

Koncentracije žive u različitim vrstama riba



Nina Bilandžić*, Marija Sedak, B. Čalopek, Maja Đokić,
Božica Solomun Kolanović, Ivana Varenina, Đurđica Božić i Ines Varga

Uvod

Riba i riblji proizvodi važan su izvori hranjivih tvari u prehrani, odnosno proteina, vitamina, esencijalnih elementa, omega-3 dugolančanih polinezasićenih masnih kiselina, fitosterola, antioksidansa i fosfolipida (Larsen i sur., 2011.). Stoga se preporučuje njihova redovita konzumacija posebice u ranijim fazama života pri rastu i razvoju te pri prevenciji kroničnih bolesti kao što su koronarna srčana bolest, hipertenzija i rak, tijekom kasnijih faza života (Khawaja i sur., 2014.).

Različite riblje vrste mogu sadržavati i povišene koncentracije toksičnih (živa, arsen, kadmij, olovo) kao i esencijalnih elemenata (cink, bakar) koji mogu izazvati brojne negativne učinke na zdravlje konzumenata riba (Storelli i sur., 2010.). U vodnom okolišu, mikroorganizmi koji obitavaju u sedimentima pretvaraju anorgansku živu (Hg) podrijetlom iz prirodnih i antropogenih izvora u metilživu koja se nakuplja u tkivu živih organizama i akumulira u sve većim količinama što je vrsta više u prehrambenom lancu morskog sustava. Metilživa se gotovo potpuno apsorbirana (95-100%) u probavnom traktu. Nakon apsorpcije,

metilživa ima relativno dug biološki poluživot u ljudi, odnosno procjenjuje se da se kreće od 44 do 80 dana (USEPA, 1997.). Stoga su populacije s tradicionalno visokim postotkom korištenja ribe u prehrani najviše izložene bioakumulaciji metilžive i štetnim učincima tog spoja na zdravlje ljudi (Pirrone i sur., 2010.).

Glavni toksični učinak metilživa ima na središnji živčani sustav te su simptomi kroničnog izlaganja tom neurotoksikantu: periferna neuropatija, cerebralna ataksija, grčevi, gubitak pamćenja, demencija, sužavanje vidnog polja, utjecaj na sluh, umor, tremor i depresija (Patrick, 2002.). Međunarodna agencija za istraživanje raka (IARC) klasificirala je Hg i anorganski Hg u skupinu 3, kao spojeve koji se ne mogu klasificirati u odnosu na karcinogene učinke na ljude. Međutim, spojevi metilžive su klasificirani u skupinu 2B kao mogući kