упражняват, чрез жизнената си дейност върху околната среда.

Разрастването на производството на аквакултури може да доведе до локализирано биологичното отлагане като предизвиква хипоксични условия, при които ще се повиши освобождаването на нутриенти от утайките. Ефектът от засиленото биологично отлагане в мидените ферми е изключително специфичен за всяко едно място. Проучено е екологичното въздействие на мидените ферми върху морската околна среда чрез оценка на нивата на физико-химични параметри на морската околна среда в мидените ферми и сравнението им с нивата в защитени зони в Черно море. Подобен вид проучвания не са правени за Черно море.

Еутрофикацията се посочва и като водещ фактор, предизвикващ цъфтежа на планктонните видове, някои от които могат да продуцират биотоксини. Индикаторни показатели за състоянието на морската среда в резултат на еутрофикацията съгласно Дескриптор 5 са: амоняк (амониев азот), нитрити (нитритен азот), нитрати (нитратен азот), фосфати, силиций.

В Черно море са регистрирани множество потенциално токсични видове планктон. Известно е обаче, че всеки вид има различни механизми за адаптиране и реакции на промените в околната среда в морската екосистема. По тази причина при оценката на състоянието на морската околна среда трябва да се вземе предвид и влиянието на физико-химичните параметри върху нивата на продуцираните от планктона морски биотоксини и натрупването им в двучерупчести аквакултури.

Изследвано е влиянието на физико-химичните параметри на морската среда върху продуцирането на морски биотоксини в планктон и натрупването им в двучерупчести аквакултури.

В рамките на проект „Определяне на морски токсини в черноморски миди и планктон“, финансиран от Фонд Научни изследвания, МОН 2016 са установени значителни колебания в нивата и вида на токсините, поради техния биогенен произход. Необходими са допълнителни изследвания за установяване на динамиката в сезонните колебания с цел прогнозиране на инцидентната им поява.

Анализът на въздействието е елемент от заключителния етап на проекта, който има за цел да оцени ефектите от постигнатите резултати. Стратегическото въздействие на резултатите от проекта ще бъде анализирано от гледна точка на приноса им към целите на Интегрираната морска политика на ЕС и дългосрочната Стратегия за син растеж, която подкрепя устойчивия икономически растеж на свързаните с морето сектори.

Поддейност 1: Оценка състоянието на морската среда по отношение на приоритетни химични замърсители в биота съгласно стандарти за качество на морската среда (СКОС)

Оценка състоянието на морската среда по отношение на приоритетни и специфични химични замърсители в биота

Съгласно ДИРЕКТИВА 2013/39/ЕС на Европейския парламент и на съвета за сигурност (от 2013 година за изменение на директиви 2000/60/ЕО и 2008/105/ЕО по отношение на приоритетните вещества в областта на политиката за водите) са определени голяма група приоритетни замърсители сред тях са: устойчиви органични замърсители (УОЗ) – полихлорирани бифенили (PCBs), хлорорганични пестициди, полициклични ароматни въглеводороди (PAHs), токсични елементи и др. Само за няколко от тях има определени СКОС (стандарти за качество на околната среда) **в биота**. Това са:

- хексахлоробензен,
- Хексахлоробутадиен,
- Живак и неговите съединения,
- бромирани дифенилетери,
- флуорантен,
- дикофол,
- перфлуорооктан сулфонова киселина и нейните производни (PFOS),
- диоксини и диоксино- подобни съединения като DL-PCBs,
- хексабромциклододекан (HBCDD),
- хептахлор и хептахлор епоксид.

Съгласно Актуализираната Морска стратегия на България, 2021 (в съответствие с Рамковата директива за водите 2000/60/ЕС и Директива 2008/105/ЕС, изменена с Директива 2013/39/ЕС) „Добро състояние на морската околна среда“ е постигнато, когато концентрациите на наблюдаваните замърсители във води и биота са под техните максимално допустими и средногодишни стойности съгласно екологичните стандарти за качество на морската околна среда (СКОС) (Морска стратегия, 2021).

Рамковата директива за водите 2000/60/ЕС и Директива 2008/105/ЕС, изменена с Директива 2013/39/ЕС са транспонирани в националното законодателство чрез Наредба за СКОС за приоритетните вещества и някои други замърсители, приета с ПМС 256/2010г (Морска стратегия, 2021).

Дефиницията за добро състояние на околната среда (ДСОС) за критерий D9C1 се основава на максимално допустимите нива, изисквани от действащото законодателство (Регламент ЕО № 1881/2006, изменен от: Регламент (ЕО) № 1126/2007 г.; Регламент (ЕО) № 565/2008 г.; Регламент (ЕО) № 629/2008 г.; Регламент (ЕО) № 1259/2011; Регламент (ЕО) № 105/2010 г.; Регламент (ЕО) № 165/2010 г.). Оценка на екологичното състояние на морската среда по отношение на опасните вещества традиционно се извършват за всяко вещество

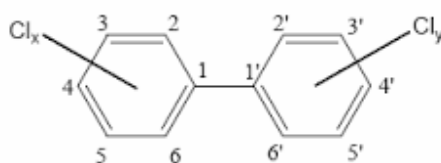
----- www.eufunds.bg -----

поотделно, като се фокусират върху праговете за токсични ефекти, фоновите концентрации и времевите тенденции (OSPAR 2010; EEA 2011).

Оценка на състоянието на морската среда по **Дескриптор 9** (на МС на България) е извършена, съгласно съществуващото законодателство на база събраните проби морски организми от едногодишен мониторинг на приоритетни вещества и специфични замърсители в 46 проби биота от различни райони на българското крайбрежие на Черно море в периода февруари 2021 – май 2022 г.

Получените данни от мониторинга за периода февруари 2021 – май 2022 г. относно концентрацията на приоритетни замърсители в индикаторни морски организми (различни видове риби и миди (*Mytilus galloprovincialis*)), събрани от българското черноморско крайбрежие, са обобщени, статистически анализирани и оценени спрямо пределно допустимите стойности за определяне на добро химично състояние на морската среда.

Полихлорирани бифенили (PCBs) и органохлорни пестициди (OCPs) са сред най-честите замърсители, представени в морската среда. PCBs са смес от 209 конгенери, съставен от два фенилови пръстена с различен брой и местоположение на хлорни атоми в молекулата, което определя техните физико-химични свойства, поведение в околната среда и токсичност.



PCBs могат да бъдат разделени в различни групи и според биохимичните и токсикологичните им свойства. Шест PCB UPAC № 28, 52, 101, 138, 153 и 180 са определени от Европейската комисия като Индикаторни PCBs за оценяване на липофилното замърсяване (Commission EU, 2010). Някои не-орто (PCB 77, 81, 126, 169), моно-орто (105, 114, 118, 123, 156, 157, 167, 189) и ди-орто (PCB 170 и 180) - заместени PCBs показват токсикологични свойства подобни на диоксините и са много стабилни и устойчиви на биоразграждане и метаболизиране. Поради това те често биват наричани „диоксиноподобни PCBs“ – DL-PCBs. DL-PCB са били включени в оценката на риска от диоксини и диоксиноподобни PCBs в храни, извършвани от Научния комитет на ЕС по храните (SCF).

Поради токсичните ефекти на органохлорните съединения при хора и водни организми, използването и продажбата на органохлорни пестициди е забранено или ограничено в много европейски страни от средата на 1970. Въпреки това остатъчни количества се откриват в много екосистеми в различни райони по света, особено в индустриални зони (Binelli and Provini, 2003; Sapozhnikova et al., 2004). DDT все още се използва за контрол на маларийните комари в много страни на света под контрола на Световната здравна организация (WHO, 2007).

При оценката на състоянието на морската среда за замърсители, при които са определени SKOC (или други допустими граници) може да се използва Инструментът за оценка на химичния статус на HELCOM (CHASE) (Andersen et al., 2016), който се основава на изчисление на специфичен за веществото „коефициент на замърсяване“ (CR), който е съотношението между наблюдавана концентрация и прагова стойност. Стойности <1,0 показват области, потенциално „незасегнати“, докато стойности >1,0 показват области, потенциално „засегнати“.

В съответствие с изискванията на член 17 от Рамковата директива за морска стратегия (MSFD 2008/56/EC) (Voicenco et al., 2018), за Дескриптор 9 оценката е направена въз основа на критерий D9C1 „Нивото на замърсители в ядливите тъкани (мускул, черен дроб или други меки части, като подходящи) морски дарове (включително риба, ракообразни, мекотели, водорасли и други морски растения), уловени или добити от естествената среда, не надвишава максимално допустимите нива“.

Съгласно Дескриптори 8 и 9 на Морската стратегия на България и нови мерки съгласно чл. 13 от Рамкова директива за морска стратегия 2008/56/ЕО на РДМС са анализирани осем вида черноморски риби, които имат стопанско значение и са традиционно консумирани в България.

Оценката съгласно Дескриптор 9 на MC е извършена, като се вземат предвид европейските регламенти, които установяват максимално допустими нива на замърсители в риба и други морски организми за консумация от човека: регламент EC по. 1881/2006 - приложимо само за няколко вещества, имащи отношение към този показател: бензо[а]пирен, кадмий, олово и живак и Регламент EC №. 1259/2011 за изменение на Регламент (EC) № 1881/2006 по отношение на максималните нива на диоксини, диоксиноподобни PCB и недиоксиноподобни PCB в храните.

Таблица 3.1. Обобщени резултати (като средни стойности) за нивата на приоритетни и специфични замърсители в проби черноморски риби, период февруари 2021 – май 2022

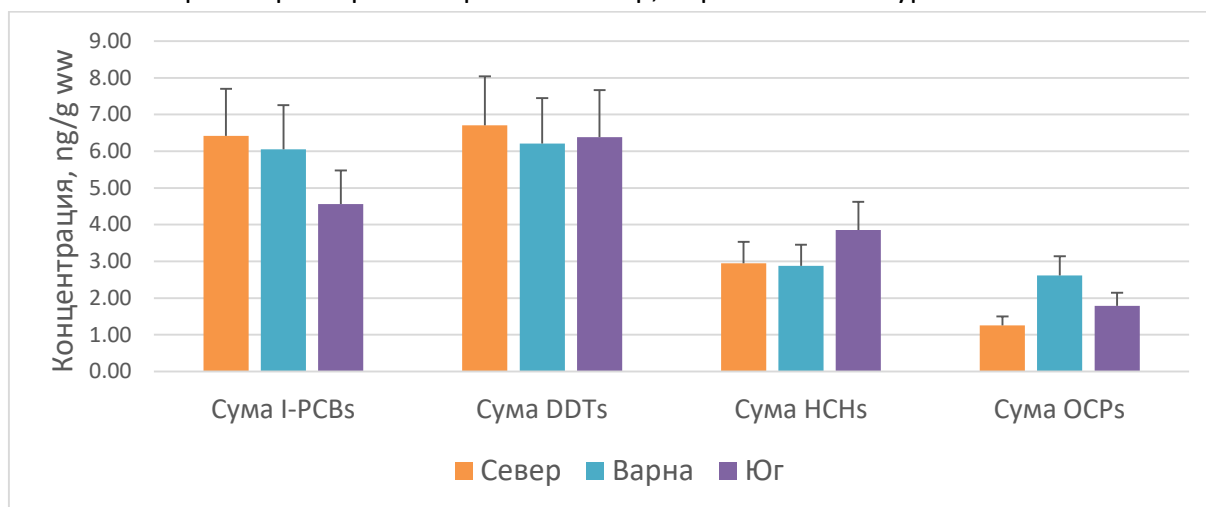
Февруари 2021- май 2022	Сума I-PCBs	Сума DL-PCBs	Сума DDTs	Сума HCHs	Сума OCPs
<i>каля</i>	1,83	0,36	1,74	2,78	1,23
<i>трициона</i>	7,32	3,01	13,72	5,46	2,58
<i>кефал</i>	3,89	0,82	4,55	1,79	1,69
<i>сафрид</i>	4,55	0,93	4,00	2,53	0,41
<i>хамсия</i>	3,60	1,15	4,67	4,98	0,59
<i>калкан</i>	5,42	1,28	7,74	2,93	2,78
<i>чернокоп</i>	15,01	3,25	13,82	2,32	1,03
<i>карагьоз</i>	11,05	3,59	14,75	3,92	0,86

Законодателството на ЕС определя максимална концентрация от 75 ng/g ww мокро тегло за сумата от индикаторните PCB28, PCB52, PCB101, PCB138, PCB153 и PCB180 (I-PCBs). Нито една от пробите риби, изследвани в рамките мониторинга, проведен по проекта, не надвишава регламентираното ниво за PCBs - Таблица 3.1. За DDT и неговите метаболити в Европейското законодателство не е определена пределно допустимо ниво за риба и други морски организми, затова в настоящото изследване е направено сравнение с данни от предишни проучвания както и оценка на замърсяването по райони на вземане на проби.

Анализът на наличните данни за периода февруари 2021 - май 2022г. (N=46) показва, че устойчивите органични замърсители в риби (органохлорирани пестициди, полихлорирани бифенили) показват добро химично състояние в морската среда, като средните стойности са под максимално допустими стойности за човешка консумация, определени от националното и европейското законодателство.

Оценка на състоянието на морската среда по райони за вземане на проби биота

Оценка на състоянието на морската среда по райони на вземане на проби е направена на базата на обобщени данни за средните концентрации на приоритетни замърсители на всички анализирани проби риби от райони Север, Варна и Юг - Фигура 3.1.



Фигура 3.1. Сравнение на средните стойности на индикаторни I-PCBs, DDT и метаболити (DDTs), хексахлороциклохексан (HCHs), и хлорорганични пестициди (OCPs) в пробите риби от райони Север, Варна и Юг.

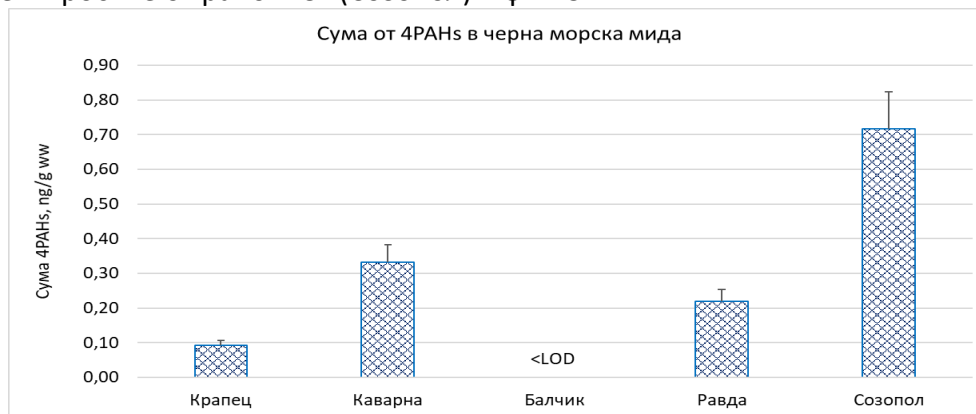
Наблюдават се малко по-високи средни стойности при нивата на полихлорирани бифенили в риби от райони север и Варна, което може да бъде обяснено с известно влияние на морски потоци от северозападната част на Черно море, които са повлияни от вливания от р. Дунав. Статистическият анализ на данните и сравнението по райони на пробовземане показват, че не се установява статистически значима разлика между средните концентрации на индикаторни I-PCBs, DDT и метаболити (DDTs), хексахлороциклохексан (HCHs), и хлорорганични пестициди (OCPs) в пробите риби от райони Север, Варна и Юг ($p > 0.05$).

Оценка на състоянието на морската среда по показателя полициклични ароматни въглеводороди

Оценката на показателя полициклични ароматни въглеводороди в двучерупчести мекотели от търговски интерес (*Mytilus galloprovincialis*), показва във всички случаи добро екологично състояние. Бензо[а]пиренът може да се използва като маркер за наличието и ефектите на канцерогенните PAHs в храните. Четири от полицикличните въглеводороди са определени като индикаторни от EFSA (означени като 4 PAHs - benzo[a]pyrene, benz[a]anthracene, benzo[b]fluoranthene and chrysene). Benzo(b)fluoranthene беше открит в 75% от пробите, докато benzo[a]pyrene, известен като най-токсичният PAH, беше открит само в 33% от анализирания миди. Средната стойност за бензо[а]пирен 0.31 ng/g ww, е под пределно допустимата стойност, определена в ЕС - 5 µg/kg wet weight (=ng/g) в двучерупчести мекотели (Регламент ЕО № 1881/2006 и изменение Регламент (ЕС) 835/2011). За оценка на състоянието на морската среда е определен СКОС за бензо(а)пирен – 5 µg/kg (=ng/g) ww в биота и на базата на резултатите от изследванията, състоянието на морската среда може да се определи като достигнато ДСМОС по този показател (European Commission DIRECTIVE 2013/39/EU).

За двучерупчести мекотели е определено гранично ниво от 30 µg/kg (=ng/g ww) за сумата от 4 PAHs: benzo[a]pyrene, chrysene, benzo[a]anthracene, and benzo[b]fluoranthene (Sum PAH4) (Регламент (ЕС) 835/2011). Резултатите от анализите показват средна стойност на Sum PAH4 в миди от черноморското крайбрежие на България 0,35 ng/g ww.

Направено е сравнение на получените данни за PAHs в проби миди в зависимост от района на пробовземане. Данните показват сравнително по-високи концентрации на замърсителите в пробите от район Юг (Созопол) – фиг. 3.2.



Фигура 3.2. Сравнение на концентрациите на **сума 4PAHs**, ng/g ww в проби миди по район на пробовземане

Относително високите нива на PAHs в пробите миди от Созопол, в сравнение с останалите райони вероятно са вследствие от инцидентен нефтения разлив през 2018 г. от потъналия кораб SS Morang близо до брега на Созопол, докладван от Panteleeva et al., 2021. Това предположение се потвърждава и от високото съотношение LMW/HMW PAH в проби миди от този район, което предполага петрогенен източник на замърсяване (Georgieva et al.,

2022). Вероятно нефтеният разлив от потъналия кораб все още продължава да оказва влияние върху морската биота в района на аварията.

Оценка на състоянието на морската среда по отношение на замърсяването с DDT и метаболити

Техническият DDT (типично използваната смес като инсектицид) се състои от около 85% pp'-DDT, активно вещество, и около 15% op'-DDT със следи от DDE и DDD (ATSDR, 2002). При аеробни условия DDT се разгражда главно до DDE и при анаеробни условия до DDD, като и двете форми са по-стабилни от изходното съединение (Jürgens 2016, Ricking and Schwarzbauer, 2012). Съединението, което обикновено се намира в най-високи концентрации в (аеробната среда) е pp'-DDE. Концентрациите в околната среда често се отчитат като сума от DDT, DDE и DDD, които са известни като DDTs (Sum DDTs).

DDT във водната среда

DDT и неговите метаболити рядко се откриват във води, особено след влизането в сила на ограниченията и забраните за използване на този пестицид. Причината е, че тези съединения са липофилни и се отлагат в седиментите. Концентрациите на тези УОЗ във водата намаляват доста бързо, след като са ограничени или забранени, но концентрациите в седиментите могат да се запазят с десетилетия и замърсяването може да се появи отново в хранителната верига, ако състоянието на тези седименти се промени в резултат на природни явления или човешка дейност (драгажни дейности, разместване на пластове, климатични промени и др.). Подобни инцидентни замърсявания са наблюдавани във водни басейни в Германия, където концентрациите на DDT в змиорките се увеличават рязко след дейности по драгиране, десетилетия след като близката фабрика е спряла обработката на DDT (Heinisch et al., 2007), както и в Италия е наблюдавано увеличаване на DDT в зоопланктона и рибата, свързани с отдавна затворена фабрика за DDT (Bettinetti et al., 2012). В тъканите на рибите концентрациите на DDTs обикновено са дори по-високи, отколкото в седиментите. Следователно рибите са много подходящи за мониторинг на DDT и други устойчиви замърсители във водната среда.

Безопасни нива на DDT в рибите

DDT има редица токсикологични ефекти върху самите риби, както и върху консуматорите им. През 60-те години на миналия век проучвания установяват, че натрупването на DDT по хранителната верига е довело до изтъняване на черупката на яйцата при птиците до нива, при които яйцата често се чупят (Ratcliffe, 1967). При рибите влиянието на DDT и метаболитите са свързани с различни ефекти върху репродукцията и развитието им (Baatrup and Junge, 2001; Bayley et al., 2002; Uchida et al., 2010) поради тяхната структурна прилика със стероидните хормони (Riou et al., 2012) като функциите на щитовидната жлеза (Brar et al., 2010) също могат да бъдат засегнати.

В Европейският съюз няма определени СКОС за биотата за DDT, но има такъв за повърхностни води, който е 25 ng/l за Sum DDT и 10 ng/l за pp'-DDT (Директива ЕС, 2013).

----- www.eufunds.bg -----

Вероятно поради недостатъчно научни данни за нивата на този вид замърсители в биота и токсикологични данни за негативните ефекти върху риби и други водни организми (Jürgens et al., 2016). В законодателството на Канада е определено ниво за остатъци от замърсители в тъкани (т.е. стандарт за качество на околната среда, биота EQS) от 14 mg/kg Sum DDTs, която се основава на риска за рибоядните птици (Canadian Council of Ministers of the Environment, 1999).

В Европейското законодателство има пределно допустимо ниво за DDTs в месо и месни продукти 1000 µg/kg, но не е определено такова за риби. (European Union, 2005).

Съотношение DDE/DDT

Замърсяването с DDT се оценява и въз основа на остатъчните количества от неговите метаболити DDE и DDD.

При мониторинговите проучвания авторите използват съотношението DDE/DDT, за да определят дали замърсяването с DDT е настъпило наскоро или в миналото (Iwata et al., 1993; Tanabe et al., 1997; Fillmann et al., 2002). Тъй като p,p-DDE е метаболит на p,p-DDT (и не присъства в техническия DDT), по-високо съотношение DDE/DDT би означавало използване на технически DDT в миналото, а не текущо замърсяване. Атмосферен пренос от далечни разстояния също може да повлияе на отношението DDE/DDT, защото p,p-DDE има по-ефективен пренос в сравнение с p,p-DDT (Iwata et al., 1993). Редица автори използват също съотношението DDE/Сума DDT за оценка на хронологията на въвеждане на DDT в екосистемите (Tanabe et al., 1997; Bordajandi et al., 2003).

В таблица 3.2. е представено отношението p,p-DDE / Сума DDT по видове риби и по години – сравнение с данни от наши по-ранни проучвания.

Таблица 3.2. Отношение p,p-DDE/Сума DDT по видове риби по години

Година	Кая	Трицона	Кефал	Сафрид	Чернокоп
2007-2011	0.71	0.61	0.63	0.57	0.62
2015	0.69	0.66	0.62	0.62	0.60
2021	0.62	0.64	0.56	0.60	0.60

Най-високо DDE/Сума DDT съотношение установяваме при кая и трицона – средни стойности за целия период на проучване 0.62 и 0.64, съответно. Perugini и съавтори предполагат, че бентосните организми притежават по-голяма метаболитна ефикасност (Perugini et al., 2004) в сравнение с пелагичните видове. Най-ниско отношение DDE/Сума DDT – 0.57 се установява при проби кефал, което се дължи на начина на хранене на този вид риба – с дънни организми, дендрит и отлагания, които са потенциално с по-високи замърсявания на остатъчни метаболити на DDT.

Високото съотношение DDE/СумаDDT при кая (0.62), която е местен вид, обитаващ дънното на крайбрежните райони, предполага че в българския участък няма текущо замърсяване с DDT. Нито една от анализираниите проби кая не съдържат р,р-DDT, а само метаболитите DDE и DDD.

Редица автори предлагат съотношение р,р-DDE/СумаDDT равно на 0.60 в морските бозайници като критична граница за прясна експозиция с DDT (Aguilar et al., 2002). През миналия век Tanabe и съавтори (1997) докладват за р,р-DDE/СумаDDT съотношение при делфин в Черно море 0.46. Тези автори посочват ниското съотношение р,р'-DDE/СумаDDT през този период като аргумент за неотдавнашно въвеждане на DDT в Черно море (Tanabe et al., 1997).

В настоящото проучване р,р-DDE е преобладаващ метаболит във всички изследвани проби, следван от р,р-DDD, а р,р-DDT се открива само в 33% от пробите. Подобни данни са получени при проучвания за съдържание на остатъци от органохлорни пестициди в ракообразни, риби, бозайници и други морски организми от различни райони на Черно море (Tanabe et al., 1997; Covaci et al., 2006; Stoichev et al., 2007). Турски учени са определили DDT и метаболити в няколко вида риба от Мраморно море и са установили отношение р,р-DDE/сумаDDT при различните видове от 0.24 до 0.54 (Coehlan et al., 2006).

Изготвил: доц. Станислава Георгиева, дх

Консултант: проф. Мона Станчева, дхн

Литературни източници:

- Andersen Jesper H., Ciarán Murray, Martin M. Larsen, Norman Green, Tore Høgåsen, Elin Dahlgren, Galina Garnaga-Budrè, Kim Gustavson, Michael Haarich, Emilie M.F. Kallenbach, Jaakko Mannio, Jakob Strand, Samuli Korpinen, 2016. Development and testing of a prototype tool for integrated assessment of chemical status in marine environments. Environ Monit Assess, 188:115, DOI10.1007/s10661-016-5121-x
- ATSDR, 2002. Toxicological Profile for DDT, DDE, and DDD. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Division of Toxicology/Toxicology Information Branch, 1600 Clifton Road NE, E-29, Atlanta, Georgia 30333, USA.
- Baattrup, E., Junge, M., 2001. Antiandrogenic pesticides disrupt sexual characteristics in the adult male guppy (*Poecilia reticulata*). Environ. Health Perspect. 109, 1063-1070. <http://dx.doi.org/10.2307/3454962>.
- Bayley, M., et al., 2002. Exposure of juvenile guppies to three antiandrogens causes demasculinization and a reduced sperm count in adult males. Aquat. Toxicol. 56, 227-239. [http://dx.doi.org/10.1016/S0166-445X\(01\)00210-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0166-445X(01)00210-7).
- Beckvar, N., et al., 2005. Approaches for linking whole-body fish tissue residues of mercury or DDT to biological effects thresholds. Environ. Toxicol. Chem. 24, 2094-2105. <http://dx.doi.org/10.1897/04-284r.1>.
- Bettinetti, R., et al., 2012. Seasonal fluctuations of DDTs and PCBs in zooplankton and fish of Lake Maggiore (northern Italy). Chemosphere 88, 344e351. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.03.009>
- Binelli A., A. Provini. (2003) DDT is still a problem in developed countries: the heavy pollution of Lake Maggiore, Italy. Chemosphere 52 717–723
- Bordajandi L.R., Abad E., Gonzalez M. J., (2008) Occurrence of PCBs, PCDD/Fs, PBDEs and DDTs in Spanish breast milk: Enantiomeric fraction of chiral PCBs, Chemosphere 70 567–575
- Brar, N.K., et al., 2010. Evidence for thyroid endocrine disruption in wild fish in San Francisco Bay, California, USA. Relationships to contaminant exposures. Aquat. Toxicol. 96, 203e215. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2009.10.023>.

----- www.eufunds.bg -----

Проект № BG14MFOP001-6.004-0006 е финансиран от Програмата за морско дело и рибарство 2014 - 2020, съфинансирана от Европейския съюз чрез Европейския фонд за морско дело и рибарство.

- Bayarri S, Baldassarri LT, Iacovella N, Ferrara F, di Domenico A (2001) PCDDs, PCFDs, PCBs and DDE in edible marine species from the Adriatic Sea. *Chemosphere* 43: 601–610. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(00\)00412-4](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(00)00412-4)
- Cappello T, Maisano M, D'Agata A, Natalotto A, Mauceri A Fasulo S (2013) Effects of environmental pollution in caged mussels (*Mytilus galloprovincialis*). *Mar. Environ. Res.* 91: 52–60. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2012.12.010>
- Carere M, Dulio V, Hanke G, Polesello S (2012) Guidance for sediment and biota monitoring under the Common Implementation Strategy for the Water Framework Directive. *Trends in Analytical Chemistry* 36: 15-24. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.03.005>
- Canadian Council of Ministers of the Environment, 1999. Canadian tissue Residue Guidelines for the Protection of Wildlife Consumers of Aquatic Biota. DDT. Excerpt from: Canadian environmental quality guidelines, Winnipeg, Canada. http://www.ccme.ca/publications/ceqg_rcqe.html.
- Coelhan M, Stroheimer J, Barlas H. (2006) Organochlorine levels in edible fish from the Marmara Sea, Turkey. *Environ Int* 32:775–780.
- EC (2011) Commission Regulation (EC) n.835/2011 of 19 August 2011 amending. 2011n. Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels for polycyclic aromatic hydrocarbons in foodstuffs. *Off. J. Eur. Union* L215: 4–8.
- European Commission. Commission Regulation (EU) No 1259/2011 of 2 December 2011 amending regulation (EC) no. 1881/2006 as regards maximum levels for dioxins, dioxin-like PCBs and non dioxin-like PCBs in foodstuffs. *Official Journal of the European Union* 2011; L 320:18–23.
- European Commission, Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 Establishing a Framework for Community Action in the Field of Water Policy, *Off. J. Eur. Comm.*, L327, 2000, p.1.
- European Commission, Directive 2008 /105/ EC of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on Environmental Quality Standards in the Field of Water Policy, *Off. J. Eur. Union*, L348, 2008, p.84.
- European Commission DIRECTIVE 2013/39/EU amending Directives 2000/60/EC and 2008 / 105 / EC as regards priority substances in the field of water policy (2013)
- European Union, 2005. Commission Regulation (EC) No 396/2005, on maximum residue levels of pesticides in or on food and feed of plant and animal origin and amending Council Directive 91/414/EEC. *Off. J. Eur. Commun.* L 70 1-16 (last amended 16.12.2013).
- European Food Safety Authority (EFSA). Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Food-Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain. *EFSA J.* 2008, 6, 724.
- EFSA, 2012 European Food Safety Authority; Update of the monitoring of dioxins and PCBs levels in food and feed. *EFSA Journal* 2012; 10(7):2832.
- EU-SCOOP European Commission,. Scientific Cooperation on Questions Relating to Food. Assessment of dietary intake of dioxins and related PCBs by the population of EU MemberStates, Brussels, Belgium. Task 3.2.5, June 2000
- Georgieva S, Stancheva M, Makedonski L (2016) Investigation about the presence of organochlorine pollutants in mussels from the Black Sea Bulgaria. *Ovidius University Annals of Chemistry* 27: 8–12. <https://doi.org/10.1515/auoc-2016-0006>
- Georgieva SK, Stancheva MD, Peteva ZV, Ivanova TI, Alexandrova AV (2022) Assessment of PAHs accumulation in *Donax trunculus* (Linnaeus, 1758) (Bivalvia, Donacidae) from the Bulgarian Black Sea Coast. In: Chankova S, Peneva V, Metcheva R, Beltcheva M, Vassilev K, Radeva G, Danova K (Eds) *Current trends of ecology*. *BioRisk* 17: 95-104. <https://doi.org/10.3897/biorisk.17.77343>
- Gumus MR, Todorova VR, Panayotova MD (2020) Recent Observations on the Size Structure of *Donax trunculus* Linnaeus. 1758 and *Chamelea gallina* (Linnaeus. 1758) in the Bulgarian Black Sea as Status Indicators of Commercially Exploited Shellfish under the Marine Strategy Framework Directive (MSFD). *Ecologia Balkanica. Special Edition* 3: 63-71. http://web.uniplovdiv.bg/mollov/EB/2020_SE3/063-071_eb.20SE310.pdf
- Heinisch, E., et al., 2007. Persistent chlorinated hydrocarbons (PCHCs), sourceoriented monitoring in aquatic media. 6. Strikingly high contaminated sites. *Fresenius Environ. Bull.* 16, 1248-1273.
- IARC (International Agency for Research on Cancer) (2010) Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. some non-heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons and some related exposures. Lyon. Retrieved from <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol92/mono92.pdf>. Accessed 02 Jan 2018
- Iwata, H., Tanabe, S., Sakai, N., Tatsukawa, R., 1993. Distribution of persistent organochlorines in the oceanic air and surface seawater and the role of ocean on their global transport and fate. *Environmental Science and Technology* 27, 1080–1098.

- Kucuksezgin F, Gonul LT, Pazi I, Ubay B, Guclusoy H (2020). Monitoring of polycyclic aromatic hydrocarbons in transplanted mussels (*Mytilus galloprovincialis*) and sediments in the coastal region of Nemrut Bay (Eastern Aegean Sea). *Marine Pollution Bulletin*. 157: 111358. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111358>
- Panteleeva M, Chamova R, Radeva N, Romanova H (2021) Anthropogenic Disasters on Bulgarian Territory: Chemical Accidents on Land and at Sea, *Journal of IMAB–Annual Proceeding Scientific Papers* 27 (2): 3718-3722 <https://doi.org/10.5272/jimab.2021272.3718>
- Project ANEMONE Deliverable 3.1, 2021. “Hazardous substances assessment in Black Sea biota”, Oros A. [Ed], Ed. CD PRESS, 96 pp. ISBN 978-606-528-531-6
- Ratcliffe, D.A., 1967. Decrease in eggshell weight in certain birds of prey. *Nature* 215, 208e210. <http://dx.doi.org/10.1038/215208a0>.
- Ricking, M., Schwarzbauer, J., 2012. DDT isomers and metabolites in the environment: an overview. *Environ. Chem. Lett.* 10, 317-323. <http://dx.doi.org/10.1007/s10311-012-0358-2>.
- Riou, V., et al., 2012. Impact of environmental DDT concentrations on gill adaptation to increased salinity in the tilapia *Sarotherodon melanotheron*. *Comp. Biochem. Physiology Part C Toxicol. Pharmacol.* 156, 7e16. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbpc.2012.03.002>.
- Sapozhnikova Y. , Ola Bawardi, Daniel Schlenk Pesticides and PCBs in sediments and fish from the Salton Sea, California, USA, *Chemosphere* 55 (2004) 797–809
- Sapozhnikova Y., N. Zubcov, S. Hungerford, L. A. Roy, N. Boicenco, E. Zubcov, D. Schlenk. Evaluation of pesticides and metals in fish of the Dniester River, Moldova. *Chemosphere* 60 (2005) 196–205
- Stancheva M., Georgieva S., Peteva Z., Makedonski L. (2016). POLYCHLORINATED BIPHENYLS IN EDIBLE FISH FROM BLACK SEA, BULGARIA. Materials of XXVI International Coastal Conference "Managing risks to coastal regions and communities in a changing world" , 1-1. DOI: 10.31519/conferencearticle_5b1b93b39d6a08.20094934
- Stoichev T., L. Makedonski, T. Trifonova, M. Stancheva, F. Ribarova. DDT in fish from the Bulgarian region of the Black Sea. *Chem. and Ecology*, Vol.23, No.3, 191-200 (2007)
- Tanabe S, Madhusree B, Amaha AO, Tatsukawa R, Miyazaki N, Ozdamar E, et al. Persistent organochlorine residues in harbour porpoises (*Phocoena phocoena*) from the Black Sea. *Mar Pollut Bull* 1997; 34:338–47.
- Tanabe S and Subramanian A (2006) Bioindicators Suitable for Monitoring POPs in Developing Countries. Kyoto. Japan: Kyoto University Press 1-190.
- Tlili S, Mouneyrac C (2019) The wedge clam *Donax trunculus* as sentinel organism for Mediterranean coastal monitoring in a global change context. *Reg. Environ. Change* 19: 995–1007. <https://doi.org/10.1007/s10113-018-1449-9>
- Uchida, M., et al., 2010. Estrogenic effects of o,p'-DDT exposure in Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *J. Toxicol. Sci.* 35, 605e608. <http://dx.doi.org/10.2131/jts.35.605>.
- WHO, 2007, The use of DDT in malaria vector control, Global Malaria Programme

Оценка на състоянието на морската среда по отношение на замърсяването с токсични елементи

Морските организми могат да бъдат добър хранителен източник на редица важни хранителни вещества, като протеини, полиненаситени дълговерижни мастни киселини, витамин D, витамин B12, йод и селен (Lund 2013; Mohanty и др. 2014; Tilami и Sampels 2018; Aakre и др. 2019). Следователно морските дарове са включени в повечето диетични препоръки като част от здравословната диета (EFSA 2014). Редица проучвания показват, че морските дарове и продуктите от морски организми също могат да бъдат и източник на замърсители като живак, олово, кадмий и арсен, които са токсични и представляват опасност за общественото здраве (Olmedo et al. 2013; Chahid et al. 2014; Zaza и др. 2015). Тези елементи са сред първите 10 елемента в списъка на Агенцията за токсични вещества и регистъра на заболяванията на веществата, които представляват най-значима потенциална заплаха за човешкото здраве (ATSDR 2017).

Токсични елементи са определени в общо 34 проби риби и 12 проби черна морска мида, взети от различни райони на черноморското крайбрежие на България в периода февруари 2021 – май 2022 г. Концентрациите на 11 токсични метали, металоиди и есенциални елементи в минерализирани тъкани от морски организми бяха анализирани чрез спектрометър ICP-MS (индуктивно свързана плазма с масспектрометър).

Получените резултати са обобщени и систематизирани по видове риби и по райони на вземане на проби. Низходящият ред на средните нива на елементите в рибните тъкани е установен, както следва: Zn > Al > As > Mn > Se > Ni > Hg > Pb > Cr > Cd > Co. Съдържанието на живак (Hg) и олово (Pb) в рибите е установено значително по-високо в кая (бентосен вид риба). Най-високи нива на никел и хром са открити в сафрид и варират от <LOD до 0,322 и 0,042 mg/kg, съответно. Арсен (As) е открит във всички проби от риба в диапазона от 0,30 mg/kg (в кефал) до 2,63 mg/kg (в хамсия). Концентрациите на токсичните елементи Cd и Pb във всички видове риби от българското Черноморие са установени в диапазона от <LOD до 0,073 и 0,564 mg/kg (максимум в кая от Черноморец – южната част на българското крайбрежие), съответно и средните нива са под допустимите граници на ЕС и СЗО.

Оценката на състоянието на морската среда по Дескриптор 8 - Замърсители в морската околна среда (Морска стратегия) е направена като получените резултати от анализа на токсични елементи в морски риби и миди (период февруари 2021 – май 2022) са сравнени със стойностите на стандарти за качество на околната среда (СКОС). В Директива 39 на ЕС от 2013 относно СКОС като приоритетни токсични метали са определени кадмий, олово, никел и живак, но стойност за СКОС в биота на този етап е посочен само за Hg.

В Таблицы 3.3. и 3.4. са представени обобщени данни от анализ на живак, олово, кадмий и никел в проби риби. Средната стойност на индикатора – живак, получена за всички проби риби за изследвания период февруари 2021 – май 2022 г е 0,035 mg/kg ww и надвишава определения СКОС за Hg в биота 20 µg/kg ww (= 0,020 mg/kg wet weight). Най-високо е превишаването на СКОС за живак в пробите калкан 0,070 mg/kg ww и чернокоп 0,068 mg/kg. Концентрациите за живак са в диапазона от <LOD до 0,156 mg/kg ww, като в 62% от всички анализирани проби риба резултатите са над СКОС.

Таблица 3.3. Обобщени резултати за средни стойности на приоритетни токсични елементи, mg/kg ww (wet weight)

Вид риба	n	Hg, mg/kg ww	Pb, mg/kg ww	Cd, mg/kg ww	Ni, mg/kg ww
кая	5	0.055	0.12	0.017	0.022
трициона	2	0.018	0.00	0.018	0.072
кефал	4	0.018	0.03	0.013	0.013
сафрид	9	0.025	0.00	0.006	0.322
хамсия	5	0.036	0.08	0.023	0.120
калкан	3	0.070	0.01	0.002	0.140
чернокоп	4	0.068	0.00	0.000	0.000
карагьоз	2	0.043	0.00	0.003	0.000

----- www.eufunds.bg -----

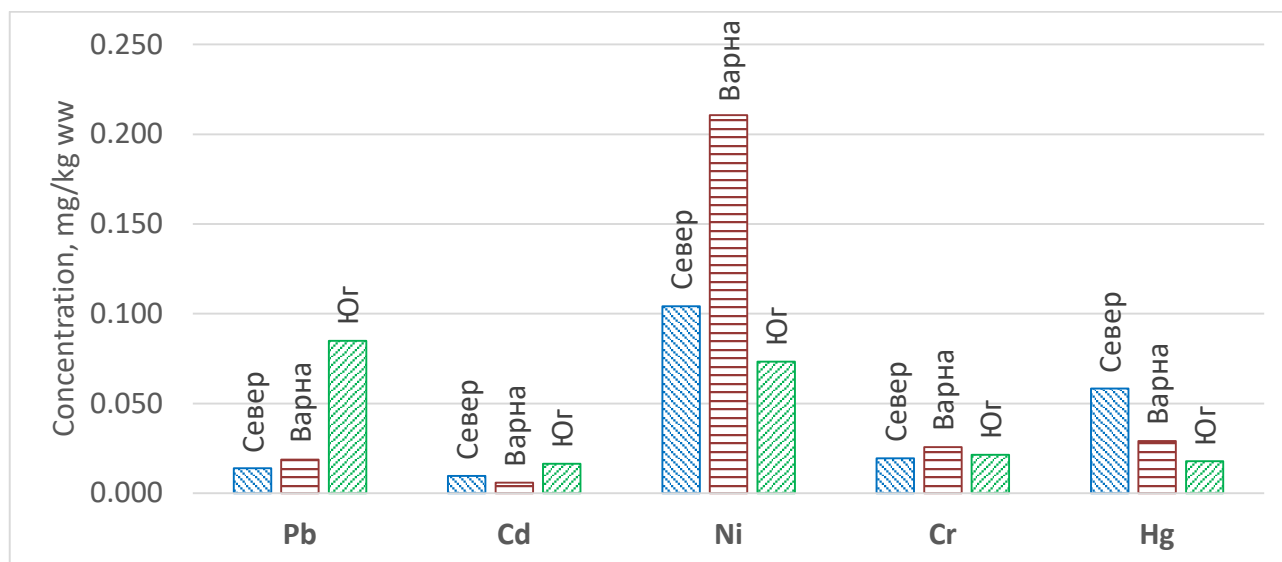
Таблица 3.4. Обобщени статистически данни като средни стойности за концентрации на живак (Hg, mg/kg) във всички анализирани проби риби по райони

Морски район	N	Средна стойност Hg, mg/kg ww	SD	Hg (min), mg/kg ww	Hg (max), mg/kg ww	СКОС, mg/kg ww
Север	16	0.058	0,038	0.012	0.156	0,020
Варна	9	0.029	0,021	0.009	0.075	0,020
Юг	9	0.018	0,010	0.012	0.032	0,020
Общо	34	0.035	-	<LOD	0.156	0,020

Статистическият анализ на данните показва значителна разлика в нивата на живак в проби биота между район Север и райони Варна и Юг ($p=0,045$ и $p=0,001$ съответно).

В заключение можем да обобщим, че състоянието на индикатора живак по Дескриптор D8 - замърсители в морската околна среда за биота е „Не Добро“ в изследваните райони от българското морско крайбрежие. Подобни резултати са установили и изследователи от Румъния и Украйна през 2019 г, които също установяват неколккратно превишение на СКОС за показател живак в проби биота от северозападното крайбрежие на Черно море (Project ANEMONE BSB319). Учени от ИО-БАН докладват за многократно превишение на СКОС за живак в проби стронгил и сафрид от българското крайбрежие в Актуализираната Морска стратегия на България, 2021 г. Определено по този показател проблемът със замърсяване на Черно море е доста сериозен и трябва да се вземат мерки на управленско ниво.

Сравнени са средните нива на токсични и есенциални елементи в морските риби по райони, за да се оцени замърсяването по българското крайбрежие фигура 3.3.



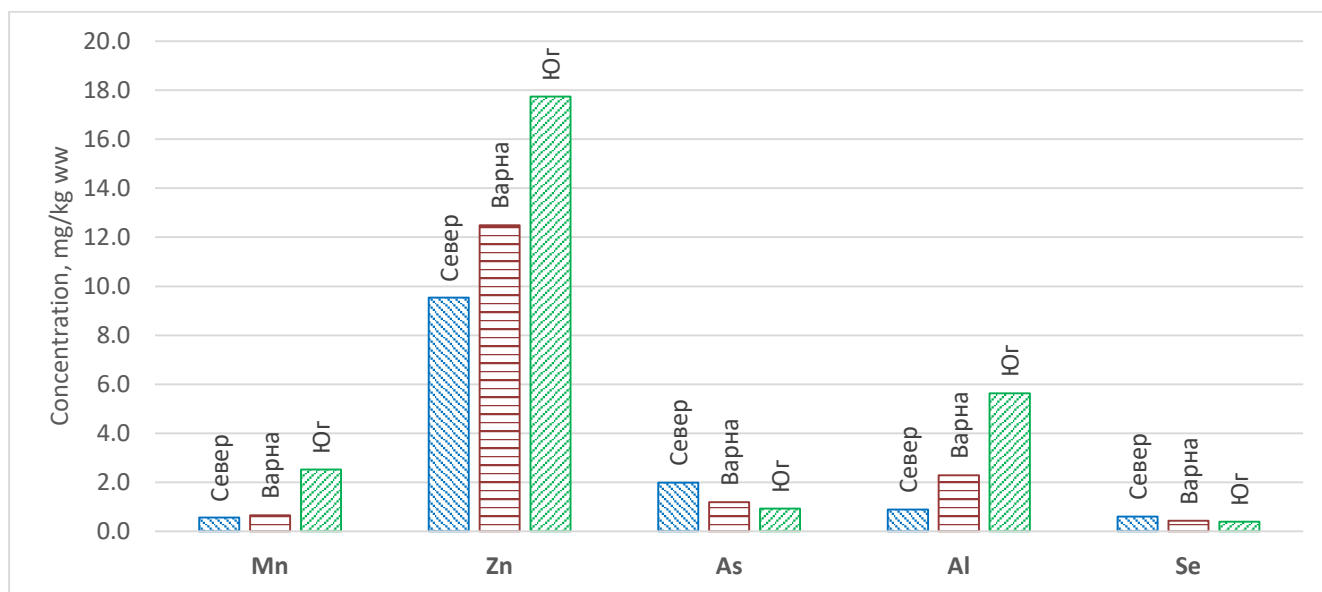
Фигура 3.3. Средни концентрации на токсични елементи в проби риби по райони на вземане на проби

Статистическата обработка на резултатите (като средни стойности от всички анализирани видове риби) от анализите показва следните статистически значими разлики:

Данните за кадмий (Cd) показват по-високо съдържание на елемента в проби риби от район Юг (0,016 mg/kg ww), докато резултатите за никел са по-високи в рибите уловени от район Варна (0,211 mg/kg ww).

Резултатите от анализите на олово (Pb) в рибите от район Юг са значително по-високи (0,085 mg/kg ww) от нивата на олово в пробите от Север и Варна, но статистическа разлика не се доказва, поради голямата вариация в резултатите за отделните видове риби ($p=0,299$).

Сравнението на средните концентрации на елементите манган, цинк, арсен, селен и алуминий в проби риби е представено на Фигури 3.3.1.



Фигура 3.3.1. Средни концентрации на есенциални и токсични елементи в проби риби по райони на вземане на проби

Резултатите от анализите на манган (Mn) в рибите от район Юг са значително по-високи (2,516 mg/kg ww) от нивата на този елемент в пробите от Север и Варна. Статистически значима разлика се доказва между нивата на арсен (As) в пробите риби от Север, които са по-високи от концентрациите на този токсичен елемент в пробите от Юг ($p=0,039$). Подобно на концентрациите на манган, за нивата на алуминий (Al) и цинк са открити по-високи стойности в рибите от район Юг.

Оценката на състоянието на морската среда по Дескриптор 9 - Замърсители в риби и други морски храни (Морска стратегия), е направена чрез сравнение на резултатите за токсични елементи в морски риби и миди с максимално допустимите нива на замърсители в храните, определени с Регламент (ЕО) № 1881/2006 (ЕС, 2006), с изменения. Този регламент е транспониран в националното законодателство в Наредба №5 на МЗ от 2015 г за определяне на максимално допустимите количества на някои замърсители в храните.

Таблица 3.5. Обобщени статистически данни като средни стойности за концентрации на олово, кадмий и живак (mg/kg ww) във всички анализирани **видове риби по райони**

Морски район	N	Hg, mg/kg ww	ML, mg/kg ww	Pb, mg/kg ww	ML, mg/kg ww	Cd, mg/kg ww	ML, mg/kg ww
Север	16	0,058±0,038	0,5	0,014±0,024	0,3	0,009±0,016	0,05
Варна	9	0,029±0,021	0,5	0,019±0,039	0,3	0,006±0,004	0,05
Юг	9	0,018±0,010	0,5	0,085±0,191	0,3	0,016±0,024	0,05

Максимално допустимите нива на замърсители в храните в Европа са определени с Регламент (ЕО) № 1881/2006 (ЕС, 2006), с изменения. Максималните допустимите нива на живак, олово и кадмий в мускулната тъкан на повечето видове риби са съответно 0,5, 0,3 и 0,05 mg/kg ww (мокро тегло). Основният източник на живак в рибата и други морски дарове е под формата на метилживак (MeHg), най-токсичната химическа форма на живак. Не е установено максимално ниво за общ арсен в храните. Арсенът се среща в различни химични форми, като арсенобетайнът е основната форма на арсен в рибата и други морски дарове (Francesconi 2010). Най-токсичната форма на арсен е неорганичният арсен; нивата на неорганичен арсен в морските дарове обаче обикновено са ниски (Francesconi 2010; Julshamn et al. 2012).

Оценка на състоянието на морската среда по отношение на токсични елементи в миди

Резултатите за токсични и есенциални елементи в миди са обобщени и обработени статистически като сравнението по райони е направено на база райони Север и Юг, поради по-малкия брой проби (12 проби миди *Mytilus galloprovincialis*). Район север обхваща местата за вземане на проби по северното крайбрежие до нос Емине, а район Юг - крайбрежието на юг от нос Емине.

Таблица 3.6. Обобщени статистически данни като средни стойности за концентрации на олово, кадмий и живак (mg/kg ww) във всички анализирани видове **миди** по райони

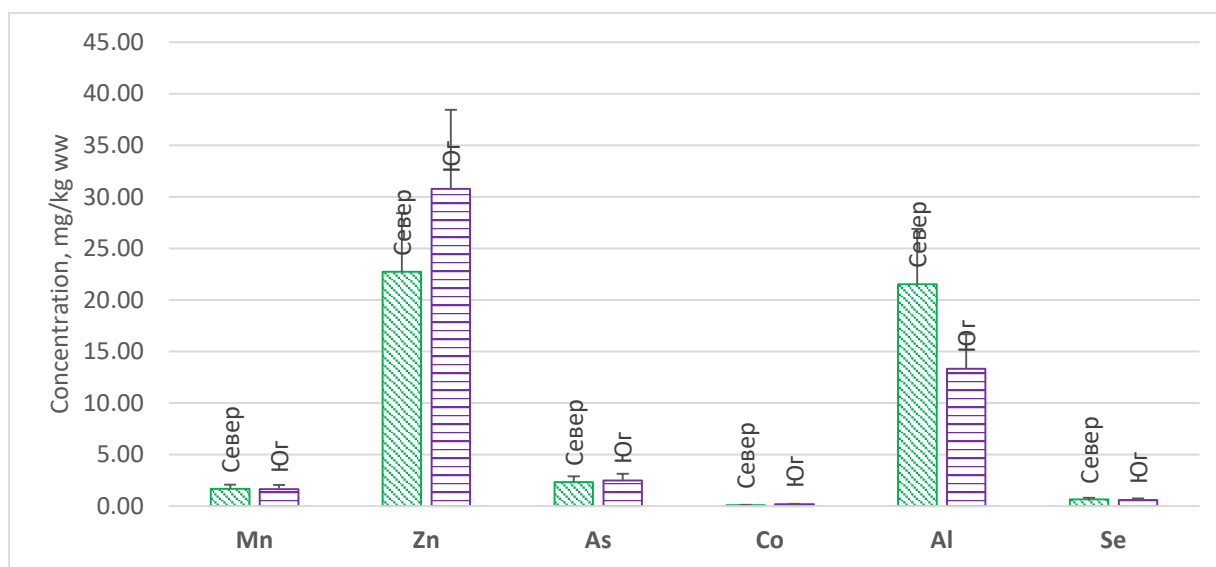
Морски район	N	Hg, mg/kg ww	ML, mg/kg ww	Pb, mg/kg ww	ML, mg/kg ww	Cd, mg/kg ww	ML, mg/kg ww
Север	16	0,018±0,019	0,5	0,13±0,08	1,5	0,34±0,14	1,0
Юг	9	0,003±0,004	0,5	0,10±0,07	1,5	0,56±0,22	1,0

Очаквано, концентрациите на токсичните елементи кадмий и олово бяха установени по-високи в сравнение с нивата в рибите. Мидите като морски организми с филтриращ начин на хранене, имат склонност да акумулират замърсители от морската среда, поради което тези организми са едни от най-подходящите индикатори за оценка на замърсяването на морските

екосистеми. От друга страна обаче концентрациите на живак в мидите са по-ниски в сравнение с нивата в рибите и в 25% от пробите миди този елемент не се открива. Затова сравнението на средните стойности на Hg в миди (0,014 mg/kg) със СКОС за биота показва, че за този вид морски организъм е постигнато добро състояние на морската среда.

Български учени установяват, че нивата на биоаккумуляция на метали в клиновидни миди (*Donax trunculus* Linnaeus, 1758) от северните райони са значително по-високи, като цяло, отколкото в клиновидни миди от южните находища, което показва различни нива на замърсяване с метали в северните и южните български черноморски крайбрежни райони (Bachvarova D, et al., 2022).

Направено е сравнение на средните концентрации на елементите манган, цинк, арсен, кобалт, селен и алуминий в проби риби – Фигура 3.3.2.



Фигура 3.3.2. Средни концентрации на есенциални и токсични елементи в проби миди по райони на вземане на проби

Резултатите от анализите на цинк (Zn) в миди *Mytilus galloprovincialis* от район Юг са значително по-високи (30,77 mg/kg ww) от нивата на този елемент в пробите миди от Север. Статистически значима разлика не се доказва между нивата на арсен (As) в пробите миди от Север, които са съизмерими с концентрациите на този токсичен елемент в пробите от Юг ($p > 0,05$). Установените стойности за алуминий (Al – 21,52 mg/kg ww) в проби миди от Север са открити по-високи от нивата на Al в пробите от район Юг.

Изготвил: Доц. Станислава Георгиева

Консултант: проф. Мона Станчева

Литературни източници:

- Aakre I, Næss S, Kjelleve M, Markhus MW, Alvheim AR, Dalane J, Kielland E, Dahl L. 2019. New data on nutrient composition in large selection of commercially available seafood products and its impact on micronutrient intake. Food Nutr Res. 63:3573. doi:10.29219/fnr.v63.3573.
- ATSDR. 2017. ATSDR's substance priority list - the ATSDR 2017 substance priority list. cited 2019 Jun 27. <https://www.atsdr.cdc.gov/SPL/#2017spl>
- Bachvarova D, Stancheva M, Ignatova-Ivanova T, Ibryamova S, Chipev N, Alexandrova A (2022) Trace metal accumulation in tissues of wedge clams from sandy habitats of the Bulgarian Black Sea coast. In: Chankova S, Peneva V, Metcheva R, Beltcheva M, Vassilev K, Radeva G, Danova K (Eds) Current trends of ecology. BioRisk 17: 73-81. <https://doi.org/10.3897/biorisk.17.77290>
- Chahid A, Hilali M, Benlhachimi A, Bouzid T. 2014. Contents of cadmium, mercury and lead in fish from the Atlantic sea (Morocco) determined by atomic absorption spectrometry. Food Chem. 147:357–360. doi:10.1016/j.foodchem.2013.10.008.
- Commission Regulation (EC). (2006). No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs official journal of the European union, L 364/5. cited 2019 Jun 26. <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX%3A32006R1881>
- EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). 2012. Scientific opinion on the risk for public health related to the presence of mercury and methylmercury in food. Efsa J. 10 (12):2985. [241 pp.], Available online: www.efsa.europa.eu/Efsajournal
- European Commission, Directive 2008 /105/ EC of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on Environmental Quality Standards in the Field of Water Policy, Off. J. Eur. Union, L348, 2008, p.84.
- European Commission DIRECTIVE 2013/39/EU amending Directives 2000/60/EC and 2008 / 105 / EC as regards priority substances in the field of water policy (2013)
- Francesconi KA. 2010. Arsenic species in seafood: origin and human health implications. Pure Appl Chem. 82 (2):373–381. doi:10.1351/PAC-CON-09-07-01.
- Julshamn K, Nilsen BM, Frantzen S, Valdernes S, Maage A, Nedreaas K, Sloth JJ. 2012. Total and inorganic arsenic in fish samples from Norwegian waters. Food Addit Contam: Surveillance. 5(4):229–235. doi:10.1080/19393210.2012.698312.
- Lund EK. 2013. Health benefits of seafood; is it just the fatty acids? Food Chem. 140(3):413–420. doi:10.1016/j.foodchem.2013.01.034.
- Mohanty B, Mahanty A, Ganguly S, Sankar TV, Chakraborty K, Rangasamy A, Paul B, Sarma D, Mathew S, Asha KK, et al. 2014. Amino acid compositions of 27 food fishes and their importance in clinical nutrition. J Amino Acids. Article ID 269797. 2014:7. doi:10.1155/2014/269797.
- Næss, S., Aakre, I., Lundebye, A. K., Ørnsrud, R., Kjelleve M., Markhus, M. W., & Dahl, L. (2020). Mercury, lead, arsenic, and cadmium in Norwegian seafood products and consumer exposure. Food additives & contaminants. Part B, Surveillance, 13(2), 99–106. <https://doi.org/10.1080/19393210.2020.1735533>
- Olmedo P, Pla A, Hernández AF, Barbier F, Ayouni L, Gil F. 2013. Determination of toxic elements (mercury, cadmium, lead, tin and arsenic) in fish and shellfish samples. Risk assessment for the consumers. Environ Int. 59:63–72. doi:10.1016/j.envint.2013.05.005.
- Project ANEMONE BSB319 “Assessing the vulnerability of the Black Sea marine ecosystem to human pressures” coordinated by the National Institute for Marine Research and Development “Grigore Antipa”, Romania
- Tilami SK, Sampels S. 2018. Nutritional value of fish: lipids, proteins, vitamins, and minerals. Rev Fish Sci Aquacult. 26 (2):243–253. doi:10.1080/23308249.2017.1399104.
- Zaza S, de Balogh K, Palmery M, Pastorelli AA, Stacchini P. 2015. Human exposure in Italy to lead, cadmium and mercury through fish and seafood product consumption from eastern central atlantic fishing area. J Food Compos Anal. 40:148–153. doi:10.1016/j.jfca.2015.01.007.

Поддейност 2: Сравнение на получените резултати за антропогенни и биогенни замърсители в морската среда с данни от собствени проучвания

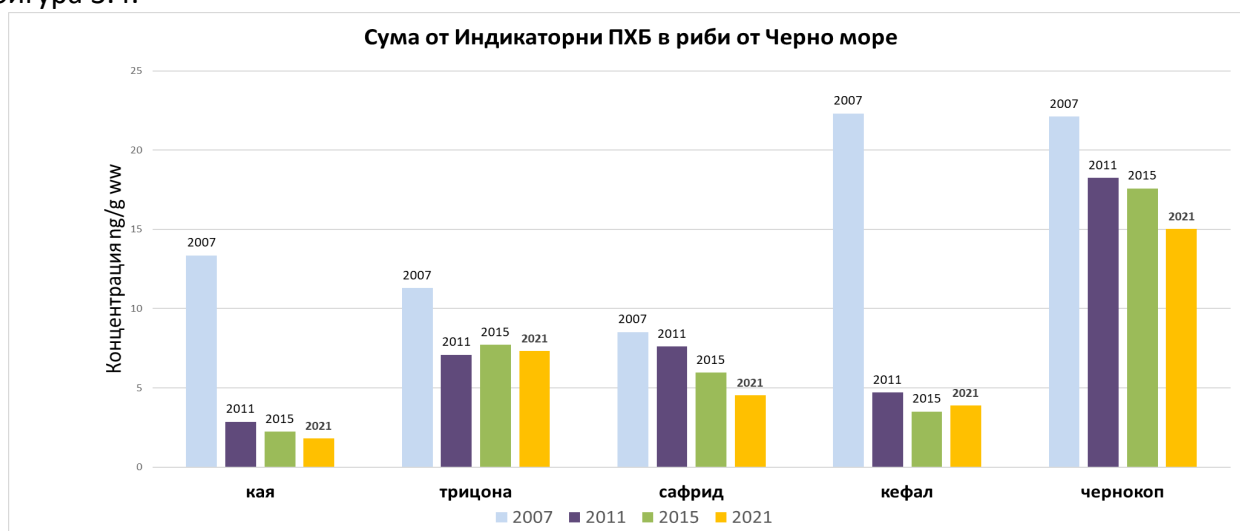
Времеви тенденции в нивата на приоритетните замърсители в морски организми

Според целите на Морската стратегия на България, добро екологично състояние на морската среда трябва да се постигне и чрез трайно намаляване на нивата на устойчивите органични замърсители във времето. Затова е необходимо периодично да се извършват изследвания на морската околна среда, като е най-подходящо да се анализират морски организми (биота) (Tanabe, 2006; Carrere et al., 2018), които са индикатори на състоянието според Дескриптори 8 и 9 на 2008/56/ЕО на РДМС. За оценката на състоянието на морските води е важно да се проследи промяната в нивата на замърсителите за голям период от време. Съгласно дескриптор 9 е препоръчително мониторинг на приоритетни химични замърсители да се извършва на всеки пет години. Важно е да се потвърди тенденцията за трайно намаляване на замърсителите в Черно море, което е и цел на Морската стратегия на Република България. Ниските нива на замърсители са критерий за добро екологично състояние и предпоставка за запазването на биоразнообразието в морската среда.

Изследователският екип на катедра Химия работи по темата за замърсяване на Черно море повече от десет години и разполага с данни за нивата на приоритетни замърсители в морски организми за периода от 2007 до 2011 г (проект ДВУ440/2008 Фонд научни изследвания) и от мониторинг проведен през 2015 година, в изпълнение на проект, финансиран от Финансовия механизъм на европейското икономическо пространство и МОСВ. Проектите са успешно реализирани от научния екип на катедрата.

Получените резултати от проведения по проекта мониторинг в периода февруари 2021 – май 2022 г са сравнени с данни от собствени анализи на Лабораторията по морски ресурси и аквакултури, проведени в изпълнение на успешно реализирани проекти, за да се проследят времевите тенденции в нивата на замърсителите за голям период от време.

Времевите тенденции в нивата на Полихлорирани бифенили (PCBs) са проследени чрез сравнение на данни за PCBs през различни периоди на изследване на черноморски риби - фигура 3.4.



Фигура 3.4. Сравнение на средните стойности на индикаторни I-PCBs в проби черноморски риби по години в периода 2007 - 2021

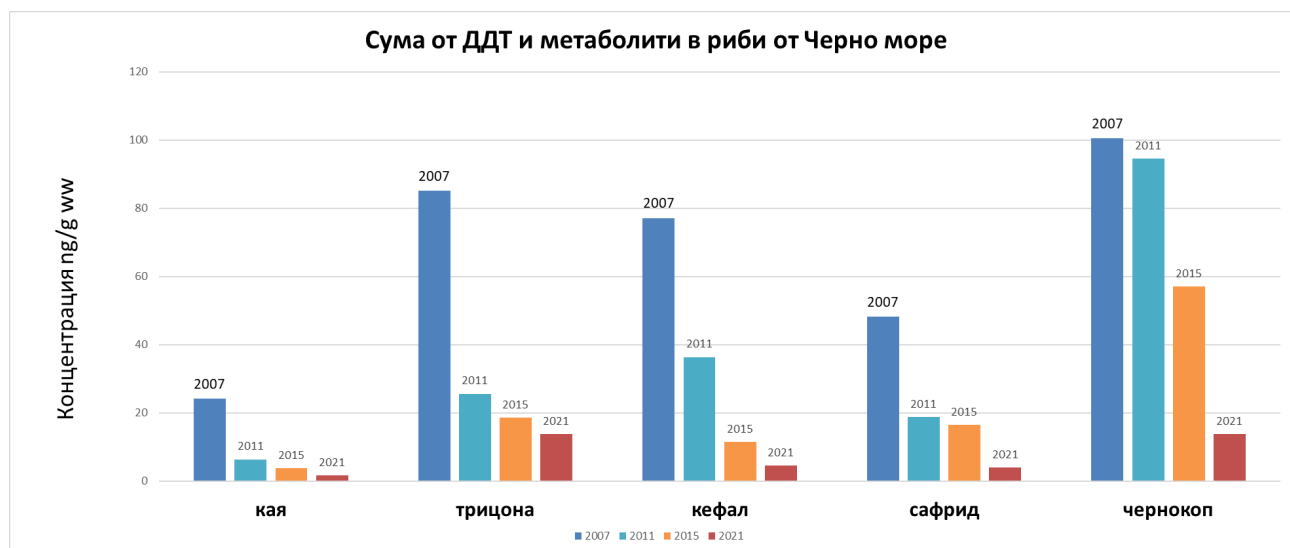
www.eufunds.bg

Направеното сравнение показва, че при местните видове риби кая, трикона, сафрид, кефал се наблюдава тенденция към намаляване на нивата в сравнение с 2007 г. При кефал сравнението на данните от 2021 г с тези от 2015 г показва леко повишение, което се дължи на специфичния начин на хранене на този вид риба – с дънни организми и отлагания. Известно е, че устойчивите органични замърсители (УОЗ), включително PCBs) се отлагат в седиментите. Кефалът е вид, хранещ се главно с органична материя, както и с планктон, бентосни организми и водорасли (Stancheva et al., 2016). Видовете, които обитават морското дъно са склонни да натрупват тези замърсители, затова и видовете, които се хранят с тях са потенциално изложени на риск от прием на УОЗ.

Нивата на PCBs в мигриращия вид риба чернокоп, установени през 2021 също показват тенденция към намаляване в периода 2007 – 2021. Това е обнадеждаващ резултат по отношение на оценката на състоянието на морската среда в Черно море, защото този вид през различни периоди от годината обитава крайбрежията на Турция и Румъния и може да се използва за индикатор на състоянието за Черноморската екосистема.

Времеви тенденции на нивата на DDT и метаболитите DDE и DDD (DDTs)

На фигура 3.5. е представено сравнение на данни за DDTs през различни периоди на изследване на черноморски риби.



Фигура 3.5. Сравнение на средните стойности на Сума DDT и метаболитите DDE и DDT в проби черноморски риби по години в периода 2007 -2021 г

Подобни тенденции се наблюдават и при други приоритетни замърсители обект на изследване на мониторинга през 2021-2022 г. За DDT и неговите метаболити данните са сравнени с нивата на този замърсител през 2007, 2011 и 2015 г. Резултатите показват ясно изразена тенденция към намаляване на нивата на DDTs както при местните видове, така и при чернокоп.

Сравнение на данни за нивата на хексахлоробензен

Сравнението на данните от анализ на хексахлоробензен в проби черноморски риби през 2015 година (1,66 ng/g ww) показва намаление на нивата на този вид замърсител през 2021 г - средна стойност 0,67 ng/g ww. През 2015 г са анализирани сладководни видове риба от р. Дунав – средните нива на ХХБ са 2,38 ng/g ww. Преди 2015 г няма данни за този приоритетен замърсител.

Сравнение на резултатите за миди

През 2015 г при изпълнение на научен проект (МОСВ 2015) са анализирани DDT и метаболити в 8 проби черна морска мида от черноморското крайбрежие на България – средна стойност 2,02 ng/g ww. Средната стойност на нивата на DDTs в проби черна морска мида, събрани от различни райони на крайбрежието на Черно море на България през 2021 е по-ниска 1,49 ng/g ww.

Изготвили:

Доц. Станислава Георгиева, дх

Проф. Мона Станчева, дхн

Изследване динамиката на нивата на морски биотоксини в планктон и миди

Микроводораслите са основният източник на храна за мидите (Brown et al. 2002; Pleissner et al. 2012), но някои видове микроводорасли се определят като токсични. Тези видове фитопланктон са склонни да произвеждат мощни токсини, които се натрупват в следващите нива на хранителната верига. Всяка година в българските крайбрежни води се регистрират потенциални продуценти на морски токсини (Pseudo-nitzschia, Alexandrium, Dinophysis) (Dzhembekova et al. 2021; Dzhembekova et al. 2022). Морските токсини преминават през хранителната верига до по-високите трофични нива и могат да причинят тежки заболявания. Широка гама от симптоми, от световъртеж, храносмилателни (гадене и повръщане) до нервни оплаквания, са свързани с човешката интоксикация от биотоксини, характеризиращи различни и специфични синдроми, с общо наименование „отравяния с миди“. **Оценката на риска от инцидентната поява** на токсигенен фитопланктон и натрупването на токсините в мидите, например, се усложнява от факта, че нивата на токсини в пробите от планктон не винаги корелират с биомасата и изобилието на потенциално токсигенни видове.

Проследяването на динамиката в нивата на морските биотоксини в планктон и миди е направено като резултатите от анализите на морски биотоксини по Дейност 2 са сравнени данни от предишни изследвания.

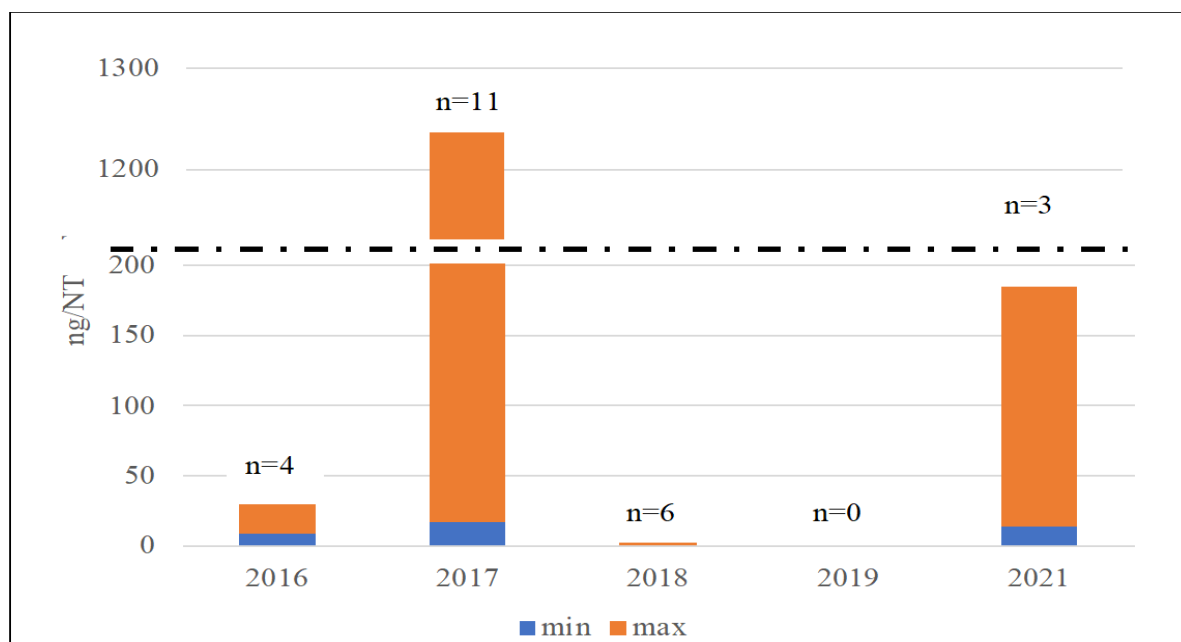
Изследвани са следните токсини в пробите планктон и миди – хидрофилни: домоена киселина (domoic acid (DA)) и липофилни: гоиодомин А (goniodomin A (GDA)), окадаена киселина (okadaic acid (OA)), динофизистоксини (dinophysistoxins -1 and 2 (DTX1,2)), пектенотоксини (pectenotoxins (PTX2, PTX2-sa, epi-PTX-sa)), йесотоксини (yessotoxins (YTX, OH-YTX)), азаспирациди (azaspiracid-1 (AZA1)), спиролид-1 (spirolides (SPX1)) и гимнодимин А (gymnodimine A (GYMA)) по метода на Krock et al. (2008) на течнотрохроматографска система (LC-MS/MS system).

----- www.eufunds.bg -----

Анализ на динамиката на морски биотоксини в пробите планктон

Резултатите, получени при изпълнение на Дейност 2 показват, че само 14% от пробите планктон са положителни за DA и само 9% за РТХ2. DA присъства в пролетни и есенни проби планктон от райони с интензивен риболов и антропогенни дейности. Pectenotoxin-2 е открит в пролетна и есенна проба съответно от район с антропогенна дейност и защитен район.

Сравнението на резултатите с резултатите, получени от предишни проучвания на проби планктон в същите региони (Peteva et al. 2018; Peteva et al. 2020) показва, че през 2016 г. DA е установена в 57% от пробите, през 2017 г. в 41%, в 2018 г. – 17% от пробите, а през 2019 г. – в нито една от пробите. През 2017 г. и 2018 г. изследваните проби от планктон са много повече, отколкото през 2016 г. и 2021 г. Сравнението на обхвата на концентрацията на положителните проби показва голяма променливост между различните периоди на изследване (Фиг. 3.6).

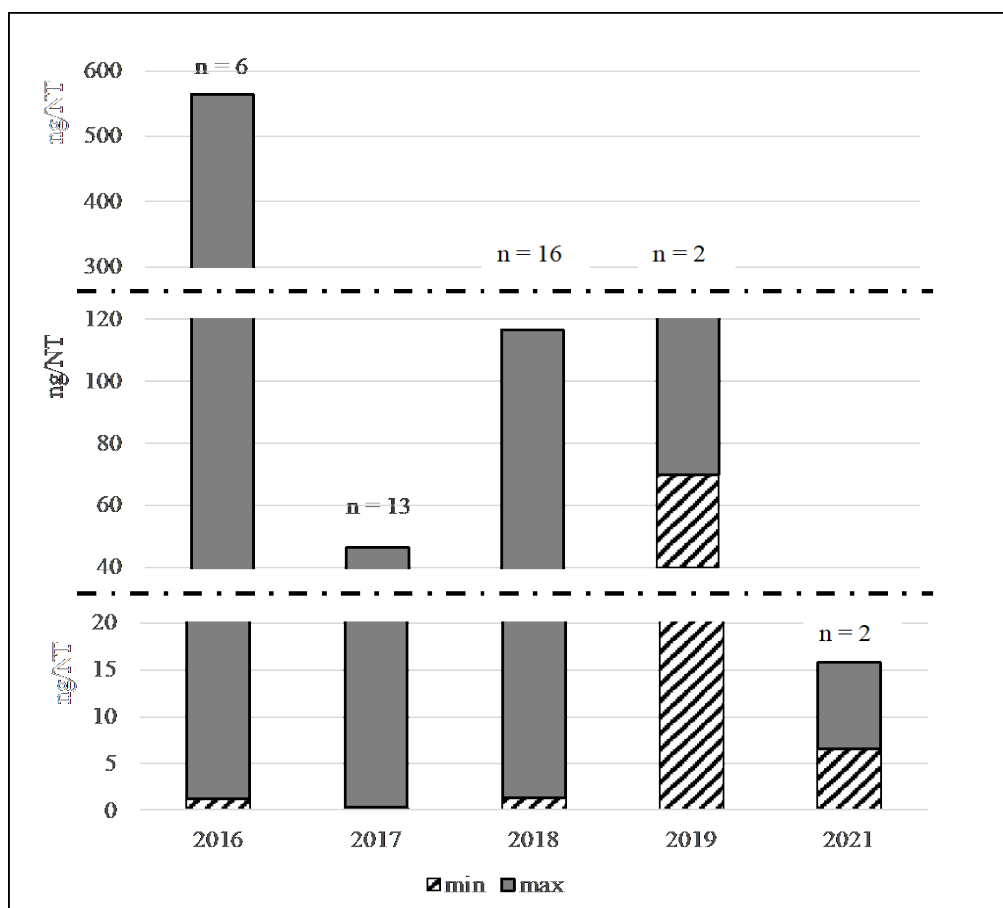


Фигура 3.6. Сравнение на нивата на DA с предишни проучвания (n- показва броя на положителните проби)

Двете положителни проби планктон, съдържащи РТХ2 от 2021 г. представляват 10% от всички проби. В предишни проучвания делът на положителните проби е много по-висок – 86% през 2016 г., 48% през 2017 г., 47% през 2018 г. и през 2019 г. – 67% от пробите. Освен това, в този предишен период на изследване диапазоните на концентрация на РТХ2 в пробите планктон са много по-широки (Фиг.3.7).

Редица фактори от биогенен и предимно антропогенен характер оказват негативно влияние върху състоянието на околната среда в този район на страната (Kotsev et al. 2021). Природните фактори, предизвикани в редица случаи от антропогенната дейност, са основно абразия, свлачища, наводнения на крайбрежието от морето и изменение на климата (Penchev 2019).

Антропогенните дейности и технологичният напредък обикновено се изтъкват като обяснение за нарастващата поява, честота и интензивност на вредния цъфтеж на микроводорасли, откриването на нови токсини или появата на токсини в региони, където преди това не са били известни (Costa 2019; Otero et al. 2022). В това отношение изследването и сравнението на токсиновите профили на пробите планктон от места за риболов и с интензивни антропогенни дейности, както и от места за отглеждане на миди (мидени ферми), изглеждат основателни и информативни.



Фигура 3.7. Сравнение на нивата на PTX2 в проби планктон с предишни изследвания

Крайбрежните защитени зони в България са създадени с национални политически инструменти/законови актове и директиви на ЕС за защита на широк спектър от природни и културни ресурси (Stancheva et al. 2016). В тези райони всякакъв улов и промишлени дейности са забранени от закона (Министерство на регионалното развитие и благоустройството 1998). Съответно, за целта на изследването, защитените зони се считат за контролни места в това проучване.

Резултатите показват, че в 33% от пробите планктон от зоните с антропогенна дейност и в 50% от пробите от зоните с интензивен риболов са открити морски биотоксини. В пробите от мидените ферми и в една проба от защитена територия не са открити токсини. Допълнителна интерпретация на резултатите би била възможна, ако изследването се повтори в бъдещ период.

Интересното е, че два други морски токсина са открити в пробите планктон в предишни периоди – YTX и SPX1. Йесотоксините са регистрирани в пробите от 2016-2018 г. Концентрационният диапазон е много голям – 0,001 – 1,959 ng/NT. В настоящото проучване не са открити YTX в пробите планктон. Малкият брой положителни проби в предходния период, както и липсата им в този, най-вероятно се дължи на факта, че йесотоксините са екзотоксини. Веднъж синтезирани, те бързо се освобождават в околната среда и следователно са трудни за определяне в пробите от планктон (Hess & Aasen 2007). Например, Krock et al. (2013) също изследват нивата на липофилни токсини по крайбрежието на Германия и Дания, но йесотоксини не са определени.

Предишно изследване показва, че SPX1 е регистриран в пробите от лято-есен 2018 г. в диапазон на концентрация от 0,054-0,245 ng/NT. В това проучване не са регистрирани спиролиди. Този резултат може да бъде свързан с ниски нива или дори липса на *A. ostentifeldii*, тъй като производството на SPX 1 е свързано с този вид (Van Wagoner et al. 2011; Guinder et al. 2018).

Това допълнително засилва убеждението, че производството на токсини от планктона е непредсказуем феномен (Kremp et al. 2019) и проучванията върху него трябва да продължат.

Анализ на динамиката на морски биотоксини в проби миди

Изследванията на морски биотоксини в проби миди в предишни периоди показват наличието на липофилни токсини в миди (Peteva et al., 2018b; Peteva et al., 2020; Dzhenbekova et al., 2022). Също така някои други токсини като AZA, GDA, GYM и SPX1 се откриват сравнително често в европейските морета (Zurhelle et al., 2018; Kremp et al., 2019; Bacchiocchi et al., 2020; Tillmann et al., 2020; Lamas и др., 2021; McGirr и др., 2021). Тъй като тези съединения обикновено се регистрират в много ниски концентрации, важно е да се постигнат подходящи граници на откриване (LOD) (Табл.3.7). Въпреки това, в изследваните проби са регистрирани само PTX2, PTX2-sa, epi-PTX2-sa, YTX и OH-YTX в малки концентрационни диапазони. Сред откритите токсини, YTX достига най-високото ниво (0,122 µg/g в проба ME1), а epi-PTX2-sa най-ниското ниво (0,0012 µg/g в проба ME46).

Таблица 3.7. Граници на откриване (LOD) и нива на определените токсини в изследваните проби миди

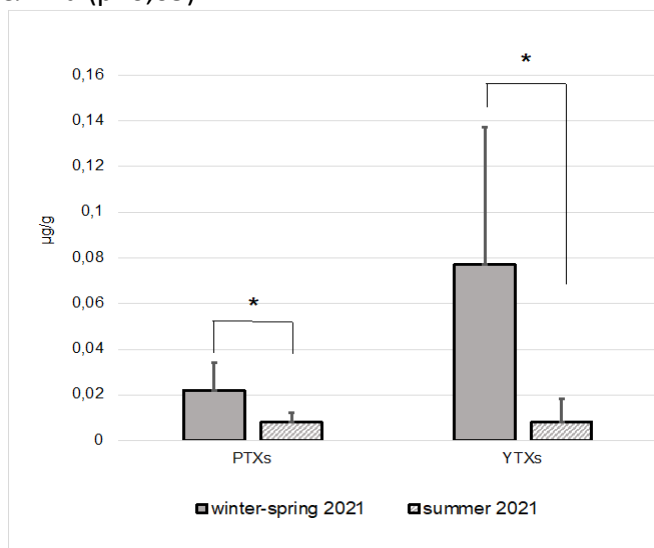
Изследвани токсини	LOD, µg/g	Бр положителни проби	Концентрационен диапазон на положителните проби, µg/g
DA	0,0012	0	nd
OA	0,0062	0	nd
DTX2	0,0088	0	nd
DTX1	0,0144	0	nd
PTX2	0,0009	2	0,0015-0,0016
PTX2-sa [†]		17	0,0014-0,0295
Epi-PTX2-sa [†]		16	0,0012-0,0140
GDA	0,0073	0	nd

YTX	0,0240	7	0,0280-0,1222
ОН-YTX [†]		8	0,0261-0,0750
AZA1	0,0002	0	nd
GYMA	0,0004	0	nd
SPX1	0,0006	0	nd

[†] не е наличен референтен материал за PTX2-sa, Epi-PTX2-sa и ОН-YTX, използвана е LOD на PTX2 и YTX за количествено определяне, nd- не се открива

Влиянието на сезонните промени в условията на средата върху метаболитните процеси на мидите често се определя като взаимовръзка между екологични и биологични фактори. Въз основа на очевидното увеличение на нивата на тежки метали (Azizi et al., 2018; 2021) и полициклични ароматни въглеводороди (Grigoriou et al., 2021) през зимата, дори се предлага мидите да могат да се използват като биоиндикатор за замърсяване и мониторинг. По отношение на морските биотоксини се предполага, че динамиката на фитопланктона, отговорна за производството на токсини, се определя главно от температурата и солеността (Dhanji-Rapkova et al., 2018; Draredja et al., 2019).

В настоящото проучване изследвахме сезонните промени в нивата на РТХ и YTX в пробите миди (фиг.3.9). Установено е, че и за двете групи токсини – РТХs и YTXs зимно-пролетните нива на токсините са значително по-високи от летните. Установена е статистически значима разлика ($p < 0,05$).

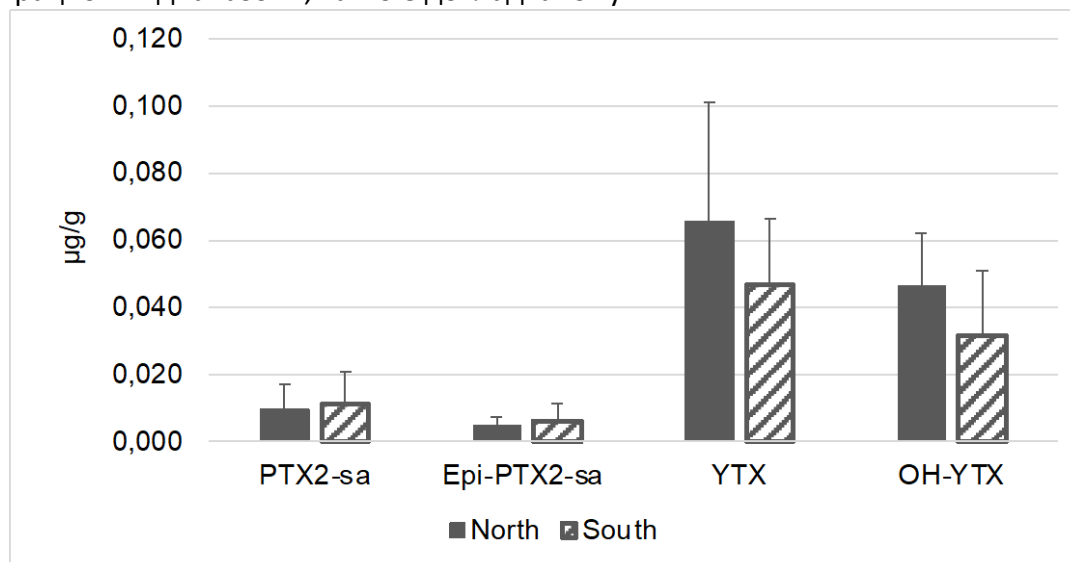


Фигура 3.9. Средни нива на определените токсини в пробите миди по сезони (* означава, че $p < 0,05$)

Пектенотоксини са открити преди това в проби от миди от българския бряг, както и в проби от планктон (Peteva et al., 2018a; 2018b; Peteva et al., 2020; Dzhenbekova et al., 2022) в по-ниски нива. Това предполага постоянната наличност на микроводорасли, произвеждащи РТХ. В цитираните изследвания се установява подобна сезонна закономерност – нивата на РТХ се увеличават през студените месеци. В друго проучване, проведено през зимните сезони на 2019 и 2020 г., РТХ2 се отчита в 0,92% (Mudadu et al., 2021), но нивата на токсина са повече от 2 пъти по-високи, отколкото в настоящото проучване.

YTX са открити и в проби от миди през предишни периоди в същия регион – през пролетта на 2017 г. и лятото-есента на 2017 г. в сравними концентрации и не са открити в пробите зима-пролет от 2018 г. (Peteva et al., 2018a; 2018b; 2020). Производни на YTX са регистрирани в проби от планктон от пролетта на 2019 г. (Dzhembekova et al., 2022). В последното проучване се предполага, че вариантите на YTX показват различни връзки с променливите на околната среда (температури, соленост, прозрачност на водата и флуоресценция), които могат да представят специфичен профил на токсини в Черно море.

В настоящото изследване, крайбрежието е разделено на два основни района – северен и южен. Това е направено поради различните хидрографски условия и нива на физикохимичните параметри (Dimitrov et al., 2019; Pavlova et al., 2020). В двата региона бяха открити както пектенотоксини (PTX), така и йесотоксини (YTX). Средните нива на PTXs са по-ниски от YTXs (фиг.3.10). Средните нива на PTX2-sa и epi-PTX2sa в двата региона са сходни. Нивата на YTX и OH-YTX са малко по-високи в пробите от Север, но не е установена статистическа значимост ($p>0,05$). Rubini et al. (2021) провеждат проучване върху много повече проби от миди от Северозападно Адриатическо море. Получените резултати имат подобни концентрационни диапазони, както е докладвано тук.



Фигура 3.10. Средни нива на PTXs в YTXs в двата района на изследване

Резултатите, получени в това проучване, включително стойностите под LOD, показват, че нивата от морски биотоксини не са тревожни. Това предполага, че може да се очаква добро качество на миденото месо. В пробите миди от българското крайбрежие са открити различни PTX и YTX. Установените концентрации варират значително във времето, но не и между регионите на изследване. Мониторингът на вредния фитопланктон и биотоксините трябва да продължи и в бъдеще, за да може да се реагира навреме, за да се предотвратят негативните последици, които могат да бъдат причинени от биотоксините.

Изготвил: Златина Петева

АКУМУЛИРАНЕ НА ПРИОРИТЕТНИТЕ ЗАМЪРСИТЕЛИ В ТРОФИЧНИТЕ НИВА

Реакцията на морските организми на експозиция на УОЗ като PCBs и конгенери варира в широки граници, вероятно отразявайки не само вариациите в чувствителността, но и различни механизми на действие или селективен метаболизъм на отделните конгенери. УОЗ са склонни към биоусилване в хранителната верига (Binelli and Provini, 2003; Burreau et al., 2004), достигайки по-голяма токсичност при по-високи трофични нива, като например при рибоядни и риби с високо съдържание на мазнини (напр. *A. anguilla*).

Разпределението на УОЗ в морските организми зависи от редица биологични фактори, които също могат да повлияят на процесите на разпространение и в крайна сметка биоувеличаването на УОЗ. Фактори като: биоаккумуляция, физико-химични свойства на замърсителите, молекулно тегло (по-големите молекули могат трудно да преминат през клетъчната мембрана), функционални характеристики на вида (Sara et al., 2014), хранително поведение и диета, степен на детоксикация/елиминиране, локални или далечни източници на замърсяване и т.н. всички играят важна роля (Corsolini S, 2017).

Биоусилването (биомагнификацията) на УОЗ корелира с Kow и възниква, когато $Kow > 105$ като „физическо-химическото разпределение на замърсителите е основната причина за биоаккумуляцията и този ефект се променя значително от кинетиката на усвояването от храната“ (Mackay and Fraser, 2000). Основният резултат от действието на тези фактори, включващи всички физически, химични, биологични и екологични аспекти, е значителната връзка между трофичното ниво и концентрацията на УОЗ, но тази връзка е различна между различните региони.

Фактор на биомагнификация BMF е изчислен като отношение между концентрациите на замърсителите в морските организми хищник и плячка (Sun et al. 2017):

$$BMF = C_{predator} / C_{prey}$$

Където $C_{predator}$ и C_{prey} са концентрацията на OCPs в рибата – хищник и съответно в рибата – плячка.

В настоящото проучване стойностите на BMF за различни групи устойчиви органични замърсители бяха изчислени чрез връзката на видовете в хранителната верига (хищник – плячка). Използвани са резултати от мониторинга проведен в изпълнение на дейностите по проекта като са приложени средни стойности за всеки замърсител в съответния вид риба. Стойност на BMF, по-голяма от единица, показва появата на бионагрупване.

Изчислените стойности на BMF за DDTs и PCBs варират от 1,01 – 3,45 и от 1,45–3,86 (Табл.3.8), което показва, че биомагнификацията на тези хлорорганични съединения съществува в морската хранителна верига в Черно море. За HCHs и останалите хлорорганични пестициди изчисленият фактор е по-малък от единица.

Таблица 3.8. Фактори на биомагнификация (BMF) за DDTs, PCBs, OCPs, HCHs в риби

Predator/prey	DDTs	PCBs	OCPs	HCHs
чернокоп/трициона	1,01	1,75	0,42	0,42
чернокоп/хамсия	2,96	3,86	0,60	0,47
чернокоп/сафрид	3,45	3,32	1,14	0,92
карагьоз/трициона	1,08	1,45	0,59	0,72
карагьоз/хамсия	3,16	3,19	0,86	0,79

Получените данни обясняват по-високите нива на замърсители в хищните видове риби (чернокоп и карагьоз) и показват, че тези видове са потенциално застрашени от въздействие на по-високи концентрации и съответно по-голям риск за тези организми.

Corsolini S, 2017 докладват, че факторите на биомагнификация са били по-високи в антарктическата трофична мрежа, което предполага, че тенденцията към биоувеличаване е значителна за PCB и p,p'-DDE. За разлика от тях, HCB в антарктическите хранителни мрежи и всички анализирани УОЗ в субарктическите, показват отрицателни връзки (значителни в някои случаи).

Стойностите на BMF за хексахлоробензен и хексахлоробутадиен не са изчислени в настоящото изследване поради ниската честота на откриване на тези замърсители в морската биота.

Изготвил: доц. Станислава Георгиева

Литературни източници:

- Binelli, A., Provini, A., 2003. The PCB pollution of Lake Iseo (N. Italy) and the role of biomagnification in the pelagic food web. Chemosphere 53, 143-151.
- Bureau, S., Zeb, Y., Broman, D., Ishaq, R., 2004. Biomagnification of polychlorinated biphenyls (PCBs) and polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) studied in pike (*Esox lucius*), perch (*Perca fluviatilis*) and roach (*Rutilus rutilus*) from the Baltic Sea. Chemosphere 55, 1043-1052.
- Corsolini S, Sarà G. The trophic transfer of persistent pollutants (HCB, DDTs, PCBs) within polar marine food webs. Chemosphere. 2017;177:189-199. doi:10.1016/j.chemosphere.2017.02.116
- Mackay, D., Fraser, A., 2000. Bioaccumulation of persistent organic chemicals: mechanisms and models. Environ. Poll. 110, 375-391
- Sara, G., Rinaldi, A., Montalto, V., 2014. Thinking beyond organism energy use: a trait based bioenergetic mechanistic approach for predictions of life history traits in marine organisms. Mar. Ecol. 35, 506-515.
- Sun YX, Hu YX, Zhang ZW, et al. Halogenated organic pollutants in marine biota from the Xuande Atoll, South China Sea: Levels, biomagnification and dietary exposure. Mar Pollut Bull. 2017;118(1-2):413-419. doi:10.1016/j.marpolbul.2017.03.009

Поддйност 3: Анализ на състоянието на морската среда по отношение на физико-химични показатели.

Оценка на състоянието на морската среда по отношение на физико-химични показатели

Оценката на състоянието на морската среда като многокомпонентна система изисква да се определи както влиянието на абиотичните и антропогенните фактори, така и натиска, който морските организми упражняват, чрез жизнената си дейност върху околната среда.

Разрастването на производството на аквакултури може да доведе до локализирано биологичното отлагане като предизвиква хипоксични условия, при които ще се повиши освобождаването на нутриенти от утайките. Ефектът от засиленото биологично отлагане в мидените ферми е изключително специфичен за всяко едно място.

Еутрофикацията се посочва и като водещ фактор, предизвикващ цъфтежа на планктонните видове, някои от които могат да продуцират биотоксини. Индикаторни показатели за състоянието на морската среда в резултат на еутрофикацията съгласно Дескриптор 5 са: амоняк (амониев азот), нитрити (нитритен азот), нитрати (нитратен азот), фосфати, силиций.

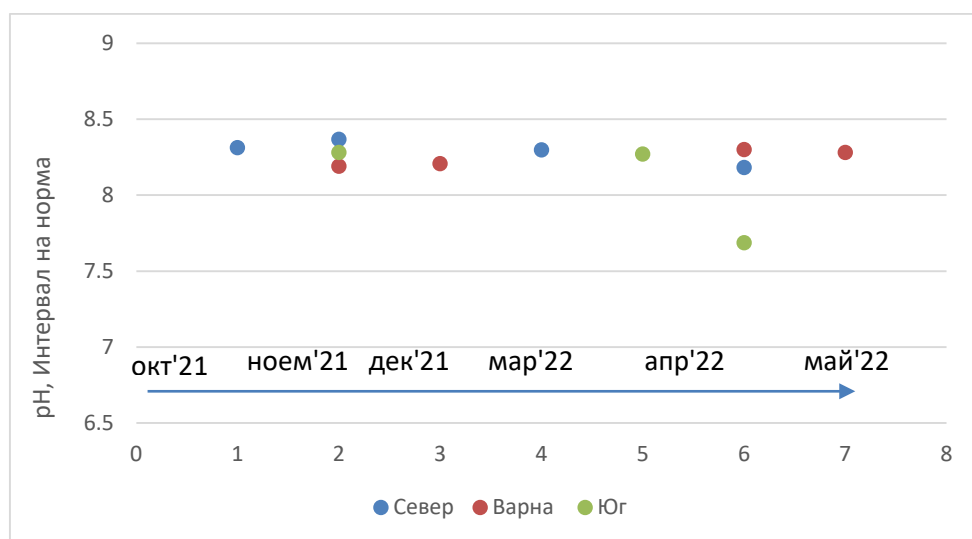
За периода октомври 2021- май 2022 са взети 30 проби морска вода (повърхностен слой) от различни крайбрежни зони: райони на интензивен риболов (N=7) зони за отглеждане на аквакултури (N= 4), зони с потенциални източници на замърсяване(N= 10), райони без източници на антропогенно въздействие и защитени територии(N=9), обединени в три главни района Север, Варна и Юг (Фиг. 3.11). След вземането на пробите, температурата на морската вода се измерва с преносим термометър, а пробите се съхраняват с етикетирани бутилки, в хладилна чанта и веднага се транспортират до лабораторията. Чрез спектрофотометрични методи в пробите са определени физико-химични показатели на морската вода: соленост, активна реакция (pH), амоняк, нитрити, нитрати, фосфати, силиций.

Оценка на екологичното състояние на крайбрежните води (състояние на водния стълб) в индикаторни райони

Активната реакция (киселинност, водороден показател, pH) е много ценен океанографски параметър. Той отразява термодинамичното състояние на различните киселинно-алкални системи в морската вода, особено геохимично важната система на въглеродния диоксид. По този начин стойностите на киселинността са показателни за всички биологични процеси [1].

Анализът на данните от нашето изследване (фиг.3.11) показва, че измерените стойности са в нормата (6,5-9), постановена в Наредба № 8 от 25.01.2001 г. за качеството на крайбрежните морски води.

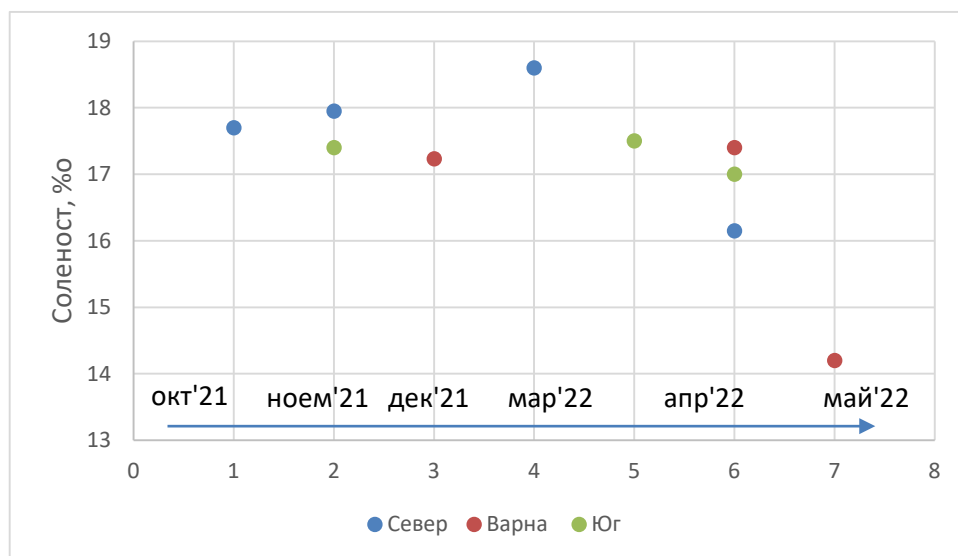
Не се наблюдават значителни колебания в стойността на pH на морската вода – резултатите варират в диапазона 7,79 до 8,39. Отчетена е само една по-ниска стойност – 6,64. Средната стойност за pH е 8,28. Данните са сравними с изследване, проведено в близки райони, но в предишен период от време [2]. Не се наблюдават сезонни или регионални зависимости в регистрираните резултати.



Фигура 3.11. Сезонни колебания в стойностите на активна реакция, pH

Соленост. Хидрографският режим на Черно море се характеризира с ниска соленост на повърхностните води от речен произход [3]. Основните реки, които се вливат в Черно море са: Дунав (203 km³/год.), Днепър (54 km³/год.), Днестър (9,3 km³/год), Дон (28 km³/год) и Кубан (13 km³/год). В допълнение към тях голям брой по-малки реки по турското и българското крайбрежие допринасят с още 28 km³/год 1 към водния бюджет на морето [4].

Резултатите от проведеното изследване показват, че солеността варира в границите 14,2 до 18.7 (фиг.3.12). По-ниските стойности на солеността се дължат на особеностите на местата на пробовземане – в близост до устията на реки, вливащи се в Черно море. Изчислената средна стойност на солеността е 17.08 ‰. Сравнението по райони показва, че в по-голямата част от годината стойностите на pH са между 17 и 18 ‰. Не се наблюдават изразени сезонни колебания и разлики по райони на изследване.



Фигура 3.12. Сезонни колебания в стойностите на солеността

Хранителни вещества като нитрати (NO_3^-) и фосфати (PO_4^{3-})

Морската вода се характеризира с високи нива на хранителни вещества [5]. Хранителни вещества като нитрати (NO_3^-) и фосфати (PO_4^{3-}) присъстват естествено в морската вода и са от съществено значение за растежа на фитопланктона и други водорасли, които формират основата на хранителната верига на океана. В крайбрежните води основни източници на хранителни вещества обикновено са и човешките отпадъци и химикали (напр. детергенти, торове). От друга страна цъфтежът на водорасли може да доведе до загуба на биоразнообразие на риби и безгръбначни, тъй като намалява хетерогенността на местообитанията.

В 30 проби морска вода от различни райони на българското крайбрежие на Черно море са определени нивата на нитрати, нитрити, амониеви соли, ортофосфати и силикати.

Резултатите са представени в Приложение №Д3-5 Резултати за физико-химични параметри (към междинен отчет 3). Границите на откриване са представени в таблица 3.9. В таблицата са приведени и данни за пределно допустимите концентрации на изследваните неорганични соли според Наредба № 8 от 25.01.2001 г. за качеството на крайбрежните морски води.

Таблица 3.9. Граници на откриване и норми на изследваните неорганични соли, mg/L

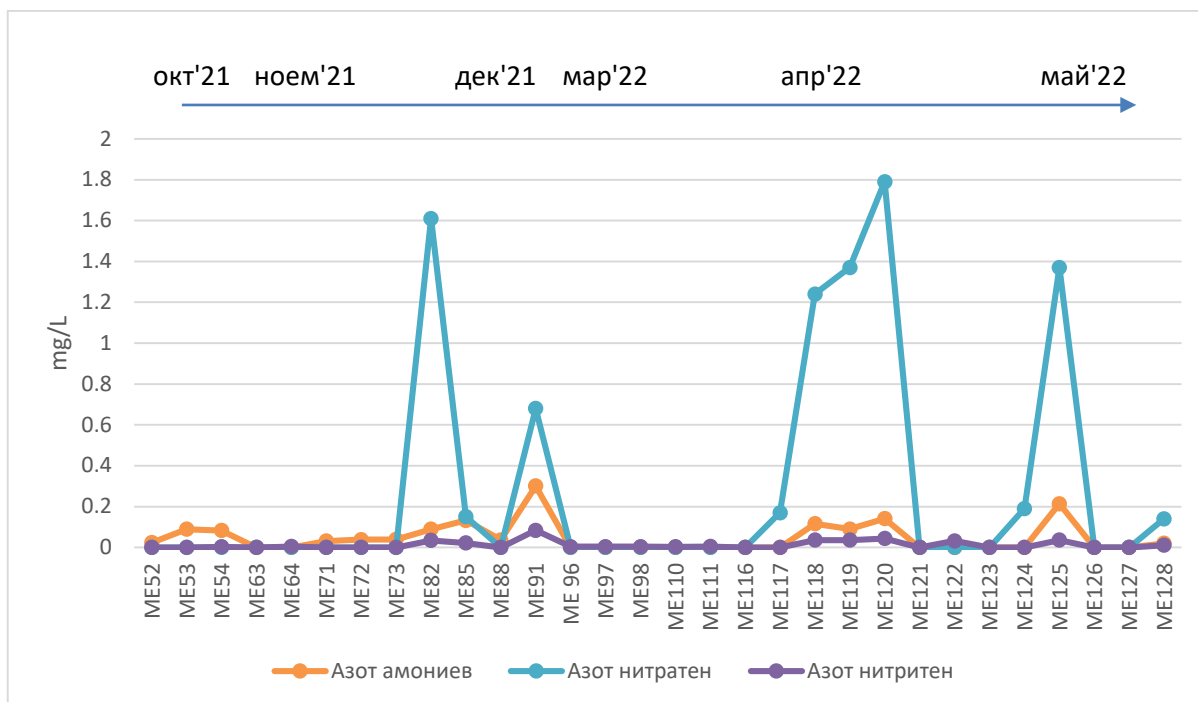
Хранителни вещества	Азот нитратен	Азот нитритен	Азот амониев	Ортофосфати	Силикати
Граница на откриване mg/L	0,13	0,003	0,012	0,020	0,3
Норма (съгл. Наредба № 8 от 25.01.2001)	1,5	0,03	0,1	0,1	-

В морските води азотът се среща под формата на солите - нитрати, нитрити и амониеви соли. Наличността на азотни хранителни вещества в изследваните проби се променя по отношение на относителния дял на доминиращия азот (фиг.3.13).

По-голямата част от общия разтворен неорганичен азот е в нитратна форма. Нитратният азот съставлява около 83% от всички изследвани разтворени азотни соли, но се характеризира със значителни колебания между районите и периодите на пробовземане. В двадесет от пробите нитратите са под границите на откриване. Този висок дял се дължи на високите стойности на измерените нитрати, които дори в две от пробите надвишават нормата от 1,5 mg/L. Но като цяло нитратите се срещат по-рядко в пробите в сравнение в амониеви соли и нитрити (фиг. 3.14). Изчислената средна стойност е 0,29 mg/L.

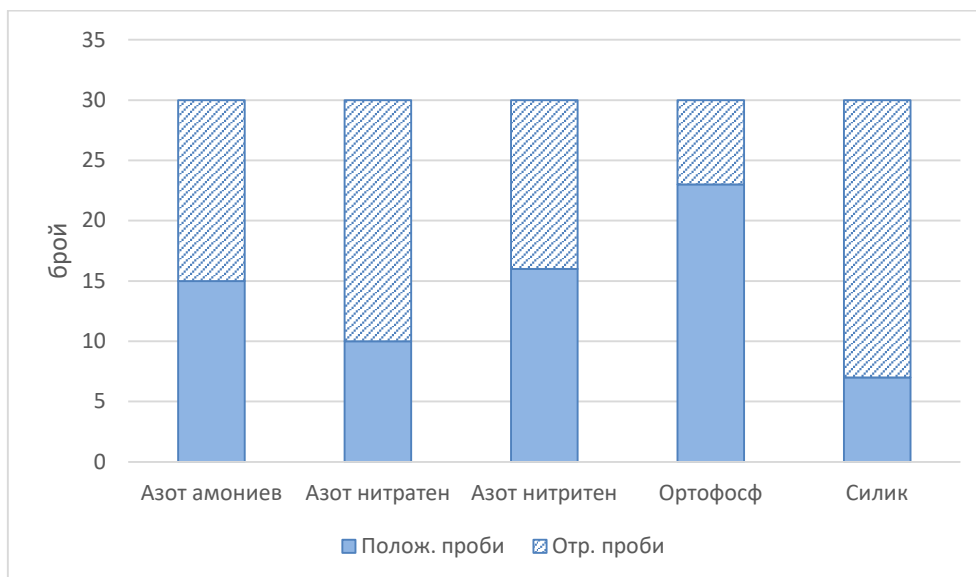
Петнадесет от пробите съдържат амониеви соли (фиг.3.14), но стойностите са ниски. По-голямата част от положителните проби са от район Север. Само две проби (ME85 и ME91) надвишават нормата от 0,1 mg/L (фиг. 3.13). Средната стойност на амониевите соли в изследваните морски води е 0,05 mg/L.

----- www.eufunds.bg -----



Фигура 3.13. Вариация на нивата на азотните соли в морската вода

Нитритните соли се срещат в 16 проби (фиг.3.14) като по-голямата част от положителните проби отново са от Северното Черноморие. В шест от изследваните проби нивата на нитратния азот са над нормата от 0,03 (фиг.3.13). Изчислената средна стойност на нитратите е 0,01 mg/L.



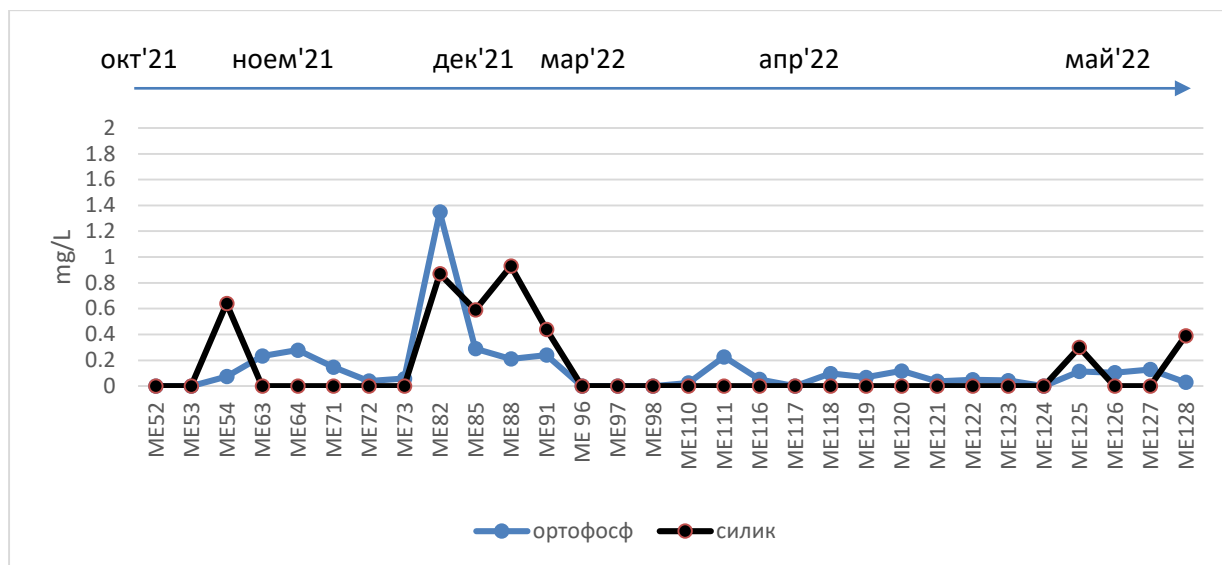
Фигура 3.14.. Сравнение на броя положителни и отрицателни проби, съдържащи изследваните соли

Прави впечатление, че в края на ноември и началото на декември, през април (в пробите от район Север и Черноморец), както и през май (проба от устието на Камчия), едновременно повишение на азотсъдържащите соли в морската вода. Относително високите нива през зимата може да се дължат на смесването на повърхностните с по-

www.eufunds.bg

дълбоките води. Високите нива през пролетта сигнализират за някои въздействия на водите от вливащите се реки.

Нивата на фосфатите (фиг.3.15) показват подобен на азотните соли модел на месечно разпределение – по-ниски през пролетта и най-високи през зимата. Не се наблюдават тенденции по райони на изследване. В осем от пробите нивата на ортофосфати са над нормата от 0,1 mg/L. Изчислената средна стойност на ортофосфатите е 0,13 mg/L.



Фигура 3.15. Вариация на нивата на ортофосфати и силикати в морската вода

Силикатите показва големи вариации (фиг. 3.15). В по-голямата част от пробите, силикатите са под границата на откриване. В положителните проби концентрационния диапазон е 0,30-0,93 mg/L. По тези причини и изчислената средна стойност на силикатите (0,14 mg/L) е близка до тази на ортофосфатите.

Изчислените съотношения (Табл.3.10) показват високо съотношение N:P през пролетта ME118, 119, 120, 125).. Като цяло стойностите на N/P варират много - между 0,02 и 22,00. В морската вода на открития океан N и P се намират в съотношение около 15 N:1 P, което също е съотношението на тяхното използване от фитопланктона.

Следователно това съотношение дава индикация дали водната проба е обогатена с N (съотношение > 20) или P (съотношение < 10). Нашите резултати показват значителна променливост в това съотношение между различните места, но като цяло изглежда, че морската вода по крайбрежието е по-обогатена с фосфати, отколкото с нитрати. Проби ME111 и ME64 (Несебър), както и проби ME110, 88 и 71 показват изключително ниски нива на съотношението. Това което показва обогатяване на водите с фосфати, вероятно се дължи на използването на торове, изхвърляне на детергенти от населеното място, както и поради активната физиология на дейност на отглежданите в района аквакултури.

В съотношението N/Si и P/Si, пиковите, съответно 5,07 и 16,84, отново са регистрирани през пролетта. При P/Si е отчетен и второстепенен пик със стойност – 10,96. Големият брой на ниски стойности на N/Si и P/Si в по-голямата част от периода на изследване отразяват значението на съдържанието на силикати.

Таблица 3.10. Съотношения на хранителните вещества в положителните проби морска вода

Проба №	N/P	N/Si	P/Si
ME54	1,16	0,12	0,62
ME64	0,02	0,00	16,84
ME71	0,21	0,00	0,70
ME72	0,95	0,00	0,04
ME73	0,67	0,00	0,09
ME82	1,28	3,44	1,76
ME85	1,05	0,78	0,86
ME88	0,18	0,23	6,47
ME91	4,44	2,28	0,17
ME110	0,13	0,00	0,22
ME111	0,02	0,00	10,96
ME118	14,20	0,00	0,01
ME119	22,00	0,00	0,00
ME120	16,88	0,00	0,01
ME122	0,65	0,00	0,12
ME125	14,21	5,07	0,03
ME128	5,90	0,46	0,07

Заклучение:

Този вид проучвания са предизвикателство поради голямата продължителност на изследвания период от време. Въпреки това, необходимостта от тези видове дългосрочни усилия за наблюдение става все по-ясна поради многото заплахи, пред които са изправени естествените местообитания в близките крайбрежни местообитания.

Изготвили:

Златина Петева

Проф. Мона Станчева

Литературни източници:

¹ Dickson, A. G. (1993). The measurement of sea water pH. *Marine Chemistry*, 44(2-4), 131-142.

² Клисарова, Д., Михайлов, К. (2015). Анализ и оценка на фактори на околната среда, влияещи върху състоянието на популацията и числеността на китоподобните. От: Теренни наблюдения на китоподобните *Tursiops truncatus*, *Phocoena phocoena* и *Delphinus delphis* в българската изключителна икономическа зона (ИИЗ) в Черно море“

³ Bakan, G., & Büyükgüngör, H. (2000). The black sea. *Marine pollution bulletin*, 41(1-6), 24-43.

⁴ Balkas, T. et al. (1990) State of the Marine Environment in the Black Sea Region. UNEP Regional Sea Reports and Studies No. 124, UNEP, 41 pp.

⁵ Labib, W., Abou Shady, A. M., Mohamed, L. A., El Shafaay, S. M., & Hosny, S. (2015). Ecological studies of macroalgae in Alexandria Mediterranean waters. *The EGYPTIAN JOURNAL OF EXPERIMENTAL BIOLOGY (botany)*, 11(2), 169-180.

Поддейност 4: Оценка на потенциалното влияние на мидените ферми върху състоянието на морската околна среда

----- www.eufunds.bg -----

Проект № BG14MFOP001-6.004-0006 е финансиран от Програмата за морско дело и рибарство 2014 - 2020, съфинансирана от Европейския съюз чрез Европейския фонд за морско дело и рибарство.

Оценка на екологичното въздействие на мидените ферми върху морската околна среда

Еутрофикацията на крайбрежните води е сериозен екологичен проблем на много места по света, тъй като причинява повишено първично производство, помътняване на водата, засенчване на бентосната растителност, цъфтеж на водорасли и хипоксия [1,2,3]. Натрупването на хранителни вещества (нутриенти, биогени), отдавна се идентифицира като ключов двигател на проблемите, свързани с еутрофикацията [4]. Усвояването на хранителните вещества (например нитрати, фосфати) има ключова роля в управлението на крайбрежните екосистеми.

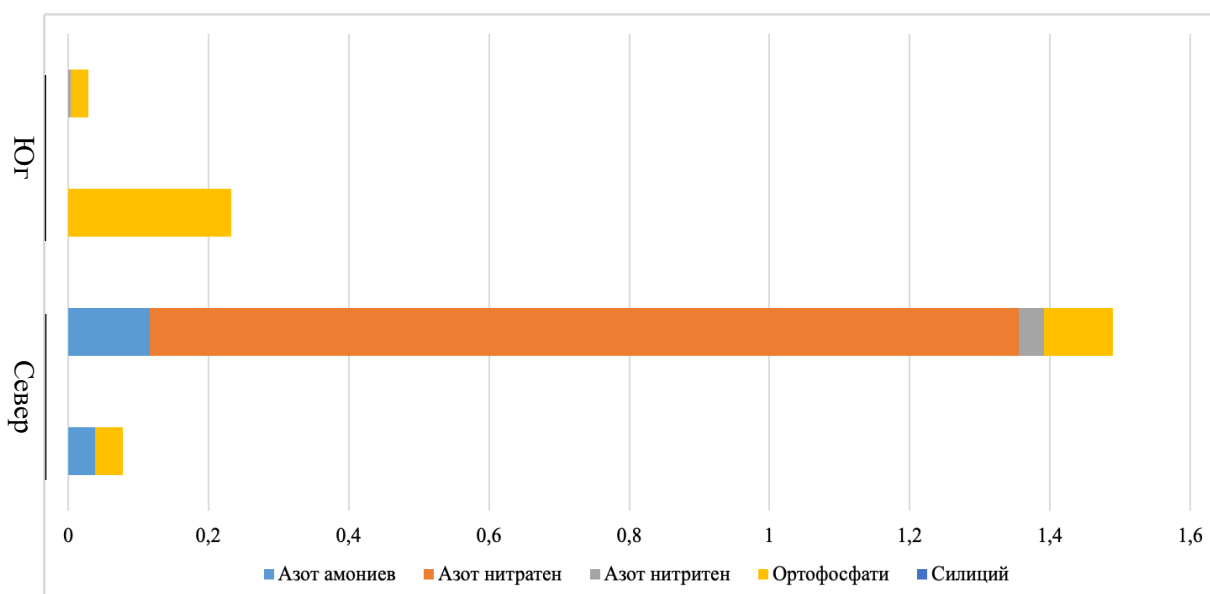
Приложени са различни подходи за намаляване на преноса на хранителни вещества от сушата към морето. Пречиствателните станции за отпадъчни води са модернизирани, за да се справят с точковите източници, но по-голямо е било предизвикателството да се намали дифузият отток на хранителни вещества от сушата, идващи главно от селското стопанство. Приложени са различни наземни мерки, като задължително планово торене, оползотворяване на оборския тор и възстановяване на влажните зони [5]. Резултатът досега е, че например в Дания натрупването на азот и фосфор е намалено съответно с 40 и 60% през последните 3 десетилетия и екосистемата започва да се възстановява [6,7]. Въпреки това, дори когато се прилагат наземни мерки за намаляване на натоварването, може да отнеме десетилетия, преди да се наблюдават значителни подобрения. В много райони наземното смекчаване може и да не е достатъчно, за да осигури добро качество на водата, както се изисква, например, от Рамкова директива за водите на ЕС (РДВ).

През последните години фокусът се насочи към алтернативни мерки за отстраняване на излишните хранителни вещества. Отглеждането на миди е предложено като морска мярка за смекчаване на последиците от натрупването на хранителни вещества в морските крайбрежни води [8]. Основното предимство в този метод е, че мидите премахват хранителни вещества, съдържащи се в частици (главно фитопланктон) директно от водата чрез своята хранителна дейност и ги включват в животинската тъкан по време на растежа. Когато мидите се събират, хранителните вещества се отстраняват от морската среда и се връщат обратно на сушата. Мидите, произведени във ферми, оптимизирани за целите на намаляване на хранителните вещества, са насочени към максимизиране на общата биомаса, а не към размера и външния вид на отделните миди. Събирането на такива филтриращи организми може да бъде устойчив метод за производство на храна с висока хранителна стойност [9,10,11]. Намаляването на въздействието на антропогенните хранителни вещества може да се постигне чрез намаляване на количеството сестон, включително фитопланктон, в крайбрежните води. Сестон е основната храна на филтриращите миди; следователно, чрез поставяне на мидени култури в района и събиране на продукцията, количеството сестон във водата се намалява в същото време, когато хранителните вещества се отстраняват.

Целта на това изследване е да се направи оценка на екологичното въздействие на мидените ферми върху морската околна среда.

За периода октомври 2021- май 2022 са 30 взети проби морска вода (повърхностен слой) от различни крайбрежни зони: зони за отглеждане на аквакултури (мидени ферми) (N= 4), райони на интензивен риболов (N=7), зони с потенциални източници на замърсяване (N= 10), райони без източници на антропогенно въздействие и защитени територии (N= 9). За

целта на изследването тези зони са разпределени в двата главни района по Българското Черноморие – Север и Юг. Чрез спектрофотометрични методи в пробите са определени нивата на следните хранителни вещества - амоняк, нитрити, нитрати, фосфати, силиций. Получените резултати за нивата на нутриентите в морската вода в мидените ферми са сравнени с нивата на нутриентите в другите зони. Данните показват (Фиг. 3.16), че в мидените ферми от район Север са установени азотсъдържащи нутриенти (амониеви соли, нитрати и нитрити). В район Юг са регистрирани само ортофосфати.

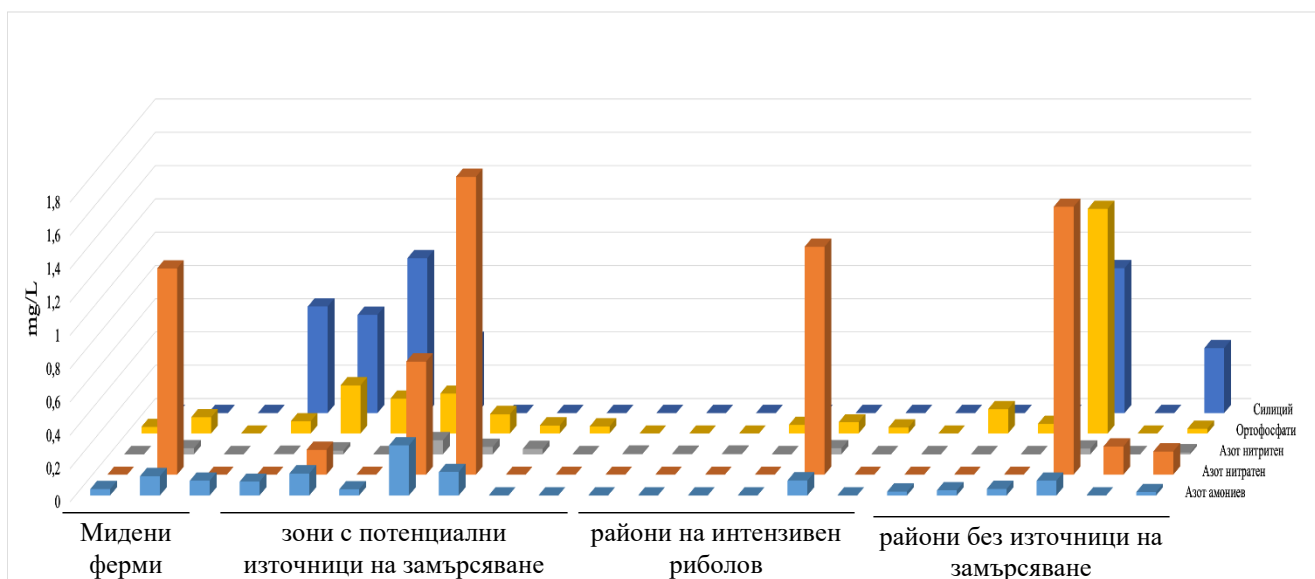


Фигура 3.16. Сравнение на нивата на нутриенти в мидените ферми в район Север и район Юг

Сравнението на нивата на хранителни вещества в отделните райони показва, че в район Север (Фиг.3.17.1) в зоните с потенциални източници на замърсяване, където притокът на вещества от сушата е най-голям, най-често са регистрирани нутриенти над границата на откриване. В зоните на интензивен риболов биогени почти не се откриват в пробите. Сравнението по видове биогени показва, че нивата на амониевия азот са като цяло ниски. Най-високите стойности амониев и нитритен азот са регистрирани в зоните с потенциални източници на замърсяване.

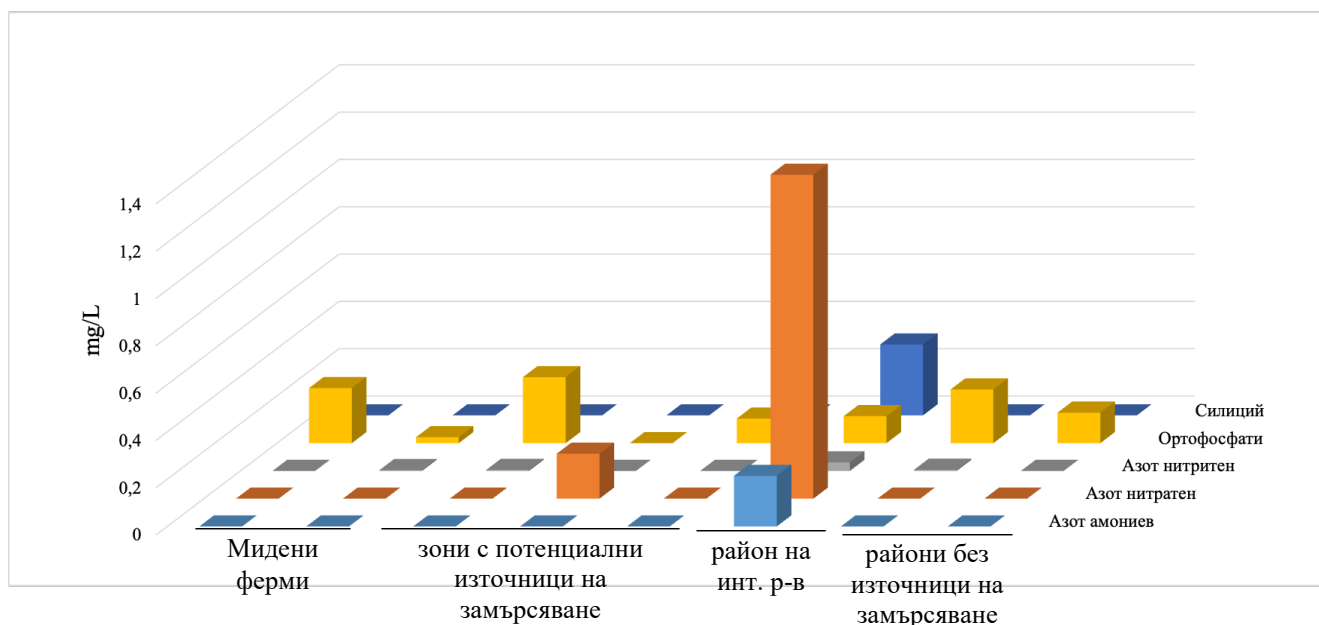
Във всеки един от районите от Северното Черноморие са регистрирани поне по една по-висока стойност на нитратен азот. Висока стойност на ортофосфати са измерени в пробите от район без източник на замърсяване и по-ниски в зоните с потенциални източници на замърсяване и в мидените ферми. Високи нива на силикати са регистрирани в пробите от район без източник на замърсяване и в зоните с потенциални източници на замърсяване.

Прави впечатление, че нивата на хранителните вещества в районите без източници на замърсяване (включително защитени райони) също са високи. Това би могло да се дължи на неправомерно замърсяване на тези райони или на други фактори. Тези резултати би трябвало да се вземат в предвид при изготвяне на становища и предложения за разширяване на защитените територии по Северното Черноморие с цел опазване на биоразнообразието и във връзка с изпълнение на индикатор „Промяна в покритието на другите мерки за пространствена защита по член 13, параграф 4 от Директива 2008/56/ЕО“.



Фигура 3.17.1. Сравнение на нивата на нутриенти в район Север

В район Юг (Фиг. 3.17.2) се забелязва, че най-голямо е разнообразието на нутриенти в зоните на интензивен риболов. Като цяло амониев и нитритен азот, както и силикати почти не са регистрирани в пробите. Високи нива на нитратен азот са определени в проба от зона на интензивен риболов и по-ниски в проба от зона с потенциален източник на замърсяване. Ортофосфатите се срещат повсеместно във всички райони. Това е интересен резултат, защото говори за постоянен източник на тези вещества, вероятно със сухоземен произход.



Фигура 3.17.2. Сравнение на нивата на нутриенти в район Юг

Не може да се твърди със сигурност за отчетлива тенденция във влиянието на мидените ферми върху състоянието на морската околна среда. По-изчерпателни изводи за

www.eufunds.bg

влиянието на мидените ферми върху еутрофикацията могат да се направят, ако такъв тип изследвания се правят регулярно през цялата година.

Отглеждането на миди в мидени ферми е предложено и доказано в множество Европейски изследвания като инструмент за намаляване на хранителни вещества и противодействие на отрицателните ефекти от еутрофикацията в крайбрежните води [12,13,14]. Тези изследвания показват, че отглеждането на миди е мярка, която допринася много за постигане на екологичните цели. В сравнение с други мерки, допълнителните ползи от отглеждането на миди за обществото са поразителни, докато отрицателните ефекти за околната среда са незначителни и приемливи.

За да се проучат начини за насърчаване на разширяването на производството на миди и да се намерят икономически ефективни решения, от съществено значение е да се картографират всички източници на азот и други биогени. Това включва конструктивен и трансграничен диалог с оглед вземане на решения от местните и националните правителствени органи, както и органите на Европейската общност.

Изготвил: Златина Петева

Литературни източници:

- ¹ Diaz, R.J. and Rosenberg, R. 1995. Marine benthic hypoxia. A review of its eco- logical effects and the behavioral responses of benthic macrofauna. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.* 245-303.
- ² Cloern, J.E. 2001. Our evolving conceptual model of the coastal eutrophication problem. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 210, 223-253.
- ³ Anderson DM, Glibert PM, Burkholder JM (2002) Harmful algal blooms and eutrophication: nutrient sources, composition, and consequences. *Estuaries* 25:704–726
- ⁴ Carpenter SR, Caraco NF, Correll DL, Howarth RW, Sharp- ley AN, Smith VH (1998) Nonpoint pollution of surface waters with phosphorus and nitrogen. *Ecol Appl* 8: 559–568
- ⁵ Kronvang B, Andersen HE, Borgesen C, Dalgaard T, Larsen SE, Bogestrand J, Blicher-Mathiasen G (2008) Effects of policy measures implemented in Denmark on nitrogen pollution of the aquatic environment. *Environ Sci Policy* 11:144–152
- ⁶ Maar M, Markager S, Madsen KS, Windolf J, Lyngsgaard MM, Andersen HE, Moller EF (2016) The importance of local versus external nutrient loads for chl a and primary production in the western Baltic Sea. *Ecol Modell* 320: 258–272
- ⁷ Riemann B, Carstensen J, Dahl K, Fossing H and others (2016) Recovery of Danish coastal ecosystems after re- ductions in nutrient loading: a holistic ecosystem approach. *Estuaries Coasts* 39:82–97.
- ⁸ Petersen JK, Hasler B, Timmermann K, Nielsen P, Tørring DB, Larsen MM, Holmer M (2014) Mussels as a tool for mitigation of nutrients in the marine environment. *Mar Pollut Bull* 82:137–143
- ⁹ Ryther, J.H., Dunstan, W.M., Tenore, K.R. and Huguenin, J.E. 1972. Controlled eutrophication: increased food production from the sea by recycling human wastes. *Bio. Sci.* 22, 144-152.
- ¹⁰ Haamer, J. 1995. Presence of the phycotoxin okadaic acid in mussels (*Mytilus edulis*) in relation to nutrient composition in Swedish coastal water. *J. Shellfish Res.* 14, 209-216
- ¹¹ Edebo, L., Haamer, J., Lindahl, O., Loo, L.-O. and Piriz, L. 2000. Recycling of macronutrients from sea to land using mussel cultivation. *Environ. Pollut.* 13, 190 – 207.
- ¹² Timmermann, K., Maar, M., Bolding, K., Larsen, J., Nielsen, P., & Petersen, J. K. (2019). Mussel production as a nutrient mitigation tool for improving marine water quality. *Aquaculture Environment Interactions*, 11, 191-204.
- ¹³ Holbach, A., Maar, M., Timmermann, K., & Taylor, D. (2020). A spatial model for nutrient mitigation potential of blue mussel farms in the western Baltic Sea. *Science of the Total Environment*, 736, 139624.
- ¹⁴ La Rosa, T., Mirto, S., Marino, A., Alonzo, V., Maugeri, T. L., & Mazzola, A. (2001). Heterotrophic bacteria community and pollution indicators of mussel—farm impact in the Gulf of Gaeta (Tyrrhenian Sea). *Marine Environmental Research*, 52(4), 301-321.
- ¹⁵ Callegari, F, and GP Rossini (2008). Yessotoxin inhibits the complete degradation of E- cadherin. *Toxicology* 244: 133-144.

Поддейност 5: Изследване на влиянието на физико-химичните параметри на морската среда върху продуцирането на морски биотоксини в планктон и натрупването им в двучерупчести аквакултури.

Изследване на влиянието на физико-химичните параметри на морската среда върху продуцирането на морски биотоксини в планктон и натрупването им в двучерупчести аквакултури

От 70-те години на миналия век броят на вредните цъфтежи на водорасли (harmful algal blooms, HAB) се е увеличил драматично в световен мащаб [1,2]. Въпреки подобрената информираност и мониторинг, до голяма степен това нарастване се дължи на повишена евтрофикация на повърхностните води [3,4]. Тъй като растежът на фитопланктона често е ограничен от ключови хранителни вещества (нутриенти, биогени), като азот (N) и фосфор (P), по-доброто снабдяване с тези хранителни вещества в морска среда ще доведе до увеличено натрупване на биомаса от водорасли [5]. Освен това промените в съотношенията на биогените могат да повлияят на състава на фитопланктона, вероятно благоприятствайки HAB-видовете, тъй като видовете или групите фитопланктон могат значително да се различават в предпочитанията си за тип хранителен режим или съотношение поради различни физиологични адаптации [6,7].

Образуването на HAB се отразява неблагоприятно на екосистемите, рибарството, туризма и човешкото здраве [8,9]. Някои видове HAB произвеждат мощни токсини, които могат да се натрупват в хранителната верига, което може да доведе до смърт на риба, морски птици и морски бозайници и по този начин да наруши структурата и функционирането на екосистемата [10,11]. Токсините, произведени от някои видове фитопланктон, могат да представляват риск за човешкото здраве. Например, динофлагелатните токсини могат да се натрупват в миди и могат да причинят тежки синдроми на отравяне с миди при консумацията им [12,13]. Симптомите на отравяне с морски токсини варират от коремна болка, повръщане, диария, кожно дразнене, слабост, главоболие до парализа и дори смърт.

Съставът на първичните продуценти, като фитопланктон, може да варира значително в зависимост от относителната наличност на хранителни вещества и светлина [14,15]. Наличието на хранителни вещества силно влияе върху производството и състава на ключови биомолекули, като мастни киселини, аминокиселини и нуклеинови киселини [16,17]. Многобройни проучвания вече демонстрират зависимостта на производството на морски токсини от наличността на хранителни вещества. При ограничение на азот е доказано, че производството на богати на азот токсини като цяло намалява, докато ограничаването на фосфор причинява натрупване на богати на азот токсини след относителен излишък на азот [18,19,20,21].

Целта на това изследване е да се проучи влиянието на физико-химичните параметри на морската среда върху продуцирането на морски биотоксини в планктон и натрупването им в двучерупчести аквакултури (миди).

За периода октомври 2021- май 2022 са 30 взети проби морска вода (повърхностен слой). Проби от фитопланктон (n = 21) са събрани с конична планктонна мрежа (размер на порите 20 µm, външен диаметър 40 cm), вертикално, от дълбочини между един и пет метра от повърхността, по българското крайбрежие в периода март-декември 2021 г. В периода февруари-май и юни-юли 2021 г. от българския бряг са събрани общо 17 проби от миди .

----- www.eufunds.bg -----

След вземането на пробите морска вода, температурата се измерва на морската вода с преносим термометър, а пробите се съхраняват с етикетирани бутилки, в хладилна чанта. Чрез спектрофотометрични методи в пробите са определени физико-химични показатели на морската вода: соленост, активна реакция (pH), нутриенти (амоняк, нитрити, нитрати, фосфати, силиций). Пробите фитопланктон и миди се изследват чрез течнхроматографски метод на Krock et. al (2008) [22], за да се определят нивата на морски биотоксини в тях.

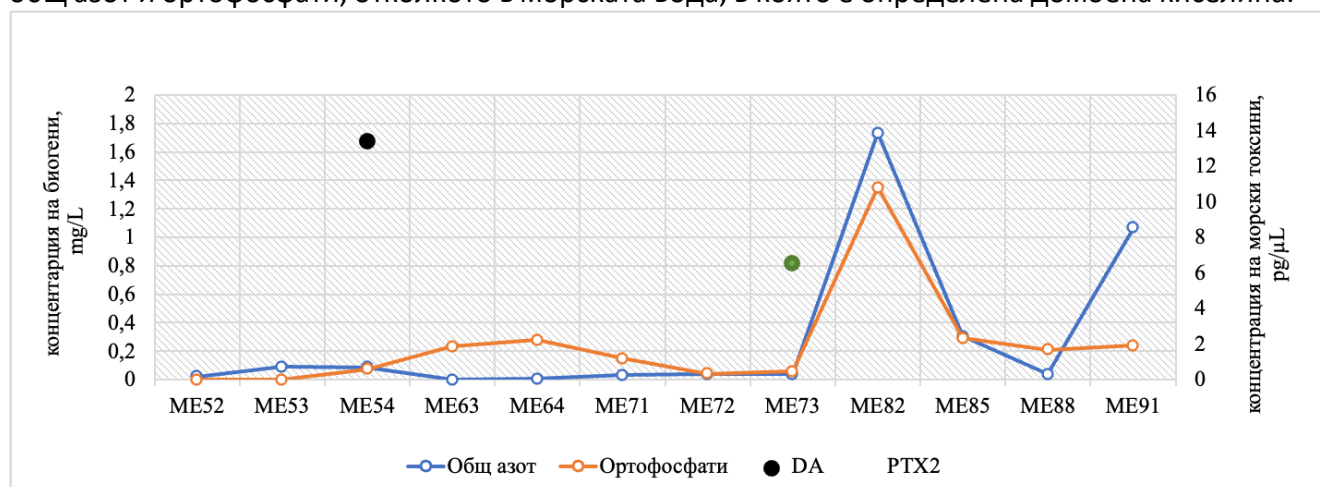
За целта на изследването са анализирани данните за нивата на нутриенти в пробите морска вода и данните за нивата на морски биотоксини в пробите планктон, когато пробонабирането е извършено от едно и също място и по едно и също време. Данните за нивата на морски биотоксини в миди не са използвани в това изследване, тъй като пробонабирането е извършено в по-ранен период от пробонабирането на морски води.

Данните показват, че в пробите морски води, включени в анализа основно се откриват амониев азот и ортофосфати. По-рядко се регистрират силикати, нитритен и нитратен азот. Само в две проби планктон са определени морски токсини – домоена киселина (domoic acid, DA) и пектенотоксин-2 (pectenotoxin-2, PTX2). Успоредно на пробата планктон, която съдържа DA (ME59) е взета проба морска вода, която съдържа нитритен и амониев азот, както и ортофосфати и силикати (ME54). Изчислените съотношения между биогените в тази проба са: N/P – 1,16, N/Si-0,12, P/Si-0,62. Прави впечатление, че другите проби, които съдържат изброените вещества, съдържат също и нитратен азот (ME82, 85 и 91). В успоредните проби планктон обаче не се открива домоена киселина.

Пробата морска вода (ME73), която е взета заедно с пробата планктон, която съдържа PTX2 (ME 76), съдържа само амониев азот и ортофосфати. Изчислените съотношения между биогените в тази проба са: N/P – 0,16, P/Si-0,04. Другите проби с този химичен състав са ME71, 72. В успоредните проби планктон обаче не се открива пектенотоксин-2.

Съпоставянето на биогенния товар (количеството биогенен азот и ортофосфати) на пробите с нивата на регистрираните токсини (Фиг.3.18) в успоредните им проби показва следното:

- Домоена киселина е регистрирана при много ниски нива както на азотни соли, така и на ортофосфати.
- Пектенотоксин-2 е регистриран в проба взета от морска вода с още по-ниски нива на общ азот и ортофосфати, отколкото в морската вода, в която е определена домоена киселина.



Фигура 3.18. Сравнение на нивата биогени и морски биотоксини

www.eufunds.bg

В обобщение може да се каже, че не може да се открие тенденция в зависимостта на нивата на хранителни вещества и концентрациите на морски биотоксини. Изследване в по-продължителен период би могло да потвърди или да отхвърли заключението за липса на връзка между тези параметри на морската среда

Данните в литературата също са противоречиви и в известна степен неясни. Посочва се, че високите концентрации на DA съвпадат с потенциалното ограничаване на силикатите ($\text{Si:N} < 1$), докато концентрациите на нитрати все още са високи [23]. Ниски концентрации на азот и силикати, комбинирани с по-висока концентрация на фосфат, води до по-ниски нива на DA [24]. Други автори предполагат, че макар разтворените нитрати и фосфати да нямат пряк ефект върху производството или задържането на токсини от планктонните видове, продуциращи РТХ2, тези хранителни вещества допринасят за растежа и биомасата му, като по този начин индиректно влияят върху цъфтежа и общите токсини в системата [25].

Изследването на влиянието на физико-химичните параметри на морската среда върху продуцирането на морски биотоксини в планктон във връзка с оценка на влиянието на средата върху нивата на биогенни замърсители не показва категорична зависимост между тях. Такъв тип изследвания обаче са важни, за да се проследи доколко химичния състав на морската вода влияе върху наличието на морски биотоксини. Проследяването на нивата на морски биотоксини трябва да продължи, защото те се натрупват в морските организми (миди, стриди и др.). Консумацията на морските храни, съдържащи повишени нива на тези вещества, може да предизвика сериозни хранителни отравяния.

Изготвил: *Златина Петева*

Литературни източници:

- ¹ Anderson, D.M.; Burkholder, J.M.; Cochlan, W.P.; Glibert, P.M.; Gobler, C.J.; Heil, C.A.; Kudela, R.; Parsons, M.L.; Jack, J.E.; Townsend, D.W.; et al. Harmful algal blooms and eutrophication: Examining linkages from selected coastal regions of the United States. *Harmful Algae* 2008, 8, 39–53.
- ² Anderson, D.M.; Cembella, A.D.; Hallegraeff, G.M. Progress in understanding harmful algal blooms: Paradigm shifts and new technologies for research, monitoring, and management. *Ann. Rev. Mar. Sci.* 2012, 4, 143–176.
- ³ Glibert, P.M.; Seitzinger, S.; Heil, C.; Burkholder, J.M.; Parrow, M.; Codispoti, L.; Kelly, V. The role of eutrophication in the global proliferation of harmful algal blooms. *Oceanography* 2005, 18, 198–209.
- ⁴ Parsons, M.L.; Dortch, Q. Sedimentological evidence of an increase in *Pseudo-nitzschia* (Bacillariophyceae) abundance in response to coastal eutrophication. *Limnol. Oceanogr.* 2002, 47, 551–558.
- ⁵ Elser, J.J.; Bracken, M.E.S.; Cleland, E.E.; Gruner, D.S.; Harpole, W.S.; Hillebrand, H.; Ngai, J.T.; Seabloom, E.W.; Shurin, J.B.; Smith, J.E. Global analysis of nitrogen and phosphorus limitation of primary producers in freshwater, marine and terrestrial ecosystems. *Ecol. Lett.* 2007, 10, 1135–1142.
- ⁶ Anderson, D.M.; Glibert, P.M.; Burkholder, J.M. Harmful algal blooms and eutrophication nutrient sources, composition, and consequences. *Estuaries* 2002, 25, 704–726.
- ⁷ Smayda, T.J. Harmful algal blooms: Their ecophysiology and general relevance to phytoplankton blooms in the sea. *Limnol. Oceanogr.* 1997, 42, 1137–1153.
- ⁸ Anderson, D.M.; Glibert, P.M.; Burkholder, J.M. Harmful algal blooms and eutrophication nutrient sources, composition, and consequences. *Estuaries* 2002, 25, 704–726.
- ⁹ Durbin, E.; Teegarden, G.; Campbell, R.; Cembella, A.; Baumgartner, M.F.; Mate, B.R. North Atlantic right whales, *Eubalaena glacialis*, exposed to paralytic shellfish poisoning (PSP) toxins via a zooplankton vector, *Calanus finmarchicus*. *Harmful Algae* 2002, 1, 243–251.

- ¹⁰ Cembella, A.D.; Quilliam, M.A.; Lewis, N.I.; Bauder, A.G.; Aversano, C.D.; Thomas, K.; Jellett, J.; Cusack, R.R. The toxigenic marine dinoflagellate *Alexandrium tamarense* as the probable cause of mortality of caged salmon in Nova Scotia. *Harmful Algae* 2002, 1, 313–325.
- ¹¹ Sunda, W.G.; Graneli, E.; Gobler, C.J. Positive feedback and the development and persistence of ecosystem disruptive algal blooms. *J. Phycol.* 2006, 42, 963–974.
- ¹² Wang, D.Z. Neurotoxins from marine dinoflagellates: A brief review. *Mar. Drugs* 2008, 6, 349–371.
- ¹³ Van Dolah, F.M. Diversity of marine and freshwater algal toxins. In *Seafood Toxicology: Pharmacology, Physiology and Detection*; Botana, L.M., Ed.; Luis M. Botana: New York, NY, USA, 2000; pp. 19–43.
- ¹⁴ Sterner, R.W.; Elser, J.J. *Ecological Stoichiometry: The Biology of Elements from Molecules to the Biosphere*; Princeton University Press: Princeton, NJ, USA, 2002.
- ¹⁵ Geider, R.J.; La Roche, J. Redfield revisited: Variability of C:N:P in marine microalgae and its biochemical basis. *Eur. J. Phycol.* 2002, 37, 1–17.
- ¹⁶ Gao, B.; Liu, J.; Zhang, C.; Van de Waal, D.B. Biological stoichiometry of oleaginous microalgal lipid synthesis: The role of N:P supply ratios and growth rate on microalgal elemental and biochemical composition. *Algal Res.* 2018, 32, 353–361.
- ¹⁷ Chakraborty, S.; Pancic, M.; Andersen, K.H.; Kjørboe, T. The cost of toxin production in phytoplankton: The case of PST producing dinoflagellates. *ISME J.* 2019, 13, 64–75.
- ¹⁸ Van de Waal, D.B.; Tillmann, U.; Zhu, M.M.; Koch, B.P.; Rost, B.; John, U. Nutrient pulse induces dynamic changes in cellular C:N:P, amino acids, and paralytic shellfish poisoning toxins in *Alexandrium tamarense*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 2013, 493, 57–69.
- ¹⁹ Cembella, A.D. Ecophysiology and metabolism of paralytic shellfish toxins in marine microalgae. In *Physiological Ecology of Harmful Algal Blooms*; Anderson, D.M., Cembella, A.D., Hallegraeff, G.M., Eds.; Springer: Berlin, Germany, 1998.
- ²⁰ Wagner, N.D.; Osburn, F.S.; Wang, J.; Taylor, R.B.; Boedeker, A.R.; Chambliss, C.K.; Brooks, B.W.; Scott, J.T. Biological stoichiometry regulates toxin production in *Microcystis aeruginosa* (UTEX 2385). *Toxins* 2019, 11, 601.
- ²¹ Sun, J.; Hutchins, D.A.; Feng, Y.; Seubert, E.L.; Caron, D.A.; Fu, F.X. Effects of changing pCO₂ and phosphate availability on domoic acid production and physiology of the marine harmful bloom diatom *Pseudo-nitzschia multiseries*. *Limnol. Oceanogr.* 2011, 56, 829–840.
- ²² Krock, B.; Tillmann, U.; John, U., & Cembella, A. (2008). LC-MS-MS aboard ship: tandem mass spectrometry in the search for phycotoxins and novel toxigenic plankton from the North Sea. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 392(5), 797-803.
- ²³ Thorel, M., Claquin, P., Schapira, M., Le Gendre, R., Riou, P., Goux, D., ... & Fauchot, J. (2017). Nutrient ratios influence variability in *Pseudo-nitzschia* species diversity and particulate domoic acid production in the Bay of Seine (France). *Harmful Algae*, 68, 192-205.
- ²⁴ Lema, K. A., Latimier, M., Nézan, E., Fauchot, J., & Le Gac, M. (2017). Inter and intra-specific growth and domoic acid production in relation to nutrient ratios and concentrations in *Pseudo-nitzschia*: phosphate an important factor. *Harmful algae*, 64, 11-19.
- ²⁵ Tong, M., Smith, J. L., Kulis, D. M., & Anderson, D. M. (2015). Role of dissolved nitrate and phosphate in isolates of *Mesodinium rubrum* and toxin-producing *Dinophysis acuminata*. *Aquatic Microbial Ecology*, 75(2), 169-185.

Поддейност 6: Оценка на безопасността на морските организми, използвани за консумация от човека

ОЦЕНКА НА БЕЗОПАСНОСТТА НА МОРСКИТЕ ОРГАНИЗМИ, ИЗПОЛЗВАНИ ЗА КОНСУМАЦИЯ ОТ ЧОВЕКА

Въздействието на хлорорганичните замърсители върху човека може да се осъществи по различни начини: чрез замърсен въздух, дермален или чрез хранителен прием. Установено е, че хранителният прием представлява 90% от дневната експозиция (Bayarri et al., 2001). Хранителни продукти от животински произход и особено риба и морски продукти са основният източник за попадането им в човешкия организъм (Perugini et al., 2004; EU SCOUP, 2000). От друга страна рибата е ценен хранителен източник на протеини, витамини и високи количества на омега – 3 полиненаситени мастни киселини (Engler, 2006). За да се прецени ползата и риска от консумацията на риба е важно да се изчисли дневният прием (хронична експозиция) на хлорорганични замърсители свързан с консумацията на морски организми (риби, миди и др.).

Хлорорганичните замърсители са устойчиви на фотохимични, биологични и химични процеси в околната среда. Те причиняват екологични щети като се натрупват чрез хранителната верига и оказват влияние върху човешкото здраве. Програмата за околна среда UNEP (United Nations Environment Program) към Организацията на Обединените нации е определила 12 хлорсъдържащи органични съединения като приоритетни замърсители с оглед на отрицателното им въздействие върху човешкото здраве и околната среда. Като устойчиви органични замърсители (УОЗ) са определени следните съединения:

Хлорорганични пестициди - Дихлордифенилтрихлороетан (DDT) и неговите метаболити, Алдрин, Хлордан, Диелдрин, Ендрин, Хептахлор, Мирекс, Токсафен, Хексахлорбензен (ХХБ)

Индустриални химикали - Полихлорирани бифенили (PCB, PCBs)

Непреднамерено образувани странични продукти - Полихлорирани бифенили, Хексахлорбензен, Полихлорирани дибензо-р-диоксини (ПХДД, диоксини), Полихлорирани дибензо-р-фурани (ПХДФ, фурани).

Полициклически ароматни въглеводороди (PAHs) – образуват се в резултат от горивни процеси при изгаряне на биологични отпадъци и от автомобилни газове, както и в резултат на петролни разливи.

Устойчивите органични замърсители са токсични химични вещества, които трудно се разграждат, натрупват се в организмите и хранителната верига, пренасят се по въздуха, водата и чрез мигриращите биологични видове през международните граници се отлагат далече от мястото на тяхното изпускане и с голяма вероятност могат да предизвикат неблагоприятни последици за човешкото здраве и околната среда близо и далече от техните източници (МОСВ, 2005 а).

Съгласно член 3 на Стокхолмската конвенция от 2001 г всяка европейска страна трябва да предприеме мерки за намаляване или предотвратяване на изпусканията при преднамерено производство и употреба на УОЗ като забрани и предприеме законови и административни мерки за прекратяване на производството, износа, вноса и употребата на химичните вещества и препарати определени като УОЗ (МОСВ, 2005 а).

Оценка на безопасността на морските организми свързана със замърсяването с хлорорганични съединения може да се направи въз основа на сравнение на експериментални резултати с максимално допустими граници (норми) за всеки замърсител в рибите. Безопасността на рибите като храна може да се оцени също чрез изчисляване на дневен хранителен прием за съответния хлорорганичен замърсител (Li et al., 2008; Tornkvist et al, 2011), а рискът при консумацията на морски храни се оценява чрез коефициент на риск (RQ).

Оценка на безопасност на рибите, свързана със замърсяването с DDT и метаболити

Токсични ефекти и безопасни нива на DDT в рибите

DDT има редица токсикологични ефекти върху самите риби, както и върху консуматорите им. През 60-те години на миналия век проучвания установяват, че натрупването на DDT по хранителната верига е довело до изтъняване на черупката на яйцата при птиците до нива, при които яйцата често се чупят (Ratcliffe, 1967). При рибите влиянието на DDT и метаболитите са свързани с различни ефекти върху репродукцията и развитието им (Baatrup and Junge, 2001; Bayley et al., 2002; Uchida et al., 2010) поради тяхната структурна прилика със стероидните хормони (Riou et al., 2012) като функциите на щитовидната жлеза (Brar et al., 2010) също могат да бъдат засегнати.

Beckvar et al. (2005) са направили преглед на наличните токсикологични данни и изчисляват, че максимално натоварване на тялото от 600-700 mg/kg мокро тегло (ww) вероятно ще бъде защитна концентрация на DDTs за самите риби, но определят тази стойност за временна поради недостига на данни, особено за нелетални нива (Jürgens 2016). Редица други проучвания оценяват безопасните нива за хората и дивите животни, които консумират риба. В Директивите на Европейският съюз по отношение на оценката на екологичното състояние на водните екосистеми няма определени стандарти за качеството на околната среда (СКОС) за биотата за DDT, но има такъв за повърхностни води, който е 25 ng/l за Sum DDT и 10 ng/l за pp'-DDT (Европейски съюз, 2013 г.). Вероятно поради недостатъчно научни данни за нивата на този вид замърсители в биота и токсикологични данни за негативните ефекти върху риби и други водни организми (Jürgens et al., 2016). В законодателството на Канада е определено ниво за остатъци от замърсители в тъкани (т.е. стандарт за качество на околната среда, биота EQS) от 14 mg/kg Sum DDTs, която се основава на риска за рибоядните птици (Canadian Council of Ministers of the Environment, 1999).

В България няма норма за DDT и метаболити в риба и рибни продукти. Европейският съюз определя максимално допустимите граници (МДГ) за DDT и метаболити в някои храни

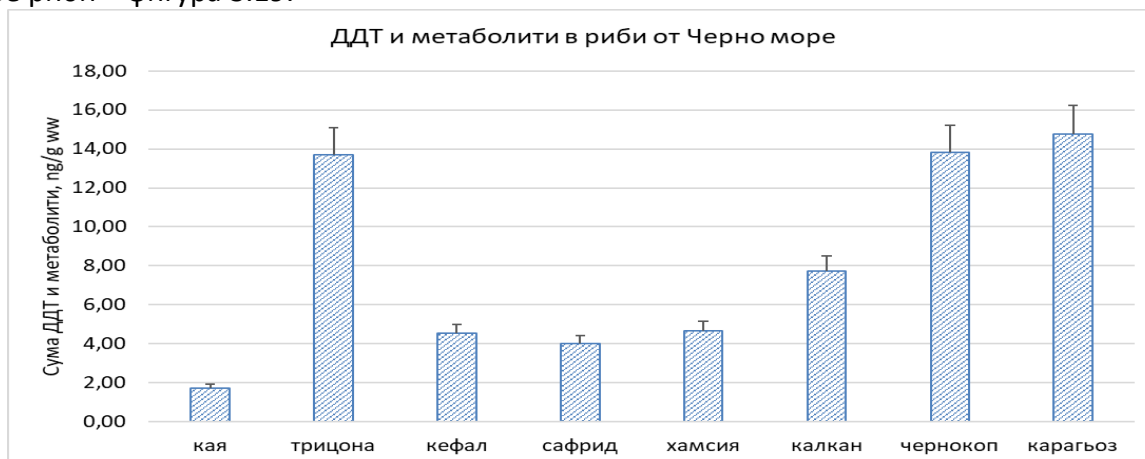
www.eufunds.bg

от животински произход (месо, мляко и яйца), но все още няма МДГ за тези органични съединения в морски организми и по-конкретно в риби. Определените граници за животински продукти с липидно съдържание над 10% е 1000 ng/g ($\mu\text{g/kg}$) на липидна основа (COUNCIL DIRECTIVE (86/363/EEC). В случаите на храни със съдържание на мазнини по-малко от 10 % нормата се сравнява с концентрацията на база свежо тегло.

В някои страни от Европейския съюз са определени норми за DDT и метаболити при риби в зависимост от липидното им съдържание. Според немското законодателство за регулиране на остатъци от пестициди в храните (RHmV, 1999), максимално допустимите граници на остатъчни вещества за ΣDDT (p, p'-DDT + o, p'-DDT + p, p'-ДДЕ + p, p'-DDD) са следните:

- 500 ng/g ww за риба с ниско съдържание на мазнини (<10%)
- 5000 ng/g lw за риба с високо съдържание на мазнини (> 10%).

Резултатите от анализа на DDT и метаболити (като сума DDTs) в различни видове риба са обобщени и систематизирани като е направено сравнение на средните концентрации по видове риби – фигура 3.19.



Фигура 3.19. Сравнение на резултати за сумарно DDT, ng/g ww (като сума от концентрациите на p,p-DDE, p,p-DDD и p,p-DDT) в проби черноморски риби

Анализът показва, че рибите с по-високо липидно съдържание съдържат по-високи нива на DDT и метаболити, но средните стойности за тези видове са много под пределно допустимите граници за месо и месни продукти.

Оценка на безопасността свързана с консумацията на риба се извършва въз основа на изчисляване на дневен хранителен прием на даден замърсител, който изразява дневната хронична експозиция на човека. Рискът от определени замърсители за човешкото здраве, свързани с консумацията на риба може да се определи чрез изчисляване на коефициент на риска (RQ), който е сравнение на експозицията с оралната референтна доза (RfD).

Нивото на експозиция чрез хранителен прием на определен замърсител може да се представи като среден дневен прием (DI – daily intake) (So et al., 2005; Nasreddine et al., 2002; Xia et al., 2012) и се изчислява по формулата:

$$DI = \frac{C \cdot FC}{BW}$$

където

DI е дневен прием, (ng/kg телесно тегло / дневно)

C е концентрацията на химически замърсител ng/g ww ;

BW (body weight) - средното телесно тегло на човек (прието 70 kg);

FC (fish consumption) – средна консумацията на риба от населението (g дневно).

Според Националния статистически институт средната консумация на риба в България е ниска – между 2.1 и 4.6 кг на година (НСИ, 2002). Тази стойност включва сладководни, морски и култивирани рибни видове. По данни от 2010 на НСИ годишната консумация на риба е 4.8 кг на човек (НСИ, 2010). При изчисленията на дневния прием сме приели тази стойност. Дневният прием се равнява на 13.2 грама риба. Ако приемем, че средно телесно тегло на възрастен човек е 70 кг, средната консумация става 0.19 g/kg телесно тегло / дневно. За сравнение в Хонг Конг, Китай са посочени данни за консумация на риба 119 г / лице / дневно (Fung et al., 2004).

Оценката на хроничната експозиция при консумация на риба е направена като получените резултати за средни концентрации на даден замърсител в тъканите на рибите, се използват за изчисляване на дневен прием и коефициент на риска RQ – Таблица 3.11.

RQ се изчислява по формулата:

$$RQ = \frac{\text{Дневен прием}}{RfD}$$

Таблица 3.11. Резултати за средни стойности на сумарно DDT, Изчислен дневен прием и коефициент на риск на DDT и метаболити на черноморски видове риба

Вид риба	Сума DDTs, ng/g ww	Дневен прием (DI), ng/kg bw day	RfD, ng/kg day (US EPA)	RQ
каля	1,74	0,33	500	0,001
трициона	13,72	2,59	500	0,005
кефал	4,55	0,86	500	0,002
сафрид	4,00	0,75	500	0,002
хамсия	4,67	0,88	500	0,002
калкан	7,74	1,46	500	0,003
чернокоп	13,82	2,61	500	0,005
карагьоз	14,75	2,78	500	0,006

Сумарно DDT (като сума от концентрациите на p,p-DDE, p,p-DDD и p,p-DDT).

За сравнение могат да се използват RfD стойности (референтни дози) - критериите на US EPA (Агенцията по околната среда на САЩ), които са оценка на експозицията - количеството

----- www.eufunds.bg -----

на токсичното вещество, което при попадане в храна може да бъде поглъщано ежедневно през целия живот на човека без риск за здравето.

В настоящото проучване изчислената най-висока стойност на коефициента на риск (RQ) за сумарно DDT е при карагьоз - 0.006.

Извод: Резултатите от оценката на безопасността по отношение на замърсяването с DDTs за всички видове черноморски риби показват коефициент на риск RQ много по-малък от 1, което показва, че консумацията на черноморските риби не представлява риск за човешкото здраве.

Изготвил: доц. Станислава Георгиева

Литературни източници:

- НСИ, 2010, ДОХОДИ, РАЗХОДИ И ПОТРЕБЛЕНИЕ НА ДОМАКИНСТВАТА ПРЕЗ ПЪРВОТО ТРИМЕСЕЧИЕ НА 2010 ГОДИНА, София 2010
- ATSDR, 2002. Toxicological Profile for DDT, DDE, and DDD. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Division of Toxicology/Toxicology Information Branch, 1600 Clifton Road NE, E-29, Atlanta, Georgia 30333, USA.
- Baattrup, E., Junge, M., 2001. Antiandrogenic pesticides disrupt sexual characteristics in the adult male guppy (*Poecilia reticulata*). *Environ. Health Perspect.* 109, 1063-1070. <http://dx.doi.org/10.2307/3454962>.
- Bayley, M., et al., 2002. Exposure of juvenile guppies to three antiandrogens causes demasculinization and a reduced sperm count in adult males. *Aquat. Toxicol.* 56, 227-239. [http://dx.doi.org/10.1016/S0166-445X\(01\)00210-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0166-445X(01)00210-7).
- Beckvar, N., et al., 2005. Approaches for linking whole-body fish tissue residues of mercury or DDT to biological effects thresholds. *Environ. Toxicol. Chem.* 24, 2094-2105. <http://dx.doi.org/10.1897/04-284r.1>.
- Bettinetti, R., et al., 2012. Seasonal fluctuations of DDTs and PCBs in zooplankton and fish of Lake Maggiore (northern Italy). *Chemosphere* 88, 344e351. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.03.009>.
- Bordajandi L.R., Abad E., Gonzalez M. J., (2008) Occurrence of PCBs, PCDD/Fs, PBDEs and DDTs in Spanish breast milk: Enantiomeric fraction of chiral PCBs, *Chemosphere* 70 567–575
- Bordajandi L.R., G. Gomez, M.A. Fernandez, E. Abad, J. Rivera, M.J. Gonzalez, (2003) Study on PCBs, PCDD/Fs, organochlorine pesticides, heavy metals and arsenic content in freshwater fish species from the River Turia (Spain) *Chemosphere* 53 163.
- Bordajandi L.R., I. Martín, E. Abad, J. Rivera, M.J. Gonzalez (2006) Organochlorine compounds (PCBs, PCDDs and PCDFs) in seafood and fish from the Spanish Atlantic Southwest Coast, *Chemosphere* 64 1450–1457
- Brar, N.K., et al., 2010. Evidence for thyroid endocrine disruption in wild fish in San Francisco Bay, California, USA. Relationships to contaminant exposures. *Aquat. Toxicol.* 96, 203e215. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2009.10.023>.
- Canadian Council of Ministers of the Environment, 1999. Canadian tissue Residue Guidelines for the Protection of Wildlife Consumers of Aquatic Biota. DDT. Excerpt from: Canadian environmental quality guidelines, Winnipeg, Canada. http://www.ccme.ca/publications/ceqg_rcqe.html.
- European Union, 2005. Commission Regulation (EC) No 396/2005, on maximum residue levels of pesticides in or on food and feed of plant and animal origin and amending Council Directive 91/414/EEC. *Off. J. Eur. Commun. L* 70 1-16 (last amended 16.12.2013).
- Heinisch, E., et al., 2007. Persistent chlorinated hydrocarbons (PCHCs), source-oriented monitoring in aquatic media. 6. Strikingly high contaminated sites. *Fresenius Environ. Bull.* 16, 1248-1273.
- Fillmann, G., Readman, J.W., Tolosa, I., Bartocci, J., Villeneuve, J.-P., Cattini, C., Mee, L.D. Persistent organochlorine residues in sediments from the Black Sea, *Marine Pollution Bulletin*, 2002, 44, 122.
- Fung, C.N., Lam, J.C.W., Zheng, G.J., Connell, D.W., Monirith, I., Tanabe, S., Richardson, B.J., Lam, P.K.S., 2004. Mussel-based monitoring of trace metal and organic contaminants along the east coast of China using *Perna viridis* and *Mytilus edulis*. *Environ. Pollut.* 127, 203–216.
- Iwata, H., Tanabe, S., Sakai, N., Tatsukawa, R., 1993. Distribution of persistent organochlorines in the oceanic air and surface seawater and the role of ocean on their global transport and fate. *Environmental Science and Technology* 27, 1080–1098.
- Nasreddine L., D. Parent-Massin, Review article, Food contamination by metals and pesticides in the European Union. Should we worry? *Toxicology Letters* 127 (2002) 29–41
- Ratcliffe, D.A., 1967. Decrease in eggshell weight in certain birds of prey. *Nature* 215, 208e210. <http://dx.doi.org/10.1038/215208a0>.
- Ricking, M., Schwarzbauer, J., 2012. DDT isomers and metabolites in the environment: an overview. *Environ. Chem. Lett.* 10, 317-323. <http://dx.doi.org/10.1007/s10311-012-0358-2>.

- Riou, V., et al., 2012. Impact of environmental DDT concentrations on gill adaptation to increased salinity in the tilapia *Sarotherodon melanotheron*. *Comp. Biochem. Physiology Part C Toxicol. Pharmacol.* 156, 7e16. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbpc.2012.03.002>.
- So M.K., X. Zhang, J.P. Giesy, C.N. Fung, H.W. Fong, J. Zheng, M.J. Kramer, H. Yoo, P.K.S. Lam. Organochlorines and dioxin-like compounds in green-lipped mussels *Perna viridis* from Hong Kong mariculture zones. *Marine Pollution Bulletin* 51 (2005) 677–687
- Son H.-K., Kim S.-A., Kang J.-H., Chang Y.-S., S.-K. Park, S.-K. Lee, D.R. Jacobs Jr., D.-H. Lee, Strong associations between low-dose organochlorine pesticides and type 2 diabetes in Korea, *Environment International* 36 (2010) 410–414
- Tanabe S, Madhusree B, Amaha AO, Tatsukawa R, Miyazaki N, Ozdamar E, et al. Persistent organochlorine residues in harbour porpoises (*Phocoena phocoena*) from the Black Sea. *Mar Pollut Bull* 1997; 34:338–47.
- Uchida, M., et al., 2010. Estrogenic effects of o,p'-DDT exposure in Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *J. Toxicol. Sci.* 35, 605e608. <http://dx.doi.org/10.2131/jts.35.605>.
- Xia C., Lam J. C.W., Wu X., Xie Z., Lam P. K.S. Polychlorinated biphenyls (PCBs) in marine fishes from China: Levels, distribution and risk assessment, *Chemosphere* 89 (2012) 944–949

Оценка на безопасност на черноморски организми по отношение на хлорорганични пестициди

Хлорорганичните пестициди (ОСР) обикновено се категоризират като токсични съединения, нарушаващи ендокринната система и е известно, че увеличават риска от рак, свързан хормоналния баланс (Ejaz, S et al., 2004). Освен това ОСР проявяват много токсични ефекти върху развитието, функциите на имунната и репродуктивната системи на животните (Singh, Z et al., 2016). Епидемиологичните изследвания потвърждават положителна връзка между високите концентрации на ОСР и честотата на сърдечносъдови заболявания, хипертония и други заболявания при хората (Jayaraj, R et al., 2016). Алдрин, ендрин, хептахлор, дихлордифенилтрихлороетан (DDT) и други ОСР бяха сред първите УОЗ посочени в Стокхолмската конвенция през 2001 г. като „мръсната дузина“ УОЗ. По-късно, през 2009 г. хексахлороциклохексанът (HCH) с изомери като α -HCH, β -HCH и γ -HCH бяха добавени към този списък (Stockholm Convention, 2001).

Хексахлороциклохексанът (HCH) съществува и е разпространен в околната среда под формата на изомери. Изомерът γ -HCH е линдан, инсектицидът, принадлежащ към групата на халогенираните циклични въглеводороди. Той е канцерогенен за хората (IARC група 1) и се свързва с неходжкинов лимфом за професионални експозиции в селското стопанство (IARC 2016; Mosconi G, et al., 2022). През 2002 г. The Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues (JMPR, WHO 2002) установи ADI от 500 ng kg⁻¹ b.w. на ден въз основа на дългосрочно проучване за канцерогенност на линдан при плъхове. Изчисленият дневен прием чрез консумация на риба за линдан е от 0,0002 до 0,0009 ng/kg/b.w. на ден (за сафрид и трикона съответно), което е доста под ADI. Изомерите α -HCH и β -HCH обаче са посочени от онлайн базата данни на Интегрираната информационна система за риска (IRIS 2002) на Агенцията за защита на околната среда (EPA) като канцерогенни, с ефекти като чернодробни възли и хепатоцелуларни карциноми, което би представлявало висок риск от рак (CR). Затова при изчисляване на DI бяха включени и изомерите на HCHs – Таблица 3.12.

Таблица 3.12. Резултати за средни стойности на сумарно HCHs, Изчислен дневен прием и коефициент на риск за черноморски видове риба

Вид риба	HCHs, ng/g ww	Дневен прием (DI), ng/kg bw day	ADI, ng/kg day (WHO 2002)	RQ
каля	2,78	0,52	500	0,0010
трициона	5,46	1,03	500	0,0021
кефал	1,79	0,34	500	0,0007
сафрид	2,53	0,48	500	0,0010
хамсия	4,98	0,94	500	0,0019
калкан	2,93	0,55	500	0,0011
чернокоп	2,32	0,44	500	0,0009
карагьоз	3,92	0,74	500	0,0015

Сумарно HCHs (като сума от концентрациите на изомери α -HCH, линдан и δ -HCH).

В настоящото проучване изчислената най-висока стойност на коефициента на риск (RQ) за HCHs е при трициона - 0.0021.

Извод: Резултатите от оценката на безопасността по отношение на замърсяването с HCHs за всички видове черноморски риби показват коефициент на риск RQ много по-малък от 1, което показва, че консумацията на черноморските риби не представлява риск за човешкото здраве по отношение на групата HCHs.

Изготвил: доц. Станислава Георгиева

Литературни източници:

- Ejaz, S.; Akram, W.; Lim, C.W.; Lee, J.J.; Hussain, I. Endocrine disrupting pesticides: A leading cause of cancer among rural people in Pakistan. *Exp. Oncol.* **2004**, 26, 98–105.
- IARC. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Volume 113: DDT, Lindane, and 2, 4-D; IARC: Lyon, France, 2016; Volume 113, pp. 1–513.
- IRIS. Available online: <https://cfpub.epa.gov/ncea/iris/search/index.cfm> (accessed on 22 June 2022).
- Jayaraj, R.; Megha, P.; Sreedev, P. Organochlorine pesticides, their toxic effects on living organisms and their fate in the environment. *Interdiscip. Toxicol.* **2016**, 9, 90.
- Mosconi G, Di Cesare F, Arioli F, Nobile M, Tedesco DEA, Chiesa LM, Panzeri S. Organohalogenated Substances and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Fish from Mediterranean Sea and North Italian Lakes: Related Risk for the Italian Consumers. *Foods*. 2022; 11(15):2241. <https://doi.org/10.3390/foods11152241>
- Singh, Z.; Kaur, J.; Kaur, R.; Hundal, S.S. Toxic effects of organochlorine pesticides: A review. *Am. J. Biosci.* **2016**, 4, 11.
- Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants (POPs)-Texts and Annexes. United Nations Environ Program. Available online: <http://chm.pops.int/TheConvention/ThePOPs/AllPOPs/tabid/2509/Default.aspx> (accessed on 22 June 2022).
- World Health Organization. Report of the Joint Meeting of the FAO Panel of Experts on Pesticide Residues in Food and the Environment and the WHO Core Assessment Group on Pesticide Residues Rome, Italy, 16–25 September 2002; World Health Organization, Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues: Geneva, Switzerland, 2002.

----- www.eufunds.bg -----

Оценка на безопасност на рибите, свързана със замърсяването с индикаторни и диоксиноподобни PCB

През последното десетилетие полихлорирани бифенили (PCB) привлякоха отново вниманието на научната общност поради нови доказателства, сочещи тяхното постоянно присъствие в околната среда и на работните места и потенциалните рискове за хората. Експозицията на PCB от околната среда към хората се извършва по различни пътища, но доминиращият път е поглъщането на замърсени храни (риба, морски дарове и млечни продукти), последвано от вдишване (на замърсен въздух), и в по-малка степен при контакт с кожата. Освен това се наблюдава значителна корелация между експозицията на PCB и повишените концентрации на PCB в кръвта при хора, работещи на работни места, замърсени с PCB и местата за рециклиране на електронни отпадъци (Montano et al., 2022). Няколко епидемиологични проучвания показват, че излагането на околната среда и професионалната експозиция на високи концентрации на PCBs е свързано с различни неблагоприятни ефекти, като невропсихологични дефицити, деменция, дисфункции на имунната система, сърдечно-съдови заболявания, влияние върху репродуктивната система и дори рак.

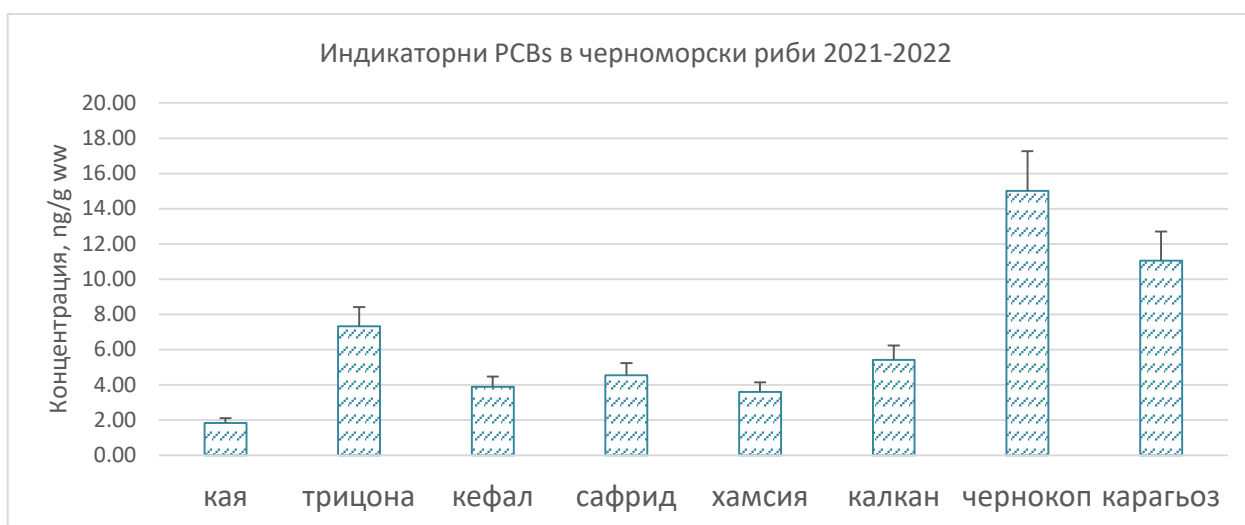
Европейската комисия определя шест полихлорирани бифенили PCBs 28, 52, 101, 138, 153 и 180 като индикаторни (I-PCBs) за оценяване степента на липофилно замърсяване (Commission EU, 1999). Най-токсичните PCBs са № 77, 105, 118, 126, 156, 169, които имат сходна токсичност с тази на диоксините и са наречени диоксиноподобни. Диоксиноподобните PCBs (DL-PCBs) се използват за оценка на риска от консумацията на замърсени храни, включително риба. Сумата от шестте PCBs (IUPAC № 28, 52, 101, 138, 153 и 180) включва около половината от общото количество недиоксиноподобни PCBs, които присъстват във фуражите и храните. Те се наричат индикаторни PCBs (I-PCBs) за оценка на риска за човешкото здраве.

Редица автори посочват, че месото, млечните продукти и рибата съставляват над 90% от приема на PCB за населението (Schecter A et al., 1997; Domingo JL et al., 2006; Zhang J et al., 2012).

В Европейският съюз са определени максимално допустими стойности за индикаторни I-PCBs за мускулно месо от риба и рибни продукти 75 ng/g ww (за сума от 6 индикаторни PCBs) (COMMISSION REGULATION (EU) No 1259/2011). В настоящото проучване при всички видове риба резултатите за I-PCBs са много по-ниски от тази стойност (Фигура 3.20).

В Германия са определени максимално допустимите граници за 6 индивидуални PCB (SHmV, 2003) както следва:

- за PCB 153 и 138 за морска риба е 100 ng/g ww,
- за PCB 28, 52, 101 и 180 е 80 ng/g ww.



Фигура 3.20. Сравнение на сума от 6 Индикаторни PCBs, ng/g ww по видове черноморски риби

Дневен прием на РСВ чрез консумация на риба

За оценка на риска от консумация на риба се изчислява дневен прием на индикаторни PCBs (Darnerud et al., 2006; Fromberg et al., 2011) по формулата дадена по-горе – Таблица 3.13. За сравнение се използват RfD стойности на USEPA (Агенцията по околната среда на САЩ).

Методите за оценка на риск от консумация на замърсени храни обикновено се основават на използването на коефициент на риска (RQ). RQ е съотношение между изчислена дневна експозиция от даден замърсител, която се приема чрез храната и референтната доза RfD, под която няма да има осезаем риск при хронична експозиция. Ако RQ надвишава единица, може да се предположи, че съществува риск за потенциални ефекти върху здравето.

Таблица 3.13. Сумарни концентрации на и-PCB, ng/g ww (wet weight), изчислен дневен прием и коефициент на риск за черноморски видове риба

Вид риба	Сума I-PCB, ng/g ww	Дневен прием (EDI), ng/kg bw day	RfD, ng/kg day (US EPA)	RQ
кая	1,83	0,35	20	0,017
трицона	7,32	1,38		0,069
кефал	3,89	0,73		0,037
сафрид	4,55	0,86		0,043
хамсия	3,60	0,68		0,034
калкан	5,42	1,02		0,051
чернокоп	15,01	2,83		0,142
карагьоз	11,05	2,08		0,104

Изчислените коефициенти на риска, свързан с хронична експозиция на полихлорирани бифенили чрез консумацията на риба, са много по-ниски от единица. Това означава, че дневния прием на тези хлорорганични замърсители не крие риск за хората.

----- www.eufunds.bg -----

Токсична еквивалентна концентрация на диоксиноподобни РСВ

Друг подход за оценка експозиция и рискове от хранителния прием на токсични вещества е методологията TEQ, чрез използване на фактори за токсична еквивалентност (TEF) (van den Berg, 2006). Концентрациите на диоксиноподобните РСВ (DL-PCB) се използват за изчисляване на т. нар. токсични еквивалентни концентрации (TEQ) за оценка на безопасността на черноморските риби. DL-PCB се разделят на не-орто (PCB 77, 81, 126, 169), моно-орто (105, 114, 118, 123, 156, 157, 167, 189) и ди-орто (PCB 170 и 180) - заместени РСВ. Те показват подобни на диоксините токсикологични свойства и са много стабилни и устойчиви на биоразграждане и метаболизиране (Van den Berg, 2006). Токсичните еквивалентни концентрации (TEQ) на не-орто (PCB 77, 126, 169) и моно-орто (PCB 105, 118, 156) дават информация за въздействието на тези конгенери върху организмите и осигуряват полезни данни за тежестта на токсичното влияние.

Всеки един от диоксиноподобните РСВ проявява различна токсичност. Световната здравна организация (СЗО) въвежда понятието фактори за токсична еквивалентност (TEFs) за оценка на токсичността на всеки един от DL-PCB и диоксините. През 1998 г СЗО предлага TEF, разработени въз основа на относителната токсичност на всеки PCB сравнена с 2,3,7,8-TCDD (2,3,7,8- тетрахлордибензодиоксин) (Van den Berg, 1998). За всеки DL-PCB СЗО определя индивидуални TEF, на базата на които се изчисляват техните токсични еквивалентни концентрации (TEQ). По-късно през 2005 г тези коефициенти са преразгледани на база на актуални токсикологични проучвания и са заменени с нови TEF - WHO 2005 като някои от TEF са отпаднали (за PCB 170 и 180) (Van den Berg, 2006). - таблица 3.14.

Таблица 3.14. Токсични еквивалентни фактори (TEFs) за диоксиноподобни РСВ

PCB UPAC №	TEF -WHO 1998	TEF -WHO 2005
Не-орто заместени РСВ		
PCB 77	0.0001	0.0001
PCB 126	0.1	0.1
PCB 169	0.01	0.03
Моно-орто заместени РСВ		
PCB 105	0.0001	0.00003
PCB 118	0.0001	0.00003
PCB 156	0.0005	0.00003
Ди-орто заместени РСВ		
PCB 170	0.001	-
PCB 180	0.0001	-

Според методологията на СЗО TEQ се изчислява по формулата:

$$TEQ = \sum [PCDD_i * TEF_i] + \sum [PCDF_i * TEF_i] + \sum [PCB_i * TEF_i],$$

където PCDD са полихлорирани дибензо диоксини,

PCDF – полихлорирани дибензо фурани

PCB – диоксиноподобни полихлорирани бифенили dl-PCB

В Регламент No 1259/2011 Европейският съюз определя максимално ниво за диоксини + диоксиноподобни PCB за риби и продукти от риба, предназначени за консумация от хора - 6.5 pg/g wet weight WHO-TEQ (COMMISSION REGULATION (EU) No 1259/2011).

Предложената от СЗО методология за изчисляване на TEQ е предназначена главно за оценяване на експозицията и риска за хората чрез поглъщане през устата (например, чрез хранителен прием). Повече от 90 % от приеманите диоксини и диоксиноподобни PCB идват от хранителни продукти от животински произход. Затова хранителните продукти и в някои случаи почвата, се считат за потенциален източник на диоксини и диоксиноподобни PCB (EFSA, 2012). Затова е важно да се изчисли дневен прием и на диоксиноподобни PCB.

За оценка на риска от хранителен прием на диоксиноподобни PCB може да бъде изчислен Дневен прием (DI) чрез умножаване на стойностите за средната дневна консумация на риба от населението (за България - 13.2 g) с концентрацията на dl-PCB (изразена като TEQ pg/g ww), измерени в настоящото проучване, ако се предположи, че средното телесно тегло на човек е 70 kg (Xia C. et al., 2012) – по формулата за дневен прием по-горе – Таблица 3.15.

Таблица 3.15 Резултати за сумарно съдържание на диоксиноподобни PCB (сума дп-PCB) в черноморски риби (ng/g ww), токсична еквивалентна концентрация (pg TEQ/g ww), дневен прием EDI (pg TEQs/kg bw day), седмичен прием EWI, pg TEQ / kg bw week

Вид риба	Сума DL-PCB, ng/g ww	pg TEQ-WHO 2005 /g ww	Дневен прием, pg TEQ / kg bw	TDI, WHO 2000	Седмичен прием, pg TEQ / kg bw	TWI, EFSA 2018
каля	0,36	0,011	0,002	1-4 pg TEQ/kg bw	0,014	2 pg TEQ/kg bw
трицона	3,01	0,099	0,019		0,131	
кефал	0,82	0,028	0,005		0,037	
сафрид	0,92	0,028	0,005		0,037	
хамсия	1,15	0,036	0,007		0,047	
калкан	1,28	0,038	0,007		0,051	
чернокоп	3,25	0,104	0,020		0,137	
карагьоз	3,59	0,125	0,024		0,165	

TDI - tolerable daily intake

В Регламент No 1259/2011 на ЕС е определено максимално допустимо ниво за диоксини и диоксиноподобни PCB за риби и продукти от риба, предназначени за консумация от хора – 6,5 pg/g wet weight WHO-TEQ.

В Директива 39/2013 г на ЕС за оценка на състоянието на околната среда е определен СКОС в биота за сума от диоксини и диоксиноподобни PCB 6,5 pg/g wet weight WHO-TEQ. Получените резултати за сума от диоксиноподобни PCB за всички изследвани видове черноморски риби са в границите от 0,011 до 0,125 pg TEQ-WHO 2005 /g ww и не надвишават тези максимално допустими граници – Таблица 3.15.

За да се характеризира потенциалният риск за здравето на хората, свързан с приема на DL-PCB чрез консумация на риба, бяха изчислени дневен и седмичен прием (TWI) – таблица 3.15. Световната здравна организация определя Допустим дневен прием (tolerable daily intake - TDI) като оценка на количеството на токсичното вещество, което при попадане в храна може да бъде поглъщано ежедневно през целия живот без значим риск за здравето.

През 1998 г. СЗО приема **Допустим дневен прием** за диоксиноподобни PCB от 1 - 4 pg TEQ kg⁻¹ bw. Европейската комисия през 2001 г предлага **Допустим седмичен прием** от 14 pg TEQ kg⁻¹ bw (съответстваща на TDI от 2 pg TEQ kg⁻¹ bw), предложен от Научен комитет по храните (Scientific Committee on Food - SCF).

През ноември 2018 г. Европейската агенция по безопасност на храните EFSA определя **нова стойност** за допустим седмичен прием (седем пъти по-малък) - 2 pg WHO-TEQ kg/bw.

Д-р Рон Хугенбум от панела CONTAM и председател на работната група за диоксините аргументира промяната: „Основните причини за намалението бяха наличието на нови епидемиологични и експериментални данни върху животни за токсичността на тези вещества и по-прецизни техники за моделиране за прогнозиране на нивата в човешкото тяло с течение на времето.“ (Mikołajczyk 2020). Установено е, че кулинарната обработка, като пържене, варене или пушене може да повлияе на концентрациите на съединенията в рибите (Bayen et al., 2005).

В заключение: Трябва да се подчертае, че оценката на риска е основана на средното съдържание на dl-PCB за вида риба и следователно консумирането на едри видове риби, особено карагьоз и лефер (с високо липидно съдържание), може да представлява риск за здравето при честа консумация на големи количества. Имайки предвид ниската консумация риба от българските потребители, излагането на dl-PCB не би представлявало риск за здравето.

Изготвил:

доц. Станислава Георгиева

Литературни източници:

- МОСВ, 2005а, Обща характеристика на устойчивите органични замърсители (УОЗ)
- Bayen, S., Barlow, P., Lee, H.K., Obard, J.P., 2005. Effect of cooking on the loss of persistent organic pollutants from salmon. *J. Toxicol. Environ. Health, Part A* 68, 253–265. <https://doi.org/10.1080/15287390590895126>.
- Bayarri S, Baldassarri LT, Iacovella N, Ferrara F, di Domenico A. (2001) PCDDs, PCDFs, PCBs and DDE in edible marine species from the Adriatic Sea. *Chemosphere*;43:601–10.
- COMMISSION REGULATION (EU) No 1259/2011
- Domingo JL, Bocio A, Falcó G, Llobet JM. Exposure to PBDEs and PCDEs associated with the consumption of edible marine species. *Environ. Sci. Technol.* 2006;40:4394–4399.
- Engler MM, Engler MB. (2006) Omega-3 fatty acids. Role in the cardiovascular health and disease. *J Cardiovasc Nurs*;21:17–24.
- EU-SCOOP (2000) European Commission,. Scientific Cooperation on Questions Relating to Food. Assessment of dietary intake of dioxins and related PCBs by the population of EU Member States, Brussels, Belgium. Task 3.2.5, June 2000
- Fillmann, G., Readman, J.W., Tolosa, I., Bartocci, J., Villeneuve, J.-P., Cattini, C., Mee, L.D. Persistent organochlorine residues in sediments from the Black Sea, *Marine Pollution Bulletin*, 2002, 44, 122.
- Fung C.N., Lam J.C.W., Zheng G.J., Connell D.W., Monirith I., Tanabe S., Richardson B.J., Lam P.K.S. (2004). Mussel-based monitoring of trace metal and organic contaminants along the east coast of China using *Perna viridis* and *Mytilus edulis*. *Environ. Pollut.* 127, 203–216.
- Iwata, H., Tanabe, S., Sakai, N., Tatsukawa, R., (1993). Distribution of persistent organochlorines in the oceanic air and surface seawater and the role of ocean on their global transport and fate. *Environmental Science and Technology* 27, 1080–1098.
- Li X., Y. Gan, X. Yang, J. Zhou, J. Dai, Muqi Xu (2008) Human health risk of organochlorine pesticides (OCPs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) in edible fish from Huairou Reservoir and Gaobeidian Lake in Beijing, China *Food Chemistry* 109 348–354
- Mikolajczyk S, Warenik-Bany, M, Maszewski S, Pajurek, M. Dioxins and PCBs – Environment impact on freshwater fish contamination and risk to consumers, *Environmental Pollution*, Volume 263, Part B, August 2020, 114611
- Montano, Luigi et al. "Polychlorinated Biphenyls (PCBs) in the Environment: Occupational and Exposure Events, Effects on Human Health and Fertility." *Toxics* vol. 10,7 365. 1 Jul. 2022, doi:10.3390/toxics10070365
- Perugini M, Cavaliere M, Giammarino A, Mazzone P, Olivieri V, Amorena M. (2004) Levels of polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in some edible marine organisms from the Central Adriatic Sea. *Chemosphere*; 57:391–400.
- Polak-Juszczak, L., Waszak, I., Szlinder-Richert, J., & Wójcik, I. (2022). Levels, time trends, and distribution of dioxins and polychlorinated biphenyls in fishes from the Baltic Sea. *Chemosphere*, 306, 135614. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.135614>
- Schechter A, Cramer P, Boggess K, Stanley J. & Olson JR. Levels of dioxins, dibenzofurans, PCB and DDE congeners in pooled food samples collected in 1995 at supermarkets across the United States. *Chemosphere*. 1997;34:1437–47.
- Tanabe S, Madhusree B, Amaha AO, Tatsukawa R, Miyazaki N, Ozdamar E, et al. (1997) Persistent organochlorine residues in harbour porpoises (*Phocoena phocoena*) from the Black Sea. *Mar Pollut Bull*; 34:338–47.
- Tornkvist A., Glynn A., Aune M., Darnerud P.O., Ankarberg E.H. (2011) PCDD/F, PCB, PBDE, HBCD and chlorinated pesticides in a Swedish market basket from 2005 – Levels and dietary intake estimations, *Chemosphere* 83 193–199
- Van den Berg M, Birnbaum LS, Denison M, De Vito M, Farland W, Feeley M, et al. (2006) The 2005 World Health Organization reevaluation of human and Mammalian toxic equivalency factors for dioxins and dioxin-like compounds. *Toxicol Sci*; 93(2):223–41.
- Zhang J, Feng L, Chen R, Feng T, Dong S. & Shen H. Levels of polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in edible shellfish from Xiamen (China) and estimation of human dietary intake. *Food and Chem Toxicol.* 2012;50:4285–4291.

Оценка на безопасност на морските организми по отношение на замърсяването с токсични метали

Нарастващата урбанизация и индустриализация, както и бързото развитие на селското стопанство, туризма и риболова, увеличават концентрацията на тежки метали, изхвърляни от големите реки в крайбрежните води на Черно море (Bat et al., 2018; Zhelyazkov G, et al, 2018). Натрупването на тежки метали и токсични елементи се отразява неблагоприятно на крайбрежната екосистема.

Замърсителите в крайна сметка се натрупват в морската биота, особено в рибите и мидите (Plavan G, et al., 2017; Omar S, et al., 2019). Морските бозайници и хищните видове риба се намират на върха на хранителната верига в морската екосистема. Тези морски организми натрупват замърсители от водата, храната, седиментите и суспендираните частици във водния стълб (Ali et al., 2019). Впоследствие металите преминават към хората, които консумират замърсена риба, като по този начин застрашават тяхното здраве. Екологичните проблеми, свързани със замърсяването на Черно море с тежки метали, са от значение за всички страни по черноморското крайбрежие и след влизането на България и Румъния в Европейския съюз проблемът засяга и европейската общност (Bat et al., 2018).

Политиката за морската среда на Европейският съюз е в основата на Рамковата директива за морска стратегия (РДМС), която разглежда въпросите на мониторинга на химически замърсители, включително токсични елементи в ядивната тъкан на морски дарове и ограничаване на преноса на тежки метали от морската биота към човека чрез хранителната верига (Directive 2008/56/EC). Критериите за оценка на замърсяване на морската среда и биота са определени в РДМС чрез Дескриптор 8 „Концентрациите на замърсители са на нива, които не предизвикват ефект на замърсяване“ и Дескриптор 9 „Замърсителите в рибата и другите морски организми за консумация от човека не надвишават нивата, установени от законодателството на Общността или други съответни стандарти“ (Directive 2008/56/EC). Целта на РДМС по отношение на Дескриптори 8 и 9 е да се гарантира, че замърсителите присъстват в морските храни в безопасни количества.

Съгласно списъкът на опасните приоритетни вещества създаден от Агенцията за токсични вещества и регистър на заболяванията (ATSDR, 2013), токсичните метали и металоиди, са подредени в низходящия ред според тяхната опасност за човешкото здраве $As > Pb > Cd > Ni > Zn > Cr > Cu > Mn$ (Leung et al., 2014).

Рибата е важен източник на протеини, богати на полиненаситени мастни киселини (n-3), витамини и минерали, които са от съществено значение за здравето и допринасят за по-ниски нива на сърдечно-съдови заболявания. Рибата също така съдържа високи нива на основни микроелементи като цинк, селен, хром, желязо, мед, които са важни за човешкият организъм, но някои от тях имат токсични свойства при високи концентрации (Polak-Juszczak, L. 2015).

Оценката на безопасност на морските организми и риска за хората е направена на базата на резултатите от химичните анализи на токсични елементи в анализирани проби риби и миди. Мониторинга проведен в периода февруари 2021 – май 2022 г включва анализиране на 46 проби морски организми – 34 проби риби (осем вида) и 12 проби черна морска мида *Mytilus galloprovincialis*. Концентрациите на токсични метали са определени чрез индуктивно

свързана плазма - масспектрометрия (ICP-MS) след микровълнова минерализация на пробите.

Определени са нивата на Cd, Pb, As, Hg, Zn, Al, Ni, Mn, Se, Co и Cr в ядивната тъкан на най-консумираните видове риба в България, за да се оцени рискът за човешкото здраве.

Рибата като храна трябва да отговаря на изискванията, определени в законодателството на ЕС за храните, т.е. приемливо съдържание на Pb, Cd и Hg. Максимално допустимите нива на замърсители в храните в Европа са определени с Регламент (ЕО) № 1831/2006 (Европейска комисия, 2006 г.), с изменения (Chłabis-Mazurek, A., 2021). Максимално допустимите нива на живак, олово и кадмий в мускулната тъкан на повечето видове риби са съответно 0,5; 0,3 и 0,05 mg/kg ww (wet weight).

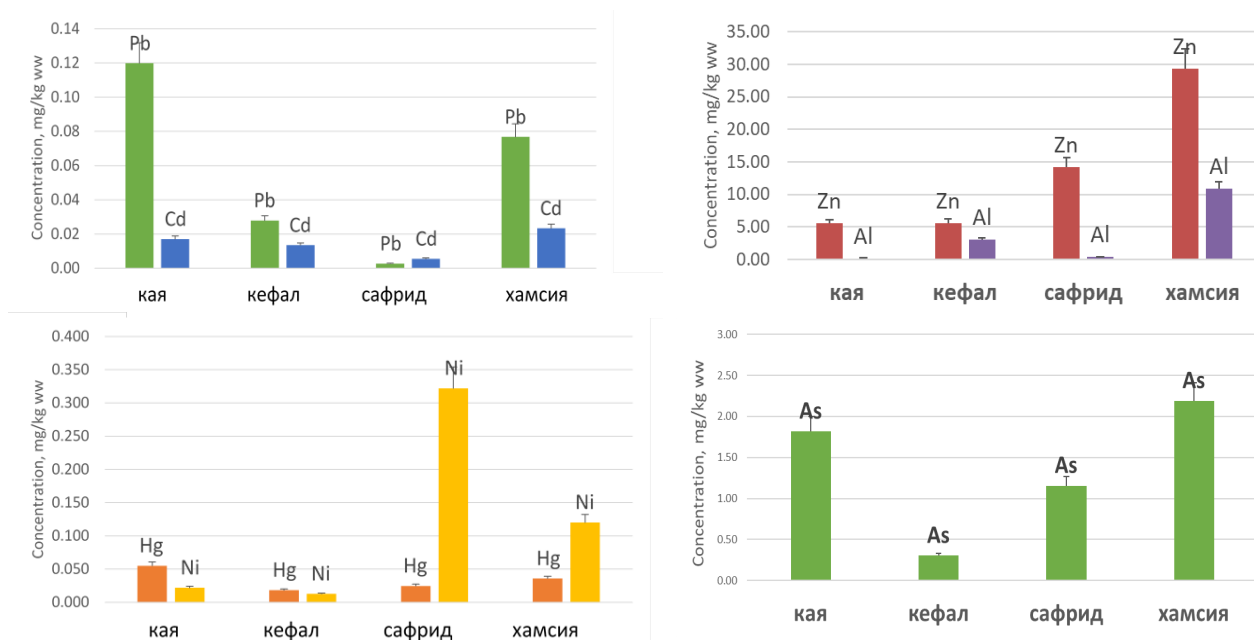
Тези елементи могат да се натрупват в тъканите, причинявайки тежки последици за здравето на хората, когато се консумират в големи количества. Продължителното излагане на тях може да доведе до периферна невропатия, сърдечно-съдови заболявания или рак. Острото отравяне с арсен първоначално се проявява с гадене, повръщане, коремна болка и тежка диария (EFSA (CONTAM), 2009). Професионалното излагане или излагането на околната среда на Cd може да причини хронични здравословни проблеми. Основните включват белодробни, сърдечно-съдови, хематологични, чернодробни, бъбречни, мускулно-скелетни и репродуктивни нарушения. Cd също се счита за канцероген. Може да допринесе за рак на много органи като белите дробове (Bhattacharya et al., 2020).

Вредните ефекти на Hg засягат предимно централната и периферната нервна система, кожата и стомашно-чревния тракт. Живакът може да причини неблагоприятни ефекти върху бъбречната функция при поглъщане. Има съобщения за бъбречни ефекти, вариращи от повишен протеин в урината до бъбречна недостатъчност. Неврологични и поведенчески смущения могат да се наблюдават след вдишване, поглъщане или дермално излагане на различни Hg съединения. Отравянето с живак се проявява със симптоми като тремор, безсъние, загуба на паметта, невромускулни промени, главоболие и когнитивна и двигателна дисфункция (Mielcarek et al., 2022).

Оловото (Pb) е елемент, който се натрупва в кръвта и костите, както и в няколко органа: черния дроб, бъбреците, мозъка и кожата. Може да има остри и хронични ефекти, тъй като човешкото тяло го отделя бавно. Доказано е, че Pb влияе неблагоприятно върху функциите на репродуктивната, чернодробната, ендокринната, имунната и храносмилателната системи (Charkiewicz and Backstrand, 2020). При индивиди, които не са изложени на професионална експозиция, основният път на навлизане на As, Cd, Hg и Pb в тялото е чрез консумация на храна (Vazquez et al., 2015).

В анализираниите рибни видове в настоящото изследване е установено по-високо съдържание на живак (Hg) и олово (Pb) в кая (бентосен вид риба) – Фигура 3.21. Най-високи нива на никел и хром са открити в сафрид и варират от nd до 0,322 и 0,042 mg/kg, съответно. Арсен (As) е открит във всички проби от риба в диапазона от 0,30 mg/kg (в кефал) до 2,63 mg/kg (в хамсия). Концентрациите на токсичните елементи Cd и Pb във всички видове риби от българското Черноморие са установени в диапазона от nd до 0,073 и 0,564 mg/kg (максимум в кая от Черноморец – южната част на българското крайбрежие), съответно, но средните нива са под допустимите граници на ЕС и СЗО. По отношение на замърсяването с Cd само една проба кая е с превишение на допустимото ниво. В 41% от анализираниите проби риба Cd не се открива. Румънски учени докладват за концентрации на кадмий в мускулна тъкан на

изследвани видове риби от Черно море през 2014 - средни стойности от 0,0008–0,0338 mg/kg (Plavan et al., 2017). Резултатите от настоящото проучване показаха по-ниски стойности: Cd е в диапазона от <LOD до 0,023 mg/kg (най-висока стойност в кая).



Фигура 3.21. Средна концентрация на токсични елементи, mg/kg ww в риби от Българското Черноморие

Концентрацията на Pb, Cd и Hg в изследваните видове риби не надвишава допустимите стойности в Европейското законодателство – Регламент 1881 от 2006 . Според резултатите от изследвания на други автори, съдържанието на тежките метали в мускулите на различни видове риби е в следните граници: за Pb 0,03–8,62 mg/kg (Leung, H.M. et al., 2014); за Cd от 0,02–0,74 mg/kg (Leung, H.M. et al., 2014; Bawuro, A.A et al., 2018; Ahmed, A.S.S et al., 2019) и за Hg от 0,056–0,89 mg/kg (Mehouel, F et al., 2019; Mahjoub, M et al., 2021) съответно. Сравнението на съдържанието на Pb, Cd и Hg в изследваните видове риби от Черно море в проведения мониторинг през 2021 – 2022 г е по-ниско от тези стойности.

Нивото на експозиция чрез хранителен прием на определен замърсител може да се представи като среден дневен прием (DI – daily intake) (So et al., 2005; Nasreddine et al., 2002) и се изчислява по формулата:

$$DI = \frac{C \cdot FC}{BW}$$

където

EDI - дневен прием (mg/kg bw дневно),

C - средна концентрация на елемента в мускулна тъкан на рибата (mg/kg ww),

FC (fish consumption) – средно дневна консумация на риба - 0,013 kg на човек от населението;

BW (body weight) — средно телесно тегло на възрастен (прието 70 kg)

При изчисленията на дневния прием сме приели стойност за средната годишна консумация на риба - 4.8 kg на човек според данни на НСИ (НСИ, 2010). Тази стойност включва

сладководни, морски и култивирани рибни видове. Дневният прием се равнява на 0,013 кг риба, а средно телесно тегло на възрастен човек е 70 кг.

Средната консумация заедно с измерената концентрация на даден замърсител в тъканите на рибите, се използват за изчисляване на дневен прием и коефициент на опасност THQ. За сравнение могат да се използват RfD стойности (референтни дози) - критериите на US EPA (Агенцията по околната среда на САЩ), които са оценка на експозицията - количеството на токсичното вещество, което при попадане в храна може да бъде поглъщано ежедневно през целия живот на човека без риск за здравето.

Целевият коефициент на опасност (THQ) се използва за оценка на потенциалния неканцерогенен риск за потребителите на замърсената храна. THQ е съотношението на изчислената експозиция (EDI) към пероралната референтна доза (RfD US-EPA) и е изчислен по формулата (Heshmati, A 2017):

$$THQ = EDI/RfD$$

RfD—референтна доза (mg/kg bw дневно) (US EPA)

Определен е и общ целеви индекс на опасност ТТНQ, който показва общото натоварване от въздействието на повече от един токсичен елемент, изчислява се чрез сумиране на коефициентите на опасност за токсичните елементи живак, олово, кадмий и цинк (Heshmati, A 2017).

$$TTNQ = THQ (Hg) + THQ (Pb) + THQ (Cd) + THQ (Zn)$$

Дневен и седмичен прием са изчислени на базата на резултатите за концентрации на токсични елементи в най-често консумираните местни видове риби от населението в България (каля, трициона, кефал, сафрид, хамсия) – Таблица 3.16.

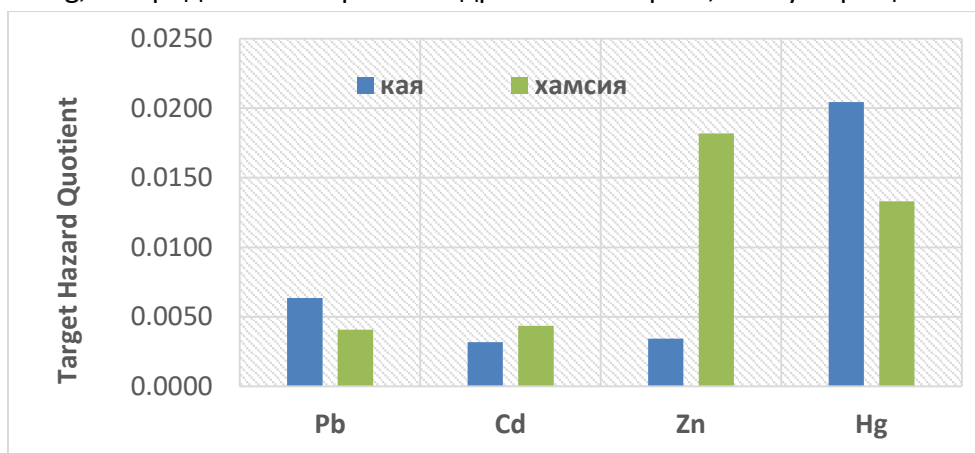
Таблица 3.16. Очакван дневен прием EDI и прогнозен седмичен прием EWI (средни стойности, mg/kg телесно тегло/ден) на Pb, Cd, Zn, As, Ni и Hg чрез консумация на риба от българското черноморско крайбрежие

Вид риба	EDI, mg/kg body wt./day					
	Pb	Cd	Zn	As	Ni	Hg
каля	0.000022	0.000003	0.001029	0.000337	0.000004	0.000010
трициона	0.000000	0.000003	0.003248	0.000290	0.000013	0.000003
кефал	0.000005	0.000003	0.001047	0.000056	0.000002	0.000003
сафрид	0.000001	0.000001	0.002650	0.000215	0.000060	0.000005
хамсия	0.000014	0.000004	0.005460	0.000406	0.000022	0.000007
Среден EDI, mg/kg body wt./day	0.000008	0.000003	0.002687	0.000261	0.000020	0.000006
Среден EWI, mg/kg body wt./day	0.000056	0.000027	0.018809	0.001827	0.000140	0.000042
PTDI, mg/kg body wt./day	0,25	0,07	70			0.035
PTWI, mg/kg body wt./day	1,75	0,49	490			0.28
RfD, mg/kg body wt. /day (US EPA, 2000)	0.0035	0.001	0.3	0.0003*	-	0.0005
Средна стойност THQ	0.0024	0.0029	0.0090	0.870	-	0.0113

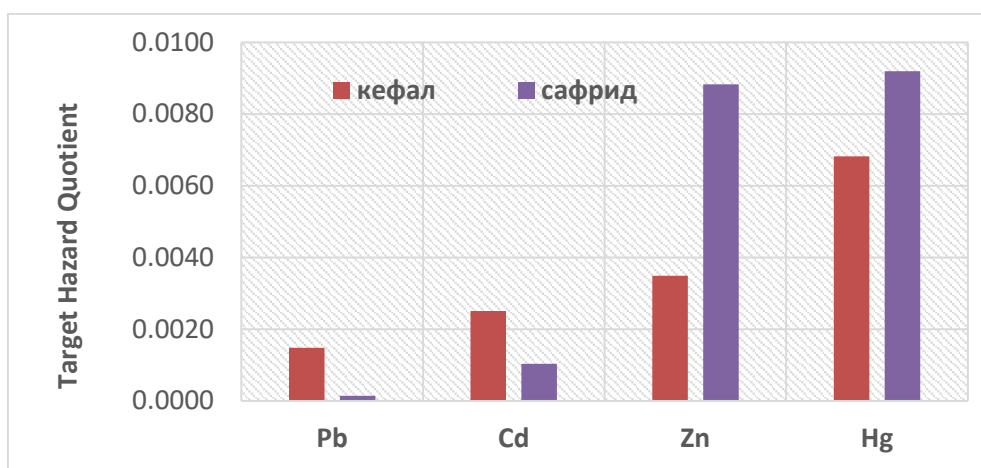
Световната здравна организация (WHO) е определила PTDI - Допустим поносим дневен прием и PTWI - Допустим поносим седмичен прием за определени елементи.

RfD е референтната доза за дневен прием на метал (металоид) без вреда за здравето и е определен за елементи с токсични характеристики от Агенцията за опазване на околната среда на САЩ (US EPA, 2000), *- RfD за неорганичен арсен

Допустимият седмичен прием за живак (TWI) се определя от Европейския орган за безопасност на храните (EFSA, 2012) и е 0,280 mg Hg/седмица за потребители с тегло 70 kg. За оценка на неканцерогенен риск е изчислен Коефициент на опасност THQ – Фигури 3.22. и 3.23. Приемливата стойност на THQ и TTHQ е <1 (Heshmati, A 2017). Във всички изследвани риби стойностите на THQ и TTHQ са по-малки от 1, което означава, че тежките метали, т.е. Pb, Cd, Zn и Hg, не представляват риск за здравето на хората, консумиращи такива видове риба.



Фигура 3.22. Коефициенти на опасност за Pb, Cd, Zn и Hg чрез консумация на *Neogobius melanostomus* (goby) и *Engraulis encrasicolus ponticus* (хамсия) от българското черноморско крайбрежие



Фигура 3.23. Коефициенти на опасност за Pb, Cd, Zn и Hg чрез консумация на сафрид (*Trachurus Mediterraneus ponticus*) и кефал (*Mugil cephalus*) от Черно море

Резултатите от изчислените коефициенти на опасност показват THQ < 1, което означава, че е малко вероятно експонираната популация да изпита някои неканцерогенни неблагоприятни ефекти през живота си.

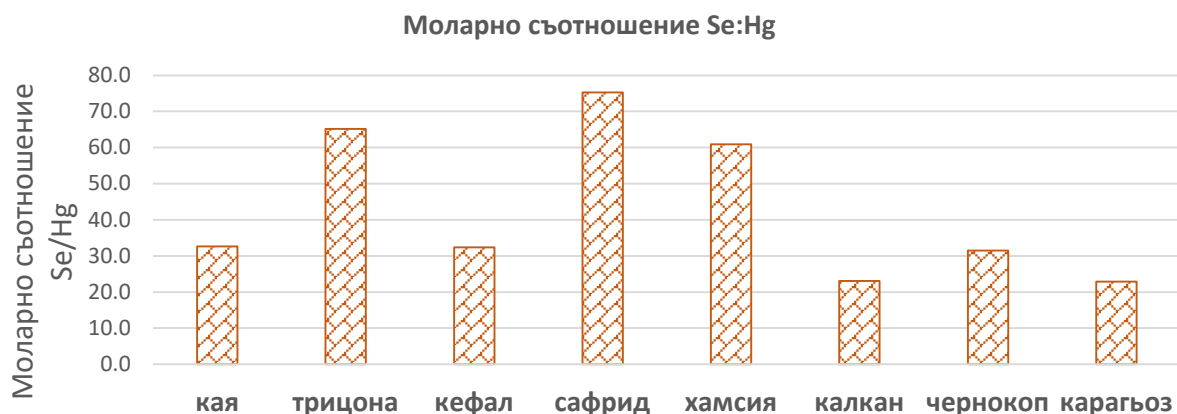
Моларно съотношение Se:Hg

Токсичността на живака зависи от много фактори, включително неговото съвместно присъствие с други метали. Един от тях е селенът. Живакът се свързва със селен в комплекси като селенопротеин $[(\text{HgSe})_n]_m$ и простото, но стабилно съединение - живачен селенид (HgSe), като и двете намаляват токсичността на живака (Yoneda & Suzuki, 2002). Според Rezaei et al. (2012), живакът реагира първо с редуцирана форма на селенит в еквимоларно съотношение. Видовете, типът тъкан и химическите форми на селен и живак оказват влияние върху сложния процес на детоксикация (Chen et al., 2002). Защитният ефект на селена срещу токсичността на метилживака е известен от близо три десетилетия (Choi et al., 2008; Ringdal & Julshamn, 1985).

Редица проучвания показват, че добавките със селен противодействат на отрицателните ефекти на метилживака (Berry & Ralston, 2008). Тези проучвания показват също, че острата токсичност на живака, особено на метилживака, може да възникне, когато моларното съотношение Se:Hg е по-малко от 1 (Peterson et al., 2009; Ralston, 2008, 2009; Ralston & Raymond, 2010), което предполага, че **за оценка на риска ключовата стойност** е моларното съотношение (а не нивото на живак и метилживак). Селенът не само играе защитна роля срещу токсичния живак, но е важен хранителен микроелемент, който е абсолютно необходими за активността на ензими с важни функции (Afonso et al., 2008; Kaneko & Ralston, 2007). Ниските нива на селен са свързани със сърдечно съдови заболявания (Seppanen et al., 2004), докато по-високите (но не токсични) нива на селен са свързани с по-ниски нива на сърдечни пристъпи (Mozaffarian, 2009).

Данните за нивата на селен в риби от Черно море са малко, и особено за защитната роля, която този елемент играе срещу токсичния живак. В настоящото изследване установяваме сравнително високи стойности за живак в рибните тъкани, затова е важно да се оцени неговата действителна токсичност за организмите на базата на съотношението Se:Hg.

Изчисляването на моларните съотношения Se:Hg се извършва чрез разделяне на концентрацията на всеки от елементите в mg/kg на молекулното тегло на селен и живак, съответно (Polak-Juszczak, 2015). Средните моларни съотношения Se:Hg бяха изчислени за всеки екземпляр риба, след което резултатите бяха обобщени и систематизирани по видове риба – Фигура 3.23.



Фигура 3.23. Изчислено моларно съотношение Se:Hg в различни видове риби от Черно море

Моларните съотношения Se:Hg се различават значително сред изследваните видове риби (Фигура 3.23). Стойностите зависят главно от концентрациите на живак, тъй като селенът в изследваните видове риба се намира в близки по стойност концентрации. Само при калкан и чернокоп концентрацията на селен е по-висока. Нивата на селен обикновено варират по-малко, тъй като този микроелемент се регулира в тялото на рибите, тъй като е токсичен при високи нива (Polak-Juszczak, 2009, 2012). Концентрациите на живак обаче се различават значително в зависимост от вида и тъканта на рибата (Burger et al., 2001; Polak-Juszczak, 2009, 2012).

Все още не е определена стойност за прилагане на съотношението Se:Hg поради голямата му променливост, но научните изследвания в проучването на тази област ще бъдат полезни за оценка на състоянието на околната среда и риска за човешкото здраве по отношение на токсичността на Hg. Ganther et al. определят моларно съотношение Se:Hg >1:1, което предоставя защита от токсичността на живак дори на най-чувствителните популации, докато стойност <1:1 не предполага такова действие (Ganther, H.E et al., 1972). Съотношенията при всички анализирани видове риби от Черно море са много по-големи от единица, което предполага, че съдържанието на селен е достатъчно високо, за да намали токсичния ефект на живака. Дори при видовете с най-високо съдържание на Hg калкан, чернокоп и кая, моларното съотношение Se:Hg е над 20 (Фигура 3.23), което определя безопасни нива на този елемент.

В заключение:

- Установено е, че нивата на токсични елементи в морските риби от българското Черноморие са по-ниски от отчетените в други региони и са под допустимите граници на ЕС и СЗО.
- Очакваният хранителен прием на токсични елементи чрез консумация на анализирани видове риба не представлява риск за човешкото здраве.
- Стойностите на THQ са значително по-ниски от 1. Следователно може да се заключи, че наблюдаваните метали в ядивната тъкан на рибните видове не представляват риск от здравословни проблеми за потребителите.
- Моларните съотношения Se:Hg при всички анализирани видове риби от Черно море са много по-големи от единица (>1:1), което предполага, че съдържанието на селен е достатъчно високо, за да намали токсичния ефект на живака.

Препоръки: По отношение на замърсяването с Hg, нивото на този елемент трябва да се следи в във видове като кая, калкан и чернокоп — при тези видове средните стойности са по-високи от СКОС, но са под допустимата норма за консумация като храна. Олово се открива само в 10 от общо 34 анализирани проби риба (29%) като концентрациите на Pb са много под допустимото максимално ниво на замърсяване.

В анализирани видове риби се наблюдава високо съдържание на As, но е известно, че при рибите As се намира главно в органична форма, която не е токсична. Все пак е необходимо нивата на този елемент да се наблюдават при видове като кая и трицона.

Разработил: доц. Станислава Георгиева

Литературни източници:

- НСИ, 2010, Доходи, разходи и потребление на домакинствата през първото тримесечие на 2010 година, София 2010
- Ali, H.; Khan, E. Trophic transfer, bioaccumulation, and biomagnification of non-essential hazardous heavy metals and metalloids in food chains/webs—Concepts and implications for wildlife and human health. *Hum. Ecol. Risk Assess.* 2019, 25, 1353–1376.
- Afonso, C., Lourenco, H. M., Pereira, C., Martins, M. F., Carvalho, M. L., Castro, M., et al. (2008). Total and organic mercury, selenium and a-tocopherol in some deep-water fish species. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88, 2543-2550.
- Ahmed, A.S.S.; Sultana, S.; Habib, A.; Ullah, H.; Musa, N.; Hossain, M.B.; Rahman, M.M.; Sarker, M.S.I. Bioaccumulation of heavy metals in some commercially important fishes from a tropical river estuary suggests higher potential health risk in children than adults. *PLoS ONE* **2019**, 14, e0219336.
- Bawuro, A.A.; Voegborlo, R.B.; Adimado, A.A. Bioaccumulation of heavy metals in some tissues of fish in Lake Geriyo, Adamawa State, Nigeria. *J. Environ. Public Health* **2018**, 2018, 1854892.
- Bat L, Öztekin A, Şahin F, Arıcı E, Öz sandıkcı U. An overview of the Black Sea pollution in Turkey. *Mediterranean Fisheries and Aquaculture Research*. 2018;1(2):66–86.
- Bat L.. Heavy metal pollution in the Black Sea. *Turkish Fisheries in the Black Sea*, edited by Düzgüneş E, Öztürk B, Zengin M. (Turkish Marine Research Foundation-Istanbul, Turkey), 2014, p. 71-107.
- Bhattacharya, S. (2020). The Role of Probiotics in the Amelioration of Cadmium Toxicity. *Biological Trace Element Research*, 197(2), 440–444. <https://doi.org/10.1007/s12011-020-02025-x>
- Burger, Joanna, and Michael Gochfeld. "Selenium and mercury molar ratios in commercial fish from New Jersey and Illinois: variation within species and relevance to risk communication." *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association* vol. 57 (2013): 235-45. doi:10.1016/j.fct.2013.03.021
- Chatabis-Mazurek, A., Rechulicz, J., & Pyz-Lukasik, R. (2021). A Food-Safety Risk Assessment of Mercury, Lead and Cadmium in Fish Recreationally Caught from Three Lakes in Poland. *Animals : an open access journal from MDPI*, 11(12), 3507. <https://doi.org/10.3390/ani11123507>
- Chen, M. H., Shih, C. C., Chou, C. L., & Chou, L. S. (2002). Mercury organic mercury and selenium in small cetaceans in Taiwanese waters. *Marine Pollution Bulletin*, 45, 237-245.
- Choi, A. L., Budtz-Jorgensen, E., Jorgensen, P. J., Steuerwald, U., Debes, F., Weihe, P., et al. (2008). Selenium as a potential protective factor against mercury developmental neurotoxicity. *Environmental Research*, 107, 45-52.
- Charkiewicz, A. E., & Backstrand, J. R. (2020). Lead Toxicity and Pollution in Poland. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(12), 4385. <https://doi.org/10.3390/ijerph17124385>
- Directive 2008/56/EC of The European Parliament and of the Council of 17 June 2008 establishing a framework for community action in the field of marine environmental policy (Marine Strategy Framework Directive). *Official Journal of the European Union*. 2008;164:19–40.
- EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). Scientific Opinion on Lead in Food, *EFSA Journal*, 8 (2010)1570.
- EFSA. (2012). Scientific opinion on the risk for public health related to the presence of mercury and methylmercury in food (CONTAM). *EFSA Journal*, 10(12), 2985 <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/2985.pdf> Accessed June 2014.
- European Commission, 2006 Maximum levels for contaminants in foods in Europe are set by Regulation (EC) No. 1881/2006, with amendments. The maximum levels for mercury, lead, and cadmium in muscle tissue of most fish species are 0.5, 0.3, and 0.05 mg/kg wet weight, respectively
- EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). (2009). Scientific opinion on arsenic in food. *EFSA Journal*, 7(10), 1351. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2009.1351> EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). (2010). Scientific Opinion on Lead in Food. *EFSA Journal*, 8(4), 151, 1570.
- Ganther, H.E.; Goudie, C.; Sunde, M.L.; Kopecky, M.J.; Wagner, P.; Oh, S.; Hoekstra, W.G. Selenium: Relation to decreased toxicity of methylmercury added to diets containing tuna. *Science* 1972, 175, 1122–1124. [CrossRef] [PubMed]
- Heshmati, A.; Karami-Momtaz, J.; Nili-Ahmadabadi, A.; Ghadimi, S. Dietary exposure to toxic and essential trace elements by consumption of wild and farmed carp (*Cyprinus carpio*) and Caspian kutum (*Rutilus frisii kutum*) in Iran. *Chemosphere* 2017, 173, 207–215. [CrossRef]
- Leung, H. M., Leung, A. O., Wang, H. S., Ma, K. K., Liang, Y., Ho, K. C., Cheung, K. C., Tohidi, F., & Yung, K. K. (2014). Assessment of heavy metals/metalloid (As, Pb, Cd, Ni, Zn, Cr, Cu, Mn) concentrations in edible fish species tissue in the Pearl River Delta (PRD), China. *Marine pollution bulletin*, 78(1-2), 235–245. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.10.028>
- Mahjoub, M.; Fadlaoui, S.; El Maadoudi, M.; Smiri, Y. Mercury Lead, and Cadmium in the Muscles of Five Fish Species from the Mechraa-Hammadi Dam in Morocco and Health Risks for Their Consumers. *J. Toxicol.* **2021**, 2021, 8865869.
- Mehouel, F.; Bouayad, L.; Hammoudi, A.H.; Ayadi, O.; Regad, F. Evaluation of the heavy metals (mercury, lead, and cadmium) contamination of sardine (*Sardina pilchardus*) and swordfish (*Xiphias gladius*) fished in three Algerian coasts. *Vet. World* **2019**, 12, 7–11.
- Mielcarek, K., Nowakowski, P., Puścion-Jakubik, A., Gromkowska-Kępka, K. J., Soroczyńska, J., Markiewicz-Żukowska, R., Naliwajko, S. K., Grabia, M., Bielecka, J., Żmudzińska, A., Moskwa, J., Karpińska, E., & Socha, K. (2022). Arsenic, cadmium, lead and mercury

- content and health risk assessment of consuming freshwater fish with elements of chemometric analysis. *Food chemistry*, 379, 132167. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132167>
- Nasreddine L., D. Parent-Massin, Review article, Food contamination by metals and pesticides in the European Union. Should we worry? *Toxicology Letters* 127 (2002) 29–41
- Omar S, Muhamad MS, Chuan LT, Hadibarata T, Teh ZC. A review on lead sources, occurrences, health effects, and treatment using hydroxyapatite (HAp) adsorbent made from fish waste. *Water, Air, & Soil Pollution*. 2019;230(12). DOI: <https://doi.org/10.1007/s11270-019-4312-9>.
- Plavan G, Jitar O, Teodosiu C, Nicoara M, Micu D, Strungaru SA. Toxic metals in tissues of fishes from the Black Sea and associated human health risk exposure. *Environmental Science and Pollution Research*. 2017;24(8):7776–7787. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-017-8442-6>.
- Kaneko, J. J., & Ralston, N. V. C. (2007). Selenium and mercury in pelagic fish in the central north Pacific near Hawaii. *Biological Trace Element Research*, 119, 242-254.
- Peterson, S. A., Ralston, N. V. C., Whanger, P. D., Oldfield, J. E., & Mosher, W. D. (2009). Selenium and mercury interactions with emphasis on fish tissues. *Environmental Bioindicator*, 4, 318-334.
- Polak-Juszczak, L. (2012). Bioaccumulation of mercury in the trophic chain of flatfish from the Baltic Sea. *Chemosphere*, 89, 585-591.
- Polak-Juszczak, L. (2015). Selenium and mercury molar ratios in commercial fish from the Baltic Sea: Additional risk assessment criterion for mercury exposure. *Food Control*, 50, 881-888.
- Ralston, N. V. C. (2008). Selenium health benefit values as seafood safety criteria. *EcoHealth*, 5, 442e455.
- Ralston, N. V. C. (2009). Introduction to 2nd issue on special topic: selenium and mercury as interactive environmental indicators. *Environmental Bioindicator*, 4, 286-290.
- Ralston, N. V. C., & Raymond, L. J. (2010). Dietary selenium's protective effects against methylmercury toxicity. *Toxicology*, 278, 112-123.
- Rezayi, M., Esmaili, A. S., Valinasab, T., & Alavi, J. (2012). Selenium health benefit value (SEHBV) in selected fish from Persian Gulf (Khuzestan). *International Journal of Environmental Protection*, 2(9), 30-35.
- US EPA 2000 Guidance for assessing chemical contamination data for use in fish advisories. Volume 2. Risk assessment and fish consumption limits. Washington: US Environmental Protection Agency; 2000. 383 p
- Svobodová, Z.; Dušek, L.; Hejtmánek, M.; Vykusová, B.; Šmíd, R. Bioaccumulation of mercury in various fish species from Orlik and Kamýk water reservoirs in the Czech Republic. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 1999, 43, 231–240.
- Vázquez, M., Calatayud, M., Jadán Piedra, C., Chiocchetti, G. M., V'elez, D., & Devesa, V. (2015). Toxic trace elements at gastrointestinal level. *Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 86, 163–175. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2015.10.006>
- Yoneda, S., & Suzuki, K. T. (2002). Detoxification of mercury by selenium by binding of equimolar Hg-Se complex to a specific plasma protein. *Pharmacology*, 274-280.
- Zhelyazkov G, Yankovska-Stefanova T, Mineva E, Stratev D, Vashin I, Dospatliev L, et al. Risk assessment of some heavy metals in mussels (*Mytilus galloprovincialis*) and veined rapa whelks (*Rapana venosa*) for human health. *Marine Pollution Bulletin*. 2018;128:197–201. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.01.024>.

Оценка на безопасността на морските организми като храна по отношение на морски биотоксини

Океаните и моретата са ценен източник на хранителни ресурси – риба, черупчести мекотели и др. и през последните години се налага мнението, че здравословният хранителен режим трябва да е богат на морски храни [1,2] поради високото съдържание на протеини, ненаситени мастни киселини, мастно разтворими витамини, есенциални елементи и ниско съдържание на холестерол [3,4]. Изследванията показват, че Черноморската мида *Mytilus galloprovincialis* съдържа високи концентрации на витамини А, Е и D3, както и n3 и n6 (омега 3 и 6) ненаситени мастни киселини [5,6,7]. Високата хранителна стойност [8] и нарастващите нужди от храна в световен мащаб доведоха до повишен интерес към отглеждането на мидите като аквакултури и увеличаване улова на диви видове [9], включително и в България [10].

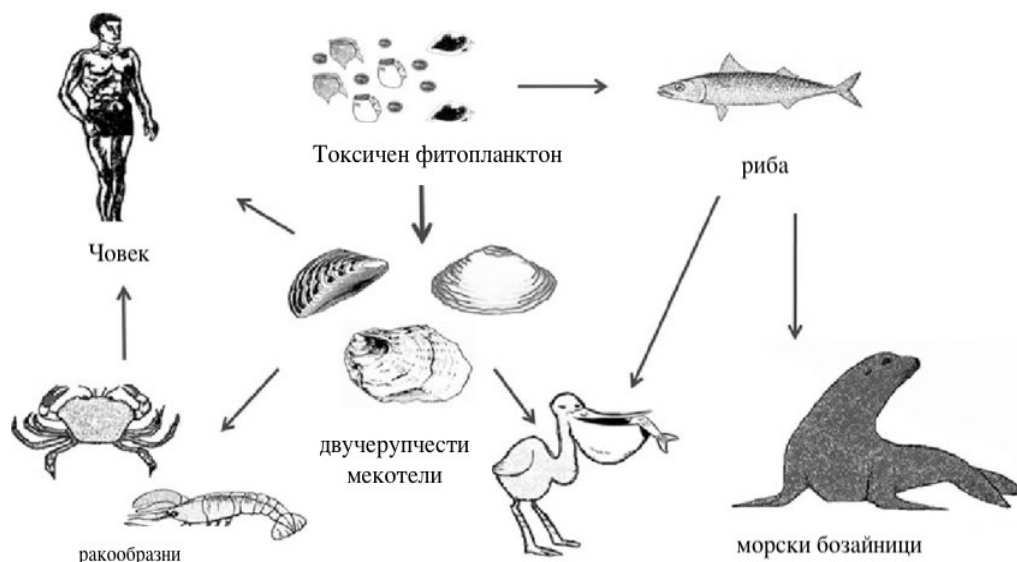
Отрицателен ефект върху развитието на аквакултурите и дивите видове миди може да има и т.нар. „цъфтеж на токсичен планктон“ (harmful algal bloom –HAB) [11] или „червен

прилив“ (red tide). Обикновено цъфтежът на планктона благоприятства развитието на филтриращите го видове, но определени фитопланктонни видове (диатоми и динофлагелати) продуцират морски токсини (алготоксини, фикотоксини) [12].

Фикотоксините се акумулират в мидите, а по хранителната верига (Фиг.3.24) достигат до човека. В мидите токсините се натрупват в хепатопанкреаса (храносмилателна жлеза), без да предизвикат каквато и да е външна промяна в мидата. Те са относително стабилни, не се разпадат, а дори значително повишават концентрацията си при кулинарна обработка [13,14]. Откриването на токсини в морската храна не е лесно и нито производителите на миди, нито потребителите могат да определят по органолептичните качества на мидите дали са безопасни за консумация или не [15]. Морските биотоксини, продуцирани от различни фитопланктонни видове, се акумулират в двучерупчестите мекотели, например мидите. Консумация на миди, съдържащи фикотоксини над определени нива, може да предизвика сериозна интоксикация с характерна симптоматика.

През последните години интересът към морските биотоксини се повиши поради зачестилите случаи на отравяне по света. Около 60 000 интоксикации на хора годишно с около 1,5% смъртност се свързват с морските биотоксини [16]. Симптомите при отравяне могат да варират от относително слабо гастроинтестинално дразнене до смърт, при екстремни случаи на отравяне [17]. Симптоматиката зависи от вида на токсина, който е погълнат [18,19].

- Отравяне с парализиращи токсини (PSP) - изтръпване около устните до шията; болезнено усещане по върховете на пръстите и краката; главоболие
- Отравяне с диарийни токсини (DSP) - диария, гадене, повръщане, абдоминална болка;
- Отравяне с амнезиеви токсини (ASP) - Гадене, повръщане, абдоминални крампи;
- Отравяне с азаспирациди (AZA) - Диария



Фигура 3.24. Морска хранителна мрежа, път на преноса на морски токсини през трофичните нива (модиф. Lames et al., (2010) [20])

Черната мида е вид, обект на отглеждане в морската ни аквакултура. Съществуващите към настоящия момент рибовъдни стопанства с цел отглеждане на миди са 57 [21] с обща продукция за 2021г. от 2573,69 тона [22]. През 2021 г. уловът на черноморска черна мида бележи скок с около 20 % повече в сравнение с 2020г [23].

Потреблението на риба и други морски храни на глава от населението в България е под средното за ЕС. По данни на НСИ консумацията на морски храни на глава от домакинствата през 2021 г. е 6,2 кг. Това число обаче не включва консумацията в заведения за хранене. Кумулативното потребление на глава от населението, включително потреблението в ресторантите, се оценява на почти двойно. Нивото на потребление е нараснало през последните пет години и прогнозите на индустрията сочат, че ще продължи да расте поради нарастващите потребителски доходи и нарастващото търсене на по-здравословна храна, въпреки нарастващите цени на едро и дребно на рибата и рибните продукти [24].

Според изследване, проведено от Изпълнителната агенция по рибарство и аквакултури (ИАРА) [25], в което участват 2040 домакинства, черната мида е предпочитан като най-често консумиран вид от 2.8 % от домакинствата в страната.

Целта на настоящото изследване е да се оценят рисковете за здравето, свързани с консумацията на миди по отношение на морски биотоксини. Приложени са два подхода:

- Сравнение на получените резултати със здравните норми в Европейския съюз
- Сравнение на получените резултати с остри референтни дози, предложени от Европейската агенция по безопасност на храните (European Agency of Food Safety, EFSA).

В изследването са включени общо 17 проби миди (диви и култивирани) от Българското Черноморие. Хепатопанкреас (храносмилателна жлеза) от около 1 kg проба (с черупки) се дисецира, хомогенизира и замразява. Приблизително 4 g хомогенизиран хепатопанкреас се екстрахира с метанол и се обезмаслява с хексан.

В пробите са регистрирани йесотоксини (YTX, OH-YTX) и пектенотоксини (PTXs, PTX2, PTX2-sa, epi-PTX2-sa). Използван е течнoхроматографски метод (LC-MS/MS) съгласно аналитична процедура, описана от Krock et al. (2008 г.) [26].

Токсичността на йесотоксина все още е в процес на изследване. Известно е, че YTXs са мощни цитотоксини, способни да причинят увреждане на миокарда [27,28,29]. Освен това, YTX влияе на притока на Ca^{2+} в човешките лимфоцити, предизвиквайки Ca^{2+} -зависимо понижение на цикличния аденозин монофосфат [20,31,32], забавя изхвърлянето на продукта на разграждане на Е-кадерин (ECRA100) и причинява невротоксичност при пълхови мозъчни неврони [33,34].

Свързаните с отравяне с YTX симптоми и токсични ефекти след орален прием при човека все още са в процес на изследване, така че консумацията на миди, съдържащи YTX все още остава неидентифициран здравен риск [35]. По тази причина YTX е включен в списъка с регулирани токсини в двучерупчести мекотели на ЕС. Първоначално определената здравна

норма (1 mg/kg) в Регламент No 853/2004 (ЕС, 2004) в последствие е повишена до 3.75 mg/kg в Регламент No 786/2013 (ЕС, 2013) поради недоказаната токсичност при човека.

В групата на регулираните токсини в Регламент No 853/2004 на ЕС е включен и пектенотоксин-2. Въпреки, че няма данни за остри отравяния с този токсин, данните за токсичност при експериментални животни (EFSA, 2009), както и при *in vitro* експерименти [36], налагат проследяването на нивата му в двучерупчестите мекотели, предвидени за консумация.

Пектенотоксин-2 много често се среща в двучерупчестите мекотели наред с диарийните токсини – окадаена киселина, динофизистоксин-1 и динофизистоксин-2. Това е и причината пектенотоксин-2 да бъде включен в групата на регулираните в ЕС диарийните морски биотоксини, въпреки че нямат един и същ механизъм на действие. Всеки един от тези токсини проявява различна токсичност.

Нивата на токсините в храносмилателните жлези (pg/g) са преизчислени спрямо цяло мидено месо (shellfish meat (sm)) (mg/kg или µg/kg). Приема се, че количеството на токсините в 5g от храносмилателната жлеза е еквивалентно на количеството токсини в 25 g цяло мидено месо. Това преизчисление, макар и да не отразява точно спецификата на анатомията на всички видове черупчести мекотели, се счита за добро приближение [37,38].

Изчислените нива са сравнени със здравните норми, определени в регламентите на Европейската комисия [39,40]. Безопасността на изследваните проби също беше оценена чрез сравнение на изчислената експозиция на хора на открити токсини със законодателно установените остри референтни дози. За изчисленията са използвани средно телесно тегло (60 kg) и среден размер на порцията от 400 g, препоръчан от EFSA [41,42], както и средно телесно тегло на българското население (81 кг – мъже; 67 кг- жени) и среден размер на порция миди – 234 g [43,44]. За изчисляване на дневна остра експозиция (daily acute exposure) беше използвана следната формула, предложена от Andjelkovic et al. (2012) [45]:

$$AE = \frac{m \times w_t}{BW}$$

където

AE- остра експозиция (acute exposure) за килограм тегло (µg/kg bw);

m – тегло на порция миди (weight of portion) (kg) (0.400 kg);

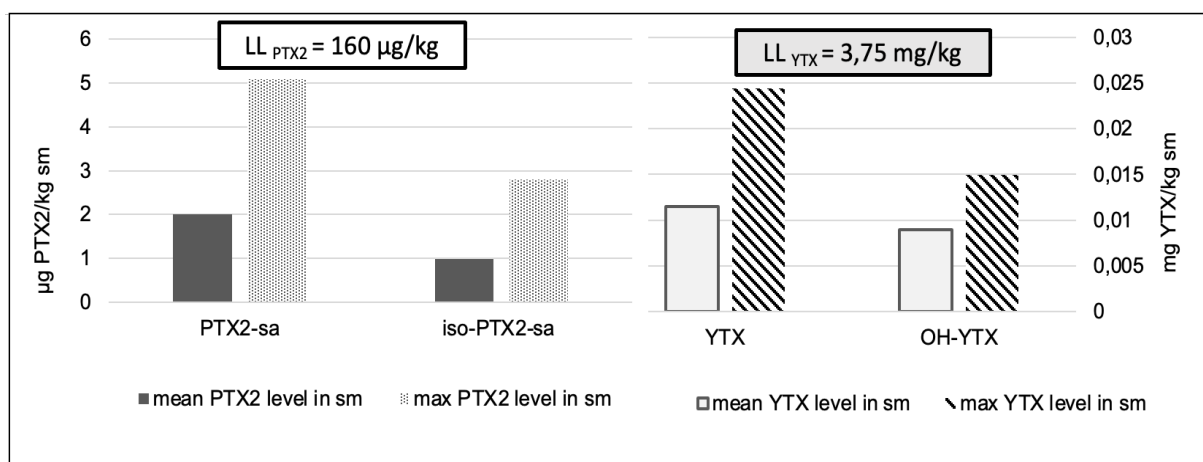
w_t – концентрация на изследвания токсин (phycotoxin level) (µg/kg) е средната концентрация на даден фикотоксин, изчислена на база положителни проби;

BW – телесно тегло (body weight) (kg) е средното телесно тегло на изследваната популация (60 kg);

Подходът риск-полза се използва за оценка на комбинираното въздействие върху здравето от консумацията на храната. Отравянето може да бъде резултат от поглъщането на миди, съдържащи фикотоксини. Могат да възникнат различни видове отравяния (диарийно,

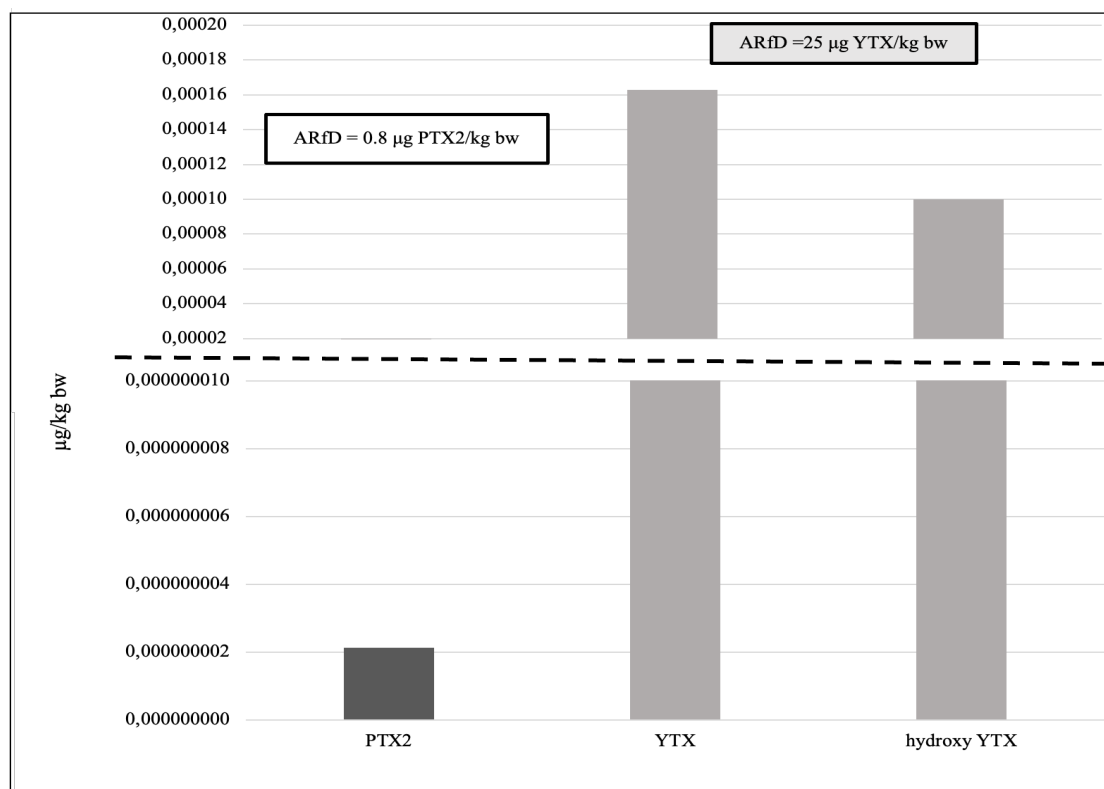
паралитично, амнезийно, неврологично и азаспирационно), всяко от които е причинено от група токсини, произведени от конкретно микроводорасло [46,47].

В настоящото изследване са регистрирани PTX и YTX в храносмилателните жлези на пробите от миди. Средните нива на токсини (MTL), определени в храносмилателната жлеза ($MTL_{PTX2-sa} = 0,010 \pm 0,008 \mu\text{g/g}$, $MTL_{EPI-PTX2-sa} = 0,005 \pm 0,003 \mu\text{g/g}$, $MTL_{YTX} = 0,058 \pm 0,034 \mu\text{g/g}$, $MTL_{OH-YTX} = 0,045 \pm 0,014 \mu\text{g/g}$) са преизчислени за цяло месо от миди. Разработен е и най-лошият сценарий чрез изчисляване на теоретичните нива на токсини в проби от миди, където са открити максималните концентрации. Получените резултати се сравняват със здравните норми (фиг.3.25). Този анализ показва, че не може да се очаква риск за човешкото здраве, ако изследваните миди се консумират.



Фигура 3.25. Изчислени средни и максимални нива на определените токсини за цяло мидено месо (sm – whole mussel meat, мидено месо; LL – legal limit, здравна норма, mean – средна стойност), * за PTX2 не са изчислени средни стойности, тъй като този токсин е регистриран само в две проби

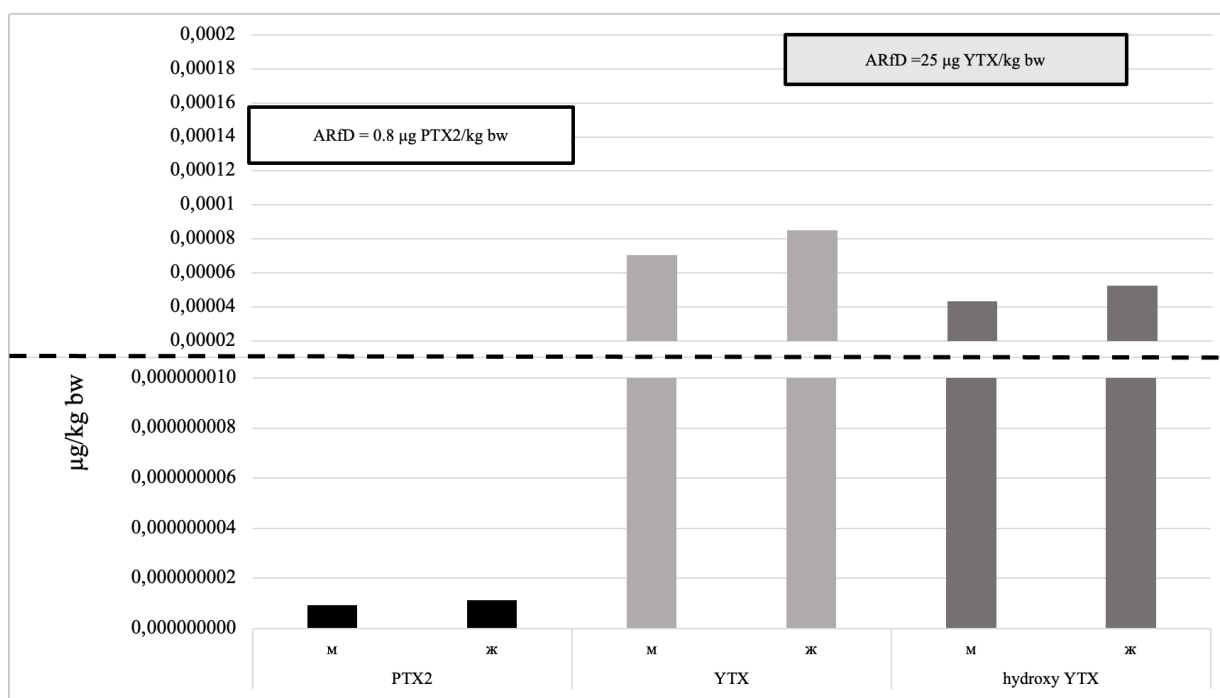
За оценка на безопасността е необходимо да се определи и острата експозиция на откритите токсини. Здравни норми са определени във връзка със защита на човешкото здраве от остра токсичност в контекста на едно хранене от 400 g миди за 60 kg възрастен. В настоящото изследване острата експозиция се изчислява, като се използват най-високите регистрирани нива.



Фигура 3.26. Изчислена остра експозиция според данни на EFSA въз основа на максималните установени нива на морски биотоксини (ARfD- acute reference dose, остра референтна доза)

Сред определените токсини само PTX2, YTX и ОН-YTX са регулирани в Европа [48] и следователно е оценена острата експозиция за тях. Въпреки че токсичността на тези токсини е спорна [49,50,51,52], те все още са включени в официалните законодателни документи и трябва да бъдат наблюдавани. Резултатите показват, че дори ако мидите, съдържащи максималните нива на токсини, са били консумирани, изчислената остра експозиция е много по-ниска от установените остри референтни дози (фиг.3.26). Следователно, не се очаква риск за здравето на консуматорите.

Направените изчисления за българското население (Фиг.3.27) показват, че като цяло експозицията на жените е по-висока от тази при мъжете. Това се дължи на по-ниското средно телесно тегло. Сравнението с нормите за остра експозиция показва, че експозицията на българското население е много ниска и не се очаква риск за здравето дори и при консумацията на миди, съдържащи максималните нива на регистрираните токсини.



Фигура 3.27. Изчислена остра експозиция на българското население въз основа на максималните установени нива на морски биотоксини (ARfD- acute reference dose, остра референтна доза)

Нивата на морски биотоксини в диви и култивирани миди е под максимално допустимите граници за Европейския съюз. Изчислените остри експозиции са значително по-ниски от референтните стойности (ARfD), предложени от EFSA. Следователно не може да се очаква риск за здравето при консумация на миди. За превенция на острите отравяния и хронична експозиция е необходимо периодично проследяване нивата на токсините в черноморските миди. Контролът трябва да обхваща повече места за търговия с миди. Необходимо е да се извършва и контрол на биотоксини в диви миди, защото те също се използват за храна.

Изготвили:

Златина Петева

Проф. Мона Станчева

Литературни източници:

- ¹Hamed I, Öyogul F, Öyogul Ö, Ragenstein JM. Marine bioactive compounds and their health benefits: a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food safety*. 2015; 14: 446-465.
- ²Bilandzin N, Sedak M, Calopek B, Zrncic S, Oraic D. Element differences and evaluation of dietary intake from farmed oysters and mussels collected at different sites along the Croatian coast of the Adriatic Sea. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2016; 45: 39-49.
- ³Bragigand V, Berthet B, Amiard JC. Estimates of trace metal bioavailability ingesting contaminated oysters. *Food Chem. Toxicol*. 2004; 42: 1893-1902.
- ⁴Heidari B, Bakhtiari AR, Shirneshan G. Concentration of Cd, Cu, Pb and Zn in soft tissue of oyster (*Saccostera cucullata*) collected from the Lengeh Port coast, Persian Gulf, Iran: a comparison with the permissible limits for public health. *Food Chem*. 2013; 141: 3014-3019.
- ⁵Stancheva M, Merdzhanova A, Dobрева DA. Fat soluble vitamins, cholesterol and fatty acid composition of wild and farmed black mussel (*Mytilus galloprovincialis*) consumed in Bulgaria. *Journal of Aquatic Food Product Technology*. 2017; 26 (2): 181-191.
- ⁶Merdzhanova A, Dobрева D, Georgieva S. Nutritional evaluation of aquaculture mussels (*M. galloprovincialis*) from the Black Sea, Bulgaria. *Ovidius University Annals of Chemistry*. 2016; 27 (1): 1-7.
- ⁷Dobрева DA, Merdzhanova AV, Stancheva MD, Terziyski DI, Panayotova VZ. Black Sea fish and shellfish as essential source of vitamin B12. *International Journal of Scientific Reports*. 2018; 4(8): 199-203.

- ⁸ Bongiorno T, Iacumin L, Tubaro F. Seasonal changes in technological and nutritional quality of *Mytilus galloprovincialis* from suspended culture in the Gulf of Trieste (North Adriatic Sea). *Food Chem.* 2015; 173: 355-362.
- ⁹ Nielsen P. Future challenges and possibilities for the Danish long-line production of blue mussels, *Mytilus edulis* (L). PhD Thesis. 2014.
- ¹⁰ Министерство на земеделието и храните. Годишен доклад за състоянието и развитието на земеделието. 2016. София.
- ¹¹ Hallengraef, GM. Ocean climate change, phytoplankton community responses, and harmful algal blooms: a formidable predictive challenge. *Journal of Phycology.* 2010; 46: 220-235.
- ¹² Anderson DM, Dixon SFE. Harmful Algal Blooms (HABs) and Desalination: A Guide to Impacts, Monitoring and Management In: Boerlage MB (Eds). IOC Manuals and Guides No.78. Paris: Intergovernmental Oceanographic Commission: 2017, p. 53-88
- ¹³ Hess P, Nguyen L, Aasen A, Keogh M. Tissue distribution, effects of cooking and parameters affecting the extraction of azaspiracids from mussels, prior to analysis by liquid chromatography coupled to mass spectrometry. *Toxicon.* 2005; 46: 62-71.
- ¹⁴ Picot C, Limon G, Durand G, Wesolek N, Parent-Massin D, Roudot AC. Domoic Acid, Okadaic Acid and Spirolides: Inter-Species Variability in Contamination and Cooking Effects. *Food and Public Health.* 2012; 2 (2): 50-57.
- ¹⁵ Ferrante M, Sciacca S, Fallico R, Fiore M, Conti GO, Ledda C. Harmful Algal Blooms in the Mediterranean Sea: Effects on Human Health. *Open Access Scientific Reports* 2013; 2 (1): 587.
- ¹⁶ Kantiani, L, M Llorca, J Sanchís, M Farré and D Barceló (2010). Emerging food contaminants: a review. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 398(6): 2413-2427.
- ¹⁷ Fux, E, D Rode, R Bire and P Hess (2008). Approaches to the evaluation of matrix effects in the liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) analysis of three regulated lipophilic toxin groups in mussel matrix (*Mytilus edulis*). *Food Additives and Contaminants*, 25(8): 1024- 1032.
- ¹⁸ Deeds, J R, K Wiles, KBH VI, KD White and A Abraham (2010). First US report of shellfish harvesting closures due to confirmed okadaic acid in Texas Gulf coast oysters. *Toxicon*, 55(6): 1138-1146.
- ¹⁹ Satake, M, L MacKenzie and T Yasumoto (1997). Identification of *Protoceratium reticulatum* as the biogenetic origin of yessotoxin. *Natural Toxins*, 5(4): 164-167.
- ²⁰ James, K. J., Carey, B., O'halloran, J., & Škrabáková, Z. (2010). Shellfish toxicity: human health implications of marine algal toxins. *Epidemiology & Infection*, 138(7), 927-940.
- ²¹ ИАРА (2022). Регистър на рибовъдните стопанства към 30.09.2022 г.
- ²² ИАРА (2022). Регистър на произведената риба от рибовъдни стопанства през 2021 г.
- ²³ ИАРА (2021). Регистър на произведената риба от рибовъдни стопанства през 2020 г.
- ²⁴ Todorov, A. (2022). Fish and Seafood Market Brief Bulgaria
- ²⁵ ИАРА. 2013. "Д О К Л А Д за Годишна консумация на риба и аквакултури от домакинствата и тяхното производство в България." <http://oprsr.government.bg>.
- ²⁶ Krock B, Tillmann U, John U, Cembella AD. LC-MS-MS aboard ship: tandem mass spectrometry in the search for phycotoxins and novel toxigenic plankton from the North Sea. *Anal. Bioanal. Chem.* 2008; 392 (5): 797-803.
- ²⁷ Paz, B, AH Daranas, M Norte, P Riobo, JM Franco and JJ Fernandez (2008b). Yessotoxins, a Group of Marine Polyether Toxins: an Overview. *Mar. Drugs* 6: 73-102.
- ²⁸ Tubaro, A, V Dell'Ovo, S Sosa, and C Florio (2010). Yessotoxins: A toxicological overview. *Toxicon* 56: 163-72.
- ²⁹ Aune, T, L dela Rosa, MR Vieytes, T Yasumoto, and LM Botana (2003). Yessotoxin, a novel phytotoxin, activates phosphodiesterase. *Biochem. Pharmacol* 65: 193-208
- ³⁰ de la Rosa, LA, A Alfonso, N Vilarino, MR Botana and LM Vieytes (2001). Modulation of cytosolic calcium levels of human lymphocytes by yessotoxin, a novel marine phycotoxin. *Biochemical Pharmacology* 61: 827-833.
- ³¹ Pazos, MA, A Alfonso, MR Vieytes, T Yasumoto, and LM Botana (2005). Kinetic analysis of the interaction between yessotoxin and analogues and immobilized phosphodiesterases using a resonant mirror optical biosensor. *Chem. Res. Toxicol* 18: 1155-1160.
- ³² Alfonso, A, L de la Rosa, and R Yasumoto, T Botana, LM Vieytes (2003). Yessotoxin, a novel phytotoxin, activates phosphodiesterase activity: effect of yessotoxin on cAMP levels in human lymphocytes. *Biochem. Pharmacol* 65: 193-208.
- ³³ Callegari, F, and GP Rossini (2008). Yessotoxin inhibits the complete degradation of E-cadherin. *Toxicology* 244: 133-144.
- ³⁴ Perez-Gomez, A, A Ferrero-Gutierrez, A Novelli, and JM Franco (2006). Potent neurotoxic action of the shellfish biotoxin yessotoxin on cultured cerebellar neurons. *Toxicol. Sci* 90: 168- 177.
- ³⁵ Tubaro, A, S Sosa, G Altimier, MR Soranzo, and M Satakr (2004). Short-term oral toxicity of homoyessotoxins, yessotoxin and okadaic acid in mice. *Toxicon* 43: 439-445.
- ³⁶ Aune, T, T Yasumoto, and E Engeland (1991). Light and scanning electron microscopic studies on effects of marine algal toxins toward freshly prepared hepatocytes. *J Toxicol Environ Health* 34: 1-9.
- ³⁷ Huss HH, Ababouch L, Gram L. Assessment and management of seafood safety and quality. *FAO Fisheries Technical Paper* . 2003; 444: 19-84.
- ³⁸ James KJ, Carey B, O'Halloran J, van Pelt FNAM, Škrabáková Z. Shellfish toxicity: Human health implications of marine algal toxins. *Epidemiol Infect.* 2010; 138: 927-940.
- ³⁹ EC (2004). European commission Regulation (EC) No 853/2004 of the European Parliament and of the Council of 29 April 2004 laying down specific hygiene rules for food of animal
- ⁴⁰ EC (2013). Regulation No 786/2013 of 16 August 2013 amending Annex III to Regulation EC No 853/2004
- ⁴¹ EFSA (2008b). Marine biotoxins in shellfish – Yessotoxin group. *The EFSA Journal*, 907, 1-62.
- ⁴² European Food Safety Authority (EFSA). (2009). Marine biotoxins in shellfish–Pectenotoxin group. *EFSA Journal*, 7(6), 1109.
- ⁴³ НСИ, 2014. Национално здравно интервю – втора вълна, 2014 година (основни резултати)
- ⁴⁴ Stancheva M, Peteva Z, Krock B. Study on risk of exposure of seafood consumers in Bulgaria to hydrophilic marine toxins. *Scripta Scientifica Medica* 2019; 51(1): 24-31.
- ⁴⁵ Andjelkovic M, Vandevijvere S, Van Klaveren J, Van Oyen H, Van Loco J. Exposure to domoic acid through shellfish consumption in Belgium. *Environment International.* 2012; 49: 115-119.
- ⁴⁶ Garthwaite, I. (2000). Keeping shellfish safe to eat: a brief review of shellfish toxins, and methods for their detection. *Trends in Food Science & Technology*, 11(7), 235-244.
- ⁴⁷ Campàs, M., Prieto-Simón, B., & Marty, J. L. (2007). Biosensors to detect marine toxins: Assessing seafood safety. *Talanta*, 72(3), 884-895.

⁴⁸EFSA (2009) Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the European Commission on Marine Biotoxins in Shellfish—Summary on regulated marine biotoxins. The EFSA Journal, 130, 1–23.

⁴⁹Yoon YM, Kim YC. Acute toxicity of pectenotoxin-2 and its effects on hepatic metabolising enzyme system in mice. Korean J. Toxicol. 1997;13:183–186. (In Korean)

⁵⁰Miles CO, Wilkins AL, Munday R, Dines MH, Hawkes AD, Briggs LR, Sandvik M, Jensen DJ, Cooney JM, Holland PT. Isolation of pectenotoxin-2 from *Dinophysis acuta* and its conversion to pectenotoxin-2 seco acid, and preliminary assessment of their acute toxicities. Toxicon. 2004;43:1–9.

⁵¹Tubaro A, Giangaspero A, Ardizzone M, Soranzo MR, Vita F, Yasumoto T, Sosa S. Ultrastructural damage to heart tissue from repeated oral exposure to yessotoxin resolves in 3 months. Toxicon. 2008; 51(7):1225-1235.

⁵²Ferreiro SF, Vilarino N, Carrera C, Louzao MC, Santamarina G, Cantalapiedra AG, Botana LM. Subacute immunotoxicity of the marine phycotoxin yessotoxin in rats. Toxicon. 2017;129:74-80.

ОЦЕНКА НА КОМБИНИРАНОТО ВЪЗДЕЙСТВИЕ НА ЗАМЪРСИТЕЛИ ВЪРХУ МОРСКИТЕ ОРГАНИЗМИ

През последните десетилетия в научните изследвания се наблюдава интензивен и стабилен научен интерес, фокусиран върху потенциалните биологични ефекти на устойчиви токсични вещества върху водни организми от различни трофични нива. Многобройни изследвания в областта на екоотоксикологията разкриват преките и непреките ефекти на антропогенните токсични вещества върху морската биота или на ниво индивидуална популация, или общност, или цялостна екосистема.

Комбинирано въздействие на микропластмаси и УОЗ

Друг важен въпрос, който в момента е обект на научен интерес, е токсичността на химическите замърсители, които могат да се задържат на повърхността на пластмасовите частици. Микропластмасите могат да концентрират устойчиви органични замърсители (УОЗ), които имат голям афинитет към хидрофобната повърхност на пластмасата в сравнение с водата. Поради тази причина пластмасата може да бъде силно замърсена (Rainieri S, et al., 2018; Wright et al., 2013). Въпреки това, поглъщането на химикали, отделяни от пластмасови частици, от морските организми, не изглежда уместно според други автори (Rochman et al., 2014). Въпреки че е доказано бионарупване и биоувеличаване на някои УОЗ, освободени от микропластмаси (EFSA, 2016 и препратките там), рискът от поглъщане на замърсители от пластмаса вероятно е същият като при поглъщане на замърсена от околната среда храна или замърсители, разпространени във водата (Koelmans et др., 2016). С други думи, приносът на микропластмасата за разпределението на УОЗ в околната среда, където те вече присъстват в голямо количество, не изглежда уместен (Lohmann, 2017). Освен това наличието на микропластмаса в храносмилателния тракт на водните животни изглежда преходно и поради тази причина има нисък потенциал за бионарупване и биоакмулиране (Güven et al., 2017; Grigorakis et al., 2017).

Въпреки това микропластмасата може да се превърне в проблем за безопасността на храните в случай на двучерупчести организми (миди, миди и стриди) и някои ракообразни (например кафяви скариди и омари), чиито вътрешности обикновено се консумират. Въпреки това проучванията на експозицията, проведени върху миди, замърсени с микропластмаси и сорбирани химически замърсители, изключват реалистичен риск за потребителите поради

----- www.eufunds.bg -----

незначителното увеличение на концентрацията на PCBs и PAHs, което би причинило консумацията на такава храна (Li et al., 2015).

Въпреки, че ролята на микропластмасовите частици в разпространението на УОЗ и бионатрупването може да се счита за незначително, нейната роля върху токсичността на водните организми все още е въпрос на дебат и трябва да бъде изследвана допълнително. Предварително проучване на Pedá et al. (2016), извършено върху лаврак, подчертава факта, че комбинацията от микропластмаси и химически замърсители може да увеличи неблагоприятните ефекти, причинени от пластмаса или замърсители, разглеждани поотделно. Проучвания, проведени върху ювенилни морски видове (*Pomatoschistus microps*), показват, че ефектът на микропластмасите върху замърсителите може да варира в зависимост от химичния замърсител и от оценявания биомаркер. Например, микропластмасата не е повлияла на токсичността на златните наночастици (Ferreira et al., 2016), но е повлияла на острата токсичност на хром (VI) (Luís et al., 2015). С други думи, микропластмасата може да потенцира токсичния ефект на химическите замърсители.

В този контекст е важно да се проучи по-нататък въздействието на микро частици от пластмаса върху замърсителите на околната среда, за да се установи дали се подценява риска от микропластмаси и особено замърсени микропластмаси за здравето на хората и околната среда. Rainieri S, et al., 2018 изследват хипотезата, че микропластмасовите частици значително увеличават токсичните ефекти на химическите замърсители. Rainieri S, et al., 2018 провеждат тестове като използват животински модел на риба зебра (*Danio rerio*) поради неговата значимост за еко- и човешката токсикология. Чрез този модел сравняват ефектите, произведени на ниво орган от три вида замърсени фуражи; един, съдържащ само микропластмаси, един, съдържащ микропластмаси със сорбирани химически замърсители и един, съдържащ химически замърсители без микропластмаси. Получените резултати потвърждават хипотезата и като цяло подчертават необходимостта от разглеждане на потенциращия ефект на микропластмасите върху токсичността на химическите замърсители при оценките на риска.

Извършен е статистически корелационен анализ с цел оценка на зависимост в натрупването и комбинираното влияние на различни групи замърсители.

На базата на данните от проведените анализи за съдържание на устойчиви органични замърсители е проверена статистически зависимостта в натрупването на различните групи замърсители. Например дали при един и същ вид риба нивата както на PCBs, така и на PAHs и на DDTs са по-високи. Или при едни видове риби се натрупва повече PCB, а при други повече DDTs.

В таблица 3.17. са представени резултати от проведен корелационен анализ. Приложен е параметричен корелационен коефициент на Браве.

----- www.eufunds.bg -----

Таблица 3.17. Резултати от корелационен анализ на данните за приоритетни замърсители в риби от Черно море

		Sum_I_PCB_риби	SUM_DL_PCB_риби	SUM_13PAHs_риби	SUM_DDTs_риби
N	Valid	34	34	34	34
	Missing	0	0	0	0
Mean		5,7465	1,4379	17,1794	6,6221
Mode		,67 ^a	1,04 ^a	14,95	3,64
Std. Deviation		4,92504	1,42106	6,57057	5,25710
Minimum		,67	,00	5,14	,34
Maximum		23,26	5,31	41,35	17,82
a. Multiple modes exist. The smallest value is shown					

		Sum_I_PCB_риби	SUM_13_PAHs_риби	SUM_DL_PCB_риби	SUM_DDTs_риби
Sum_I_PCB_риби	Pearson Correlation	1	,197	,836	,703
	Sig. (2-tailed)		,264	,000	,000
	N	34	34	34	34
SUM_13_PAHs_риби	Pearson Correlation	,197	1	,365	,429
	Sig. (2-tailed)	,264		,034	,011
	N	34	34	34	34
SUM_DL_PCB_риби	Pearson Correlation	,836	,365	1	,700
	Sig. (2-tailed)	,000	,034		,000
	N	34	34	34	34
SUM_DDTs_риби	Pearson Correlation	,703	,429	,700	1
	Sig. (2-tailed)	,000	,011	,000	
	N	34	34	34	34

Установени са следните зависимости:

Силна зависимост $r=0,836$, статистически значима $p=0,000<\alpha=0,05$ между I-PCB и DL-PCB

Силна зависимост $r=0,703$, статистически значима $p=0,000<\alpha=0,05$ между I-PCB и DDTs

Умерена зависимост $r=0,365$, статистически значима $p=0,034<\alpha=0,05$ между PAHs и DL-PCB

Умерена зависимост $r=0,429$, статистически значима $p=0,011<\alpha=0,05$ между PAHs и DDTs

Силна зависимост $r=0,700$, статистически значима $p=0,000<\alpha=0,05$ между DL-PCB и DDTs

Изводи: Направеният анализ показва, че морските организми определено са изложени на комбинирано въздействие на редица замърсители от околната среда. При хищни видове риби, в резултат от процеси на биомагнификация, това въздействие се усилва и рискът от неблагоприятни ефекти върху развитието на индивидите нараства.

Изготвил:

Доц. Станислава Георгиева

Консултант Константин Капитанов

----- www.eufunds.bg -----

Проект № BG14MFOP001-6.004-0006 е финансиран от Програмата за морско дело и рибарство 2014 - 2020, съфинансирана от Европейския съюз чрез Европейския фонд за морско дело и рибарство.

Поддейност 7: Анализ на стратегическото въздействие на резултатите от проекта върху "Синия растеж"

Стратегическото въздействие на резултатите от проекта е анализирано от гледна точка на приноса им към целите на Интегрираната морска политика на ЕС и дългосрочната Стратегия за син растеж, която подкрепя устойчивия икономически растеж на свързаните с морето сектори. Изготвен е подробен доклад (над 50 страници) от експерт по икономика, в който са формулирани критерии и е представена експертна оценка за въздействието на резултатите от проект „Изследване на приоритетни химични замърсители и биотоксини за оценка на състоянието на морската среда“ върху синия растеж.

Основните аспекти на анализа са:

- оценка на приноса на резултатите от проекта към целите на Интегрираната морска политика на ЕС и дългосрочната Стратегия за син растеж, която подкрепя устойчивия икономически растеж на свързаните с морето сектори;
- описание на актуалното състояние на сектор „Рибарство и аквакултури“ като част от синята икономика на България;
- обзор на примери на управление на последиците от замърсяване на морски храни и добри практики
- оценка на ефектите от постигнатите резултати върху местните риболовни дейности, регионалния туризъм и качеството на живот;
- формулиране на предложения към Морската стратегия на Република България и Програмата от мерки за 2022 – 2027 г.

Стратегическата програма за научни изследвания е съществен елемент от Общия дневен ред за Черно море и организирана около четири основни стълба (фиг.3.28).

Ангажирането на гражданите и повишаването на осведомеността за състоянието на моретата и океаните и влиянието на човешките дейности върху тях са мощен инструмент за намиране устойчиви решения на въпросите, които поставя развитието на синята икономика.

Несъмнено настоящият проект допринася в много висока степен за надграждане на базата от познания, необходими за интегрираната морската политика. Това се потвърждава от събраните данни в рамките на проекта, представени в работните отчети, 17 участия в научни конференции в България и чужбина, както и от три публикации, приети за печат в индексирания списание *BioRisk* и *Bulgarian Journal of Agricultural Science*.



Фигура 3.28. Четири основни стълба на Стратегическата програма за научни изследвания и иновации за Черно море

Резултатите от проекта имат пряко отношение към устойчивото използване на живите морски ресурси и подобряването качеството на живот по крайбрежието чрез приноса си към създаване на надеждна рамка за безопасни морски храни и непряко – надеждни работни места за заетите в сектора на риболова и морските аквакултури. Проведените четири информационни кампании за резултатите от проекта сред различни целеви групи имат съществено значение за повишаване на общественото съзнание за значението на морската икономика.

Принос на резултатите от проекта към целите на Стратегията за син растеж

Резултатите от проекта се оценяват спрямо съответствието им към основните цели на представените европейски и регионални политики. Основните цели на всяка една от разгледаните политики са резюмирани, за да послужат като критерии за оценка на приноса на проекта към напредъка в приближаването към формулираните цели.

Оценката на приноса на резултатите от проекта към целите на морската политика в Европа и Черноморския регион е представена в три качествени степени: висок, умерен и нисък принос (Таблица 3.18). За нагледно представяне е използвано цветово кодиране, съответстващо на цветовете на светофара. Областите, към които проектът има висок принос са маркирани в зелено. Там, където проектните резултати допринасят в умерена или средна степен за постигане на изведените цели на действащите морски политики, са отбелязани в жълто. Онези приоритети, които остават извън обсега на проекта, са посочени в червено.

----- www.eufunds.bg -----

Таблица 3.18. Оценка на приноса на резултатите от проекта към целите на морската политика на ЕС в Европа и Черноморския регион

Критерии	Висок принос	Умерен принос	Нисък принос
Интегрирана морска политика			
Устойчиво използване на моретата			
База от познания и иновации за морската политика			
Подобряване на качеството на живот по крайбрежието			
Европейско лидерство в международното морско дело			
Повишаване на общественото съзнание за значението на морската икономика и наследство			
Устойчива синя икономика			
Неутралност по отношение на климата и нулево замърсяване			
Кръгови модели за предотвратяване на попадането на отпадъци в морската среда			
Опазване и защита на биологичното разнообразие и инвестиции в морски защитени зони			
Устойчивост на крайбрежните райони чрез изграждане на природосъобразна инфраструктура			
Устойчиви продоволствени системи, включително чрез диверсифицирани аквакултури			
Общ дневен ред за Черно море			
Жизнени и здрави морски и крайбрежни екосистеми			
Конкурентоспособна, иновативна и устойчива синя икономика			
Подкрепа за инвестициите в черноморската синя икономика			
Стратегическата програма за научни изследвания			
Черноморски мост на знанието			
Черноморска синя икономика			
Ключова инфраструктура и стимули за политики			
Овластени граждани и квалифицирана синя работна сила			

Направената експертна оценка се основава на съдържателен анализ на описанието на проекта и неговите дейности, преглед на постигнатите резултати и интервю с екипа на проекта.

Целите на интегрираната морска политика с отношение към проекта в най-висока степен са:

- Да се създадат оптимални условия за устойчиво използване на океаните и моретата, които осигуряват възможност за развитие на морските сектори и крайбрежните региони.
- Да се изгради база от познания и иновации за морската политика.

- Да се подобри качеството на живот в крайбрежните региони чрез насърчаване на крайбрежния и морския туризъм, както и да се създаде стратегия за предотвратяване на бедствия и развитие на морския потенциал на най-отдалечените региони и островите на Европейския съюз.

Несъмнено настоящият проект допринася в много висока степен за надграждане на базата от познания, необходими за интегрираната морската политика. Това се потвърждава от събраните данни в рамките на проекта, представени в работните отчети, 17 участия в научни конференции в България и чужбина, както и от три публикации, приети за печат в индексирания списание *BioRisk*. Резултатите от проекта имат пряко отношение към устойчивото използване на живите морски ресурси и подобряването качеството на живот по крайбрежието чрез приноса си към създаване на надеждна рамка за безопасни морски храни и непряко – надеждни работни места за заетите в сектора на риболова и морските аквакултури. Проведените четири информационни кампании за резултатите от проекта сред различни целеви групи имат съществено значение за повишаване на общественото съзнание за значението на морската икономика.

Целите на устойчивата синя икономика, към които проектът е насочен, са следните:

- постигане на неутралност по отношение на климата и нулево замърсяване;
- разработване на кръгови модели и решения за предотвратяване на попадането на отпадъци в морската среда;
- опазване и защита на биологичното разнообразие и инвестиции в морски защитени зони;
- устойчивост на крайбрежните райони чрез изграждане на природосъобразна инфраструктура;
- изграждане на устойчиви продоволствени системи, включително чрез диверсифицирани аквакултури със слабо въздействие върху водните екосистеми.

Резултатите на проекта, които в най-висока степен съответстват на приоритетите за устойчива синя икономика, са в две области. Това са опазване и защита на биологичното разнообразие и инвестиции в морски защитени зони, както и създаване на устойчиви продоволствени системи, включително чрез диверсифицирани аквакултури. Данните за параметрите на морската среда от райони на интензивно антропогенно въздействие и от защитени зони дават възможност на екипа на проекта да формулира препоръки за коригиране на компоненти на Морската стратегия на България с цел по-добро опазване на биоразнообразието в българската акватория, включително чрез пространствени мерки. Същевременно анализът на акумулирането на химични замърсители и биотоксини в морски организми, използвани за храна, стои в сърцевината на научнообоснован подход за формулиране на управленски мерки за устойчиво развитие на аквакултурите и улова на мекотели в Черно море, които представляват основен източник на заетост и доходи в този сектор на синията икономика.

www.eufunds.bg

Проектът има пряко отношение към четири от дескрипторите на Рамковата директива за морска стратегия. Това са: Дескриптор 5 Евтрофикация, Дескриптор 8 Замърсители в морската околна среда, Дескриптор 9 Замърсители в морски хранителни продукти и Дескриптор 10 Морски отпадъци.

Целите на Общия дневен ред за Черно море са:

1. Жизнени и здрави морски и крайбрежни екосистеми
2. Конкурентоспособна, иновативна и устойчива синя икономика
3. Подкрепа за инвестициите в черноморската синя икономика

Както бе посочено и при прегледа на приноса към целите на политиките на ЕС, проектът има висок принос в регионален план към първите две цели на Общия дневен ред за Черно море.

Аналогично това важи с пълна сила и за стълбове 1 – 3 от Стратегическата програма за научни изследвания и умерено за четвъртия стълб:

- Стълб 1 „Черноморски мост на знанието“ – мултидисциплинарни изследвания; нови знания за намаляване на натиска от различни източници на натиск върху черноморската екосистема
- Стълб 2 „Черноморска синя икономика“ – стимули за иновации в секторите на синята икономика
- Стълб 3 „Ключова инфраструктура и стимули за политики“ – изграждане на стандарти и системи за мониторинг на морската среда
- Стълб 4 „Овластени граждани и квалифицирана синя работна сила“ – насърчаване на диалога между наука и управление при формулирането на морски и крайбрежни политики и програми.

Изготвил: Александър Шиваров, ди

Подробен доклад - Анализ на стратегическото въздействие на резултатите от проекта върху "Синия растеж" е приложен към Техническия отчет на проекта

ОБОБЩЕНИЕ НА ПОСТИГНАТИТЕ РЕЗУЛТАТИ ПО ДЕЙНОСТ 3

Направена е оценка състоянието на морската среда по отношение на приоритетни химични замърсители в биота съгласно стандарти за качество на морската среда (СКОС) в съответствие с Морската стратегия по Дескриптори 8, 9 и 10. Направено е сравнение на резултатите за съдържание на приоритетни химични замърсители (PCBs, PAHs, пестицидни остатъци, токсични елементи, и др.) в морски организми с пределно допустимите норми в Европейското законодателство.

- Изготвено е Предложение за разширяване на защитена зона BG0000103 „Галата“ и обособяване на рискови зони в Черно море и е изпратено до МОСВ и Басейнова дирекция Черноморски район. Предложението е въз основа на резултати и изводи от проекта, на базата на които е направена оценка на състоянието на морската среда и е във връзка с изпълнение на Индикатора - промяна в обхвата на другите мерки за пространствена защита по член 13, параграф 4 от Директива 2008/56/ЕО.

- Проследена е динамиката в нивата на приоритетни химични замърсители в биота (токсични елементи, PCBs, пестицидни остатъци и др.) като данните от мониторинга през 2021 г са сравнени с данни от собствени проучвания през периода 2007 – 2015 г.

- Направен е анализ на получените данни от химичните анализи на 30 проби морски води от различни райони на българското крайбрежие на Черно море и оценка на състоянието на морската среда по отношение на физико-химични показатели за периода на изследване в съответствие с Морската стратегия по Дескриптор 5.

- Направен е анализ на динамиката в сезонните колебания в нивата и вида на морски биотоксини с цел прогнозиране на инцидентната им поява.

- Направено е проследяване на акумулацията на приоритетните замърсители в трофичните нива чрез изчисляване на фактор на биомагнификация BMF, за да се направи оценка на застрашени морски видове.

- Направено е съпоставяне на нивата на физико-химични параметри на морската околна среда в мидените ферми с нивата им в защитени зони в Черно море.

- Измерените стойности на хранителни вещества (физико-химичните параметри) са използвани за оценка на влиянието на средата върху нивата на биогенни замърсители в аквакултурите.

Тези резултати се използват при изготвяне на становища и предложение за разширяване на защитените територии по Северното Черноморие с цел опазване на биоразнообразието и във връзка с изпълнение на индикатор „Промяна в покритието на другите мерки за пространствена защита по член 13, параграф 4 от Директива 2008/56/ЕО“.

- Получените резултати за концентрации на PCBs, DDTs, хлорорганични пестициди, токсични елементи са използвани за оценка на безопасността на морските организми като храна. Направено е сравнение на резултатите за концентрациите на замърсителите с нормите за тези вещества в риба и миди, предназначени за консумация.

----- www.eufunds.bg -----

- Направена е оценка на комбинирано въздействие на замърсители върху морските организми – на УОЗ и микропластмасови частици и въздействие на PAHs върху морските организми.
- Оценена е безопасността на мидите като храна по отношение на морски биотоксини.
- Направен е анализ на стратегическото въздействие на резултатите от проекта от гледна точка на приноса им към целите на Интегрираната морска политика на ЕС и дългосрочната Стратегия за син растеж, която подкрепя устойчивия икономически растеж на свързаните с морето сектори.
- Получените резултати за концентрации на УОЗ, PAHs, токсични елементи, физико-химични показатели и морски биотоксини са обработени чрез статистически методи за анализ на данни, които са използвани при интерпретирането, и обобщението на резултатите във връзка с изготвяне на оценка на състоянието на морската среда и безопасност на морските организми

Принос на постигнатите резултати

Повишаване на знанията за състоянието на морската среда по отношение на замърсители с антропогенен и биогенен произход, както и оценката за състоянието на морската околна среда и безопасността на морските организми като храна допринасят за подкрепа за типични местни производства (мидени ферми, стопански улов на риба). По този начин се постига насърчаване на местната "синя" икономика и „син растеж“ на региона. Това от своя страна би довело до насърчаване на алтернативни форми на туризъм- крайбрежен и морски, включително кулинарен и спортен туризъм, както и за развитие на морския потенциал на райони, които до този момент не се използват с това предназначение. Подкрепата за устойчиво управление на морето, както и за опазване на биоразнообразието и традиционния поминък, ще спомогнат за съхраняване на привлекателността на Българското Черноморие.

Резултатите за оценка на състоянието на морската среда и безопасност на морските организми ще допринесат за подобряване качеството на живот в крайбрежните райони по отношение на здравето на консуматорите, възможността за професионална реализация и развитие в секторите на „синята“ икономика.

Дейност 4 Повишаване на осведомеността и знанията на обществеността за състоянието на морската среда и въздействието на антропогенните дейности.

Представянето на резултати от дейностите по проекта на научни форуми повишава знанията и информираността на обществеността за актуалното състояние на морската среда по отношение на замърсители с антропогенен и естествен произход както и на безопасността на морските организми като храна.

- Организиран са **4 информационни кампании** с цел повишаване на знанията и информиране на институции и обществеността за актуалното състояние на морската среда и за популяризиране на резултатите от проекта.

- Проведените образователни кампании повишават осведомеността на обществеността (научна общност, институции, студенти, ученици и др.) и на бизнеса (търговци и рибари) относно източниците на морските отпадъци и въздействието им върху околната среда както и добри практики за редуциране и рециклиране на пластмасовите отпадъци.

- Екипът на проекта се включи в ежегодното отбелязване на Европейски ден на морето 20 май като участва в ХИБРИДНА КОНФЕРЕНЦИЯ С ПРЕДСТАВИТЕЛИ НА НАУКАТА НА ТЕМА: „Споделяне на успешни мерки и инициране на нови идеи за чисто и здраво море и за устойчива синя икономика“, част от инициативата „In My Country 2022“ на ЕК в с. Равда през август 2022 г. Конференцията беше организирана от Национална рибарска мрежа. Представени бяха част от резултатите и реализираните дейности по проекта.

- Осигурена е публичност на проекта чрез представяне на информация в сайта на МУ-Варна; представени са целите и основните задачи на проекта пред научната общност в МУ-Варна, представители на бизнеса и др. организации и пред студенти чрез участие в проведените научни форуми.

- Представените презентации повишават обществената осведоменост относно потенциалните рискове, свързани със замърсяването на морската среда с химични замърсители и микропластмаси, които могат да бъдат опасни за морските екосистеми и в крайна сметка за човешкото здраве.

- Представени са на научни форуми първоначални резултати за съдържание на микрочастици от пластмаси (МП) в морски. Представените данни за МП в морски води повишават осведомеността на научната общност и институциите за нивата на тези потенциално опасни замърсители в морската среда.

- Организираните информационни кампании допринасят за повишаване на осведомеността на обществеността – ученици (Общински детски комплекс – Варна, „Международен екологичен форум Сребърна 2022“ в гр. Силистра), учители („Международен екологичен форум Сребърна 2022“ в гр. Силистра, 49-а Национална конференция на учителите по химия в гр. София), учени (11-а Национална конференция по химия) и студенти от Медицински университет – Варна.

- Изготвени и отпечатани са информационни материали относно целите и задачите на проекта, които са разпространени по време на научните форуми и информационните кампании сред ученици, студенти, учени и преподаватели.

- Екипът на проекта участва в **17 научни форума в България и чужбина**, на които са представени резултати от проекта.

www.eufunds.bg

- Организирана е **международна среща** симпозиум с представители на науката, институции, бизнеса и неправителствени организации от България и от Румъния, която се проведе на 21.10.2022 г в хотел Рослин Димят, гр. Варна в хибриден вариант – присъствено и on-line.

- Подготвени и публикувани са три пълнотекстови публикации с обобщени данни и резултати от проведените изследвания на морски биотоксини в миди и планктон и на микропластмаси в морската среда.

- По време на информационните кампании и проведената Международна среща са осъществени контакти в национален, регионален и международен план с представители на науката, институциите и неправителствени организации. Обсъдени са възможности за бъдещи партньорства с университети, научни групи, институциите и бизнеса като съвместни проекти и изготвяне на стратегии за опазване на морската околна среда.

- Повишена е обществената осведоменост (на студенти, ученици, преподаватели, учени, представители на институции и бизнеса) относно рисковете, които по-малко видимите частици от микропластмаси представляват за морските екосистеми и в крайна сметка за човешкото здраве.

Публичността на проекта е осигурена чрез:

- Осигурена е публичност на проекта чрез представяне на финансовия принос на Програмата за морско дело и рибарство 2014 – 2020 в реализирането на дейностите по проекта.
- Изградено е съдържание в интернет страницата на проекта и поддържане на актуална информация в сайта на МУ-Варна.
- Изготвен е видеоматериал от телевизията на МУ-Варна, в който са представени основните цели, задачи и резултати от проекта.
- Изготвени и раздадени са информационни материали за информационните кампании, научните форуми и международната работна среща (постери, брошури, флаери и др.).



Дейност 5. Осъществяване на сътрудничество със страни от Черноморския регион за подобряване на състоянието на морската среда.

Създадени са нови и са разширени съществуващите контакти на Медицински университет – Варна с университети, научни организации и институции, които наред с другите общи широки теми работят и в областта на морската околна среда. Създадени са нови контакти и е разширено сътрудничеството с Румъния и други страни от Черноморския басейн за споделяне на опит в областта на подобряване на качеството на морската среда, включително намаляване на отпадъците.

За изпълнение на целите на проекта е използван методът за идентифициране на заинтересованите страни (stakeholders) и управление на комуникациите с тях. Създаден е първоначален вариант на Система за обмен на информация и взаимодействие на участниците в проекта със заинтересованите страни (stakeholders) от Черноморския басейн, който ще бъде разширяван и развиван и след приключване на проекта.

Системата за обмен на информация и взаимодействие като начало е реализирана като препратка в интернет страницата на Медицински университет – Варна и представлява платформа, в която са представени основните цели и задачи на проекта, изпълнението на дейностите и постигнатите резултати. Тази платформа повишава видимостта на резултатите от проекта и достъпността на информацията за всички заинтересовани страни, което е най-подходящият начин за взаимодействие в съвременният дигитален свят. По този начин заинтересованите страни имат възможност да обменят информация, да дават предложения, да обсъждат съвместни дейности, на базата на които се развиват партньорства за съвместни проекти и дейности свързани с опазването на морската околна среда.

През месец октомври 2022 г беше проведена Международна среща – симпозиум, в която участваха заинтересовани страни от България и Румъния. На срещата бяха представени резултати от дейностите по проекта и разгледани възможности за съвместни дейности по постигането на политиките на Рамковата директива за морска стратегия.

При изграждането на Системата за обмен на информация и взаимодействие са приложени научно-изследователски инструменти като например „матрицата на заинтересованите страни“ (Stakeholder matrix). Основните аргументи за изграждане на такава система са свързани с различния професионален и изследователски профил на участниците и разнообразието на заинтересовани страни, с които ще се осъществяват дейностите по време и след приключване на проектния период.

Заинтересовани страни и международни партньорски мрежи на Медицински университет – Варна

В процеса на изпълнение на дейностите проектният екип се ориентира към групиране на заинтересованите страни, които имат отношение към тематиката на проекта, тъй като

----- www.eufunds.bg -----

Медицински университет – Варна работи с широка мрежа от партньори, институции и заинтересовани страни на регионално, национално и международно ниво. Идентифицирани са три основни групи заинтересовани страни в областите и обхвата на проекта: научни организации, представители на бизнеса и публични институции.

Активизирането и разширяването на партньорската мрежа на Медицински университет – Варна по отношение на международните партньори от региона на Черно море се осъществи чрез активна кореспонденция в рамките на членството на университета в Черноморската университетска мрежа. Black Sea Universities Network (BSUN).

Мрежата на черноморските университети е инициатива, целяща развитието на платформа за сътрудничество между университетите от Черноморския регион. Тя има юридически статут на международна "ad hoc" организация и е създадена по повод 2-рата конференция на ректорите на Черноморските университети, проведена в Констанца между 9 и 12 юли 1998 г., в Университет "Ovidius" в Констанца, Румъния. Мрежата включва над 120 университета-членки от 12-те държави-членки на Организацията за черноморско икономическо сътрудничество като Албания, Армения, Азербайджан, България, Грузия, Гърция, Молдова, Румъния, Русия, Турция, Украйна и Сърбия. Медицински университет – Варна е активен член на мрежата от 1998 г.

Съществен момент в комуникацията и сътрудничеството ни с BSUN, включващо и обсъждане на подобряване на морската среда в Черноморския басейн бе участието на екип на университета ни в онлайн конференция, проведена на 19 април 2021 г. Темата на конференцията бе по-широка и включваше актуални въпроси за развитие на висшето образование и научните изследвания в пост ковид периода. Международният семинар беше организиран от Черноморската университетска мрежа (BSUN) с домакинството на Университета в Баку, Азербайджан.

Активирането на международната ни партньорска мрежа в региона на Черноморския басейн и участието на екип на университета в международния онлайн форум на BSUN през април 2021г. представлява съществена крачка в процеса на изграждане на система за обмен на информация и взаимодействие със заинтересовани страни в международен план.

На този етап системата е в първоначален вариант и е ориентирана към приложение на инструменти и техники за стейкхолдър мениджмънт *съгласно международните стандарти за управление на проекти.*

Използван е алгоритъм за изграждане и функциониране на системата от 4 основни стъпки:

Стъпка 1.: Идентифициране на стейкхолдърите (група процеси за инициране) – дефиниране на лицата, групите и организациите, които (могат да) влияят върху, или са повлияни от проекта; включва стейкхолдър анализ като инструмент и има за цел създаването на стейкхолдър регистър (списък на заинтересованите страни);

Стъпка 2.: Планиране на управлението на стейкхолдърите (група процеси за планиране) – има за цел създаването на план за управление на заинтересованите страни, базиран на

www.eufunds.bg

създадения вече регистър в рамките на който се определят стратегии за управление на отделните заинтересовани страни според текущо и очаквано участие на страните;

Стъпка 3.: Управление на участието (група процеси за изпълнение) – процес на комуникация и активна работа със заинтересованите страни, свързан основно с прилагането на „меки умения“, и специфични инструменти ;

Стъпка 4.: Контрол на участието (група процеси за контрол и мониторинг) – наблюдение на отношенията с/между заинтересованите страни, включително оценка на вложените по управлението им усилия, изпълнението на проекта и бъдещи съвместни действия; разглеждане на потребности от подобряването му.

Заклучение

Създадени са нови и са разширени съществуващите контакти на екипа на проекта от Медицински университет – Варна с университети, научни организации и институции, които работят в областта на морската околна среда. Създадени са нови контакти и е разширено сътрудничеството с Румъния и други страни от Черноморския басейн и от Европейския съюз за споделяне на опит в областта на подобряване на състоянието на морската среда. Идентифицирани са заинтересованите страни на национално и международно ниво в Черноморския басейн и са групирани според дейността и областите на влияние. Предложен е „Алгоритъм за изграждане на система за обмен на информация и взаимодействие със заинтересовани страни“. В процеса на работата по проекта са приложени научно-изследователски методи, инструменти и техники за управление на заинтересованите страни - „стейкхолдър мениджмънт“.

Постигнати резултати:

- Актуализиран е списъкът на заинтересованите страни във връзка с осъществяване на контакти и сътрудничество в областта на опазване на морската околна среда.

- Обсъдени и предложени съвместни дейности за подобряване на качеството на морската околна среда и намаляване на отпадъците като е изпратено Становище – предложение до МОСВ и Басейнова дирекция Черноморски регион във връзка с Обществени обсъждания на проекта на Морска стратегия на Р България и Програмата от мерки (ПоМ) 2022-2027 и Актуализация на отделните части на стратегията съгласно Член 17 на Рамкова директива за Морска Стратегия 2008/56/ЕС (РДМС) относно Програми за мониторинг.

- Организирана и проведена е **международна среща** с представители на науката, институции, бизнеса и неправителствени организации от България и от Румъния, която се проведе през м. октомври 2022 г в хотел Рослин Димят, гр. Варна в хибриден вариант – присъствено и online.

- По време на срещата са проведени разговори с представители на университети, институти и неправителствени организации от Румъния с цел сътрудничество и обмен на

----- www.eufunds.bg -----

информация относно повишаване на знанията за морската среда и възможности за съвместни проекти.

По време на информационните кампании и на международната среща са раздадени печатни информационни материали с информация за дейностите по проекта и за начини за намаляване на отпадъците от пластмаси в морската среда.

- Изградена е система за обмен на информация и взаимодействие със заинтересовани страни чрез подстраница (препратка) в интернет страницата на МУ-Варна. Тази система формира среда на взаимодействие и подкрепа за бъдещото развитие на национални и международни партньорства с научни организации, институции, бизнеса и неправителствени организации.

Изготвил: проф. Тодорка Костадинова, ди

ОСНОВНИ ЗАКЛЮЧЕНИЯ И ПРЕДЛОЖЕНИЯ

I. Оценка на състоянието на морската околна среда

- Проведени са изследвания за съдържание на приоритетни замърсители в черноморски видове риби и в проби миди от естествени популации и култивирани миди. Определени са приоритетни и специфични замърсители (съгласно Дескриптори 8 и 9 от Морската стратегия на България) в рибна тъкан на осем вида черноморски риби от естествени популации.

- Данните от проучванията показват, че съществуват междувидови разлики в нивата на замърсяване с полихлорирани бифенили, DDT и метаболити, хексахлоробензен и хексахлоробутадиен, хексахлороциклохексан и изомери, полициклични ароматни въглеводороди и токсични елементи при изследваните видове риби.

- DDT присъства главно под формата на метаболитите DDE и DDD, като DDE е преобладаващият метаболит във всички анализирани проби биота. Високото съотношение на метаболитът DDE към общото съдържание на DDT при пробите риби и миди, показва, че няма скорозна употреба на DDT в региона на проучените крайбрежни зони, а остатъчните концентрации на метаболитите са в резултат на стари замърсявания.

- Получените резултати за концентрациите на приоритетните замърсители хексахлоробензен и хексахлоробутадиен в риби и миди са под СКОС за биота (Директива на ЕС 39/2013) и показват „Добро“ състояние на крайбрежните води по отношение на тези замърсители.

- Средните нива на приоритетните полициклични ароматни въглеводороди (4 PAHs) в проби черни миди *Mytilus galloprovincialis* са много по-ниски от пределната максимална граница, определена в ЕС (Регламент (ЕУ) No 835/2011). Най-токсичният PAH benzo[a]pyrene, беше открит само в 33% от анализираните миди. Средната стойност за бензо[а]пирен 0.31 ng/g ww, е под пределно допустимата стойност за СКОС, определена в ЕС - 5 µg/kg wet weight (=ng/g) в двучерупчести мекотели (ЕС 2011). Това определя състоянието на морската среда като постигнато „Добро“ по този индикатор.

- Установените концентрации за Индикаторни PCBs в черноморските видове риба не надвишават максимално допустимите граници, установени в европейското законодателство

----- www.eufunds.bg -----

за сума от Индикаторни PCBs от 75 ng/g ww. Токсичните диоксиноподобни PCBs почти не се откриват в изследваните видове риби от Черно море, което е обяснимо с факта, че в България не е имало производство на PCBs.

- Сравнението на получените данни с резултати от проучвания на други автори показва, че нивата на замърсяване с приоритетните замърсители: полициклични ароматни въглеводороди (PAHs), полихлорирани бифенили PCBs, хексахлороциклохексан (HCHs), хексахлоробензен, хексахлоробутадиен, DDT и метаболити в изследваните риби и миди от българското черноморско крайбрежие са по-ниски, от проучвания на други автори за нивата за морски организми от Черно море и съседните - Мраморно и Средиземно море.

- Средната стойност на индикатора – живак, получена за всички проби риби за изследвания период е 0,035 mg/kg ww и надвишава СКОС за Hg в биота. Най-високо е превишаването на СКОС за живак в пробите калкан и чернокоп. Резултатите за живак надвишават СКОС в 62% от всички анализирани проби риба. Оценката на състоянието за индикатор живак по Дескриптор D8 - замърсители в морската околна среда за биота е „Не Добро“ в изследваните райони от българското морско крайбрежие. Определено по този показател проблемът със замърсяване на Черно море е доста сериозен и трябва да се вземат мерки на управленско ниво.

- Получените данни за микрочастиците в морски повърхностни води показват повсеместно разпределение в районите на изследване. Регистрираните микрочастици са много малки размери, поради което представляват сериозна заплаха за морските организми. Необходимо да се включи този показател в плановете за мониторинг и да се определи пределно допустима стойност (която все още липсва в европейското законодателство) с цел характеризиране на състоянието на морската среда по отношение на морските отпадъци от полимерен произход.

Състоянието на морската среда по отношение на морски биотоксини се характеризира със следните особености:

- В изследваните проби планктон и миди са регистрирани шест токсина – домоена киселина (планктон), РТХ2 (миди), РТХ2-са (миди), iso-РТХ2 (миди), УТХ (миди), ОН-УТХ (миди). Домоена киселина е регистрирана в малък брой проби планктон (14%). РТХ2 се среща само в две проби миди, докато РТХ2-са е регистриран във всички анализирани проби, а iso-РТХ2-са в 16 проби. УТХ е регистриран в 7 проби миди, а ОН-УТХ – в 8 проби, но нивата на тези два токсина са значително по-високи от средните нива на РТХ2-са и iso-РТХ2-са.

- Сравнението на средните концентрации на морските биотоксини по райони на вземане на проби показва, че средните концентрации на УТХ и ОН-УТХ са по-високи в район Север в сравнение с район Юг.

- Оценката на потенциалното влияние на мидените аквакултури върху състоянието на морската околна среда показва, че отглеждането на миди в мидени ферми е предпоставка за намаляване на хранителни вещества и противодействие на отрицателните ефекти от еутрофикацията в крайбрежните води. От съществено значение е да се определят потенциалните източници на азотни съединения и други биогени, с цел насърчаване на разширяването на производството на миди.

II. Оценка на безопасност на морските организми

- Направена е оценка на безопасността на морските организми като храна като са изчислени дневен прием (EDI) и коефициент на риск (RQ) по отношение на замърсяването с PCBs, DDTs, HCB и HCHs. За всички видове черноморски риби коефициентите на риск RQ показват много по-ниска стойност от 1, което означава, че консумацията на черноморските риби не представлява риск за човешкото здраве.

- Изчисленият дневен хранителен прием на токсични елементи (Hg, Pb, Cd и Zn) чрез консумация на черноморски риби е използван за оценка на безопасността им като храна. Стойностите на коефициента на опасност THQ са значително по-ниски от 1, включително за токсичния елемент живак (Hg). Следователно нивата на токсични елементи в ядивната тъкан на рибните видове не представляват риск за здравето на потребителите.

- Нивата на морски биотоксини в диви и култивирани миди са под максимално допустимите граници за Европейския съюз. Изчислените остри експозиции са значително по-ниски от референтните стойности (ARfD), предложени от EFSA. Следователно не може да се очаква риск за здравето при консумация на миди. За превенция на острите отравяния и хронична експозиция е необходимо периодично проследяване нивата на токсините в черноморските миди. Контролът трябва да обхваща повече места за търговия с миди. Необходимо е да се извършва и контрол на биотоксини в диви миди, защото те също се използват за храна.

- Направеният анализ показва, че морските организми определено са изложени на комбинирано въздействие на редица замърсители от околната среда. При хищни видове риби, в резултат от процеси на биоаккумуляция и биомагнификация, това въздействие се усилва и рискът от неблагоприятни ефекти върху развитието на индивидите нараства.

III. Предложения по Стратегия за мониторинг (РДМС) по Дескриптор 8 – Замърсители в морската околна среда и Дескриптор 9 – Замърсители в риби и други морски хранителни продукти

1. В програмата за мониторинг за оценка по Дескриптор 8 да се включат допълнителни видове индикаторни морски организми, които да бъдат изследвани за химични замърсители (на регионално ниво). По конкретно:

- бяла мида - wedge clam (*Donax trunculus*) - този вид двучерупчесто мекотело обитава пясъчното дъно и може да бъде индикатор за оценка на състоянието на морската среда по отношение на полициклични ароматни въглеводороди (PAHs).

- морски кефал (*Mugil cephalus*) – поради специфичния начин на хранене (храни се с детрит, растителни обраствания, бентос и други) е подходящ вид за оценка на състоянието на крайбрежните морски води по отношение на полихлорирани бифенили, хлорорганични пестициди, токсични елементи и др. замърсители от антропогенен произход. Видът се използва и като храна за хората и е важно да се проследяват нивата на замърсяване в този морски организъм затова може да се включи и като вид за наблюдение в Дескриптор 9.

2. Периодичността на мониторинга за замърсители, които са по-често срещани в биота като PAHs, Hg, Cd, As трябва да бъде ежегоден. Докато за замърсители, при които е установена

----- www.eufunds.bg -----

тенденция за трайно намаляване във времето (PCBs, DDTs) и чиито нива са под СКОС (като HCB и HCBd) мониторингът може да бъде на всеки 3 или на 5 години.

3. Да бъдат обособени „рискови зони“ – например райони, в близост до големи пристанища или други източници на антропогенно замърсяване, или в които е имало инциденти с кораби, като в тези зони ежегодно да се анализират приоритетни замърсители като PAHs в двучерупчести мекотели като *Mytilus galloprovincialis* и *Donax trunculus*, (като биоиндикаторни организми).

4. Нивата на Hg трябва да се следят във видове като кая (попче), калкан и чернокоп – при тези видове средните стойности са по-високи от СКОС за биота (Директива на ЕС 39/2013), въпреки че са под допустимата норма за консумация като храна (съгласно Регламент 1881/2005).

IV. Предложения по Стратегия за мониторинг по Дескриптор 10 Морски отпадъци

1. Предлагаме като обект на изследване по Дескриптор 10 да бъдат включени и двучерупчести мекотели (например черна *Mytilus galloprovincialis*, *Donax trunculus* и др.) за съдържание на микрочастици от пластмаси (като микроотпадъци в морската среда). В пилотно проучване в рамките на текущия проект изследвахме тъкани от миди и резултатите показват, че в тях се съдържат микропластмаси (полимерни частици с размер под 5 мм). Черната морска мида (*Mytilus galloprovincialis*) е обект на стопанско отглеждане в мидени ферми по Черноморското ни крайбрежие и се използва като храна за хората. Важно е да се провежда мониторинг на този биоиндикаторен вид, за да се проследи тенденцията в нивата на замърсяване с микрочастици в морската околна среда.

2. Предложение по Критерий D10C2, Индикатор 2: отпадъци < 5 mm, плаващи по морската повърхност по категории, изразено в брой и тегло (g) за 100 m² - да се добави и „изразено в брой за литър (pt/L) (и брой за m³ (pt/m³)“, тъй като е често използвана единица за измерване количеството на микрочастиците в морските води.

3. Предложение по Критерий D10C3, Количеството отпадъци и микроотпадъци, погълнати от морските организми е на ниво, което не оказва неблагоприятно влияние върху здравето на съответните видове. Да бъде включена черната мида *Mytilus galloprovincialis* като индикатор за натиск.

Предложения по актуализацията на програмите от мерки за периода 2022-2027

Предложения за прецизиране на съществуващите мерки и дейности по управление за опазване на екологичното състояние на морската среда и биологичното разнообразие в Черно море.

- По мярка № 1 Управление и намаляване на дифузните източници на замърсяване, включително атмосферните отлагания на замърсители (връзка с Дескриптор 8 Замърсители в морската околна среда)

Управленски мерки

Предложени са конкретни подобрения при актуализиране на Програмите за мониторинг, свързани с индикаторите и периодичността на мониторинга.

----- www.eufunds.bg -----

Регулярният контрол за замърсители от антропогенен и биогенен произход да се извършва чрез целеви видове индикаторни морски организми, за да се оцени текущото състояние на морската среда в рискови райони (с потенциални източници на замърсяване).

Получените данни да бъдат използвани от институциите за определяне на СКОС на регионално ниво, за да се направи оценка на морската среда и замърсяването на биотата с приоритетни и специфични замърсители (за които все още не са определени СКОС).

Икономически мерки – подпомагане на бизнеса при отглеждането на аквакултури (черупкови и рибни) с цел стимулиране и развитие на местното производство.

- Насърчаване на производството на култивирани миди, с цел „син растеж“ на региона и намирането на икономически ефективни решения, може да се осъществи чрез картографиране на всички потенциални източници на азотни съединения и други биогени. Като по този начин се обособят потенциално най-подходящите райони за производство на миди.

Технически мерки

Ограничаване на дейности по драгиране и тралиране на морското дъно в рискови региони и защитени територии, които са местообитания на морски видове риби и черупчести.

- По Мярка № 3 Приемане и прилагане на Регионален план за действие за Черно море по отношение на морските отпадъци (Дескриптор 10).

Управленски мерки

Предложени са конкретни подобрения при актуализиране на Програмите за мониторинг по Дескриптор 10, свързани с индикаторите за оценка и конкретни допълнения към критериите за мониторинг.

- Мярка № 8 Провеждане на дългосрочни наблюдения на въздействията в зоните, разрешени за тралиране с бийм трал.

Управленски мерки

Необходима е периодична оценка на въздействието на тези дейности върху местните видове морски организми, с цел промяна на границите на тези зони и на изискванията за експлоатация.

Подходящо е тези зони да бъдат определени като „рискови“ и да се извършва контрол на замърсители от антропогенен произход в местните видове биота, поради риск от вторично замърсяване от седиментите.

- Мярка № 15 Създаване на синхронизирани и представителни мрежи от морски защитени зони в Р България и Румъния, както и на планове за управлението им. Увеличаване на площта на защитените територии, обявени по реда на Закона за защитените територии в морската среда. Подобрен контрол на регламентираните дейности в защитените зони и защитените територии.

Управленски мерки

Изготвено е Предложение за разширяване на защитена зона BG0000103 „Галата“ и обособяване на рискови зони в Черно море и е изпратено до МОСВ и Басейнова дирекция Черноморски район. Предложението е въз основа на резултати и изводи от проекта, на базата на които е направена оценка на състоянието на морската среда и е във връзка с изпълнение

----- www.eufunds.bg -----

на Индикатора - промяна в обхвата на другите мерки за пространствена защита по член 13, параграф 4 от Директива 2008/56/ЕО.

ПОСТИГНАТИ РЕЗУЛТАТИ И ПРИНОСИ НА ПРОЕКТА

1. Обобщени и систематизирани са актуални данни за нивата на приоритетни химични замърсители в морската среда, получени от проведен мониторинг в периода февруари 2021 – май 2022 г: полихлорирани бифенили (PCB), хлорорганични пестициди (DDT и метаболити), хексахлоробензен, хексахлоробутадиен, полициклични ароматни въглеводороди (PAH) и токсични елементи в морски организми. Получените данни са използвани за оценка на актуалното състояние на морската среда и безопасност на морските организми (Дескриптори 8 и 9 на МС).

2. Разработени и въведени са нови екологосъобразни аналитични методи, чрез използване на нова апаратура за пробоподготовка (Система за ускорена екстракция Dionex ASE350), които значително намаляват времето за химичен анализ на пробите морски организми (миди и риби) за определяне на нови приоритетни химични замърсители (като PAHs, хексахлороциклохексан и др. хлорорганични замърсители).

3. Обобщени са актуални данни от химични анализи на токсични елементи в морски организми (риба и миди), на базата на които е направена оценка на замърсяването на морската средата и безопасност на морските организми.

4. Проведеното пилотно проучване представя данни за наличие на микрочастици под 5 мм в морски води и биота (миди). Разработени са нови аналитични процедури за разграждане на органичната материя на проби морски води и миди за определяне на микропластмаси. Обобщени са данните за полимерни частици в морски води и биота като са систематизирани по вид, цвят и размер. По този начин се попълват „празнините“ в научните знания за разпространението и вида на микрочастиците, които се срещат по Българското Черноморие (Дескриптор 10 на МС). Продължаването на изследванията в тази област ще даде възможност за управление и ефективна оценка на риска за хората. Към настоящия момент все още няма определени пределно допустими нива за съдържание на микропластмаси в морски организми. Данните от настоящото проучване ще предоставят информация на отговорните институции и възможност да бъдат определени управленски мерки на Европейско ниво.

5. Направен е анализ на получените резултати за морски биотоксини в пробите миди и планктон като са актуализирани знанията за състоянието на морската среда в Черно море през 2021 г. Данните за морски биотоксини са сравнени с предишни периоди на изследване и са представени във форма, удобна за интерпретация във връзка с обезпечаване на здравните стандарти, утвърдени в Регламент (ЕС) № 853/2004, за количеството на общите морски биотоксини в двучерупчести мекотели, които се пускат на пазара за човешка консумация. Това допринася за развитие на сектори като „Аквакултури“ и „Туризъм“.

6. Направена е оценка на състоянието на морската среда по отношение на приоритетни химични замърсители в биота съгласно стандарти за качество на морската среда (СКОС) в съответствие с Морската стратегия по Дескриптори 8, 9 и 10. Направено е сравнение на резултатите за съдържание на приоритетни химични замърсители (PCBs, PAHs, пестицидни

----- www.eufunds.bg -----

остатъци, токсични елементи, и др.) в морски организми с пределно допустимите норми в Европейското законодателство.

7. Проследената динамиката във времето на нивата на приоритетни химични замърсители в биота (PCBs, пестицидни остатъци, токсични елементи и др.) показва трайно понижение в нивата на повечето замърсители, което е определящо за постигане на добро химично състояние на морската среда.

8. Измерените стойности на хранителни вещества (физико-химичните параметри) са използвани за оценка на влиянието на средата върху нивата на биогенни замърсители в аквакултурите (Дескриптор 5).

9. Резултатите от проведените изследвания са използвани при изготвяне на становища и предложения при актуализация на програмите за мониторинг съгласно Морската стратегия, новите мерки за пространствена защита и за разширяване на защитените територии по Северното Черноморие с цел опазване на биоразнообразието. Предложенията са изпратени до МОСВ и Басейнова дирекция Черноморски район.

10. Направен е анализ на стратегическото въздействие на резултатите от проекта от гледна точка на приноса им към целите на Интегрираната морска политика на ЕС и дългосрочната Стратегия за син растеж, която подкрепя устойчивия икономически растеж на свързаните с морето сектори.

11. Повишена е видимостта на резултатите от научните изследвания по проекта чрез представяне на научни форуми в България и чужбина и получените резултати са публикувани в пълнотекстови научни публикации.

12. Проведени са четири информационни кампании за повишаване на осведомеността на обществеността, по отношение на нивата на замърсителите в морската среда, последствията от постъпването на пластмасови отпадъци във водните екосистеми и попадането на микрочастици в морските организми и тяхното въздействие, както и начините за намаляване на замърсяването в изпълнение на мярка 5, съгласно чл. 13 от Рамкова директива за морска стратегия 2008/56/ЕО.

13. Проведеното пилотно проучване предоставя данни за наличие на микрочастици под 5 мм в морски води и биота (миди). По този начин се попълват „празнините“ в научните знания за разпространението и вида на микрочастиците, които се срещат по Българското Черноморие.

14. Създадени са нови и са разширени съществуващите контакти на екипа на проекта от Медицински университет – Варна с университети, научни организации и институции, от Румъния и други страни от Черноморския басейн както и от други Европейски страни за споделяне на опит в областта на подобряване на състоянието на морската среда. Идентифицирани са заинтересованите страни на национално и международно ниво в Черноморския басейн и са групирани според дейността и областите на влияние.

15. Систематизирани данни за нивата на приоритетни замърсители в риби и миди показват тенденция към подобряване на химичното състояние на морската среда. Това е

----- www.eufunds.bg -----

предпоставка за устойчиво развитие на рибните ресурси, възстановяване и опазване на биологичното разнообразие във водните екосистеми. Повишените знания за доброто състояние на морската среда допринасят за развитие и подкрепа на местни производства (развитие на стопанския улов на риба и на сектор Аквакултури).

В ЗАКЛЮЧЕНИЕ

- В резултат от изпълнението на дейностите по проекта са систематизирани нови данни за нивата на антропогенни и биогенни замърсители във водни организми, събрани в определените райони за изследване, като по този начин допринасят за запълване на „празнините в знанията“ за региона на Черно море.
- Идентифицирани са индикаторите с най-висока степен на замърсяване (живак) и рискови видове водни организми (калкан, трициона, кая, карагьоз). Опасни вещества, за морската среда и биотата, които потенциално причиняват най-голяма вреда са: живак (Hg), кадмий (Cd) и сума от 13 PAHs.
- За да се повиши ефективността на оценяване и да се позволят сравнения на химичното състояние между отделни региони, е необходимо да се постигне по-високо ниво на хармонизация и да се определят максимално допустими нива на регионално равнище както и по отношение на приоритетните вещества така и на индикаторите.
- Установените ниски нива на изследваните замърсители показват тенденция към подобряване на състоянието на морската среда и на безопасността на морските организми от Черно море. Повишаването на осведомеността на обществото, включително на потребителите, предполага по-висока консумация на морски храни, които са ценен източник на хранителни вещества и микроелементи.
- Повишеното ниво на знания за начина на акумулиране на замърсителите от морската среда в морските организми, спомагат за оценка на рисковете от консумацията на замърсени морски храни.
- Необходима е по-висока степен на координация, сътрудничество и обмен на информация между научните организации, контролните органи по храните и екологичните институции, отговарящи за мониторинга на морската среда.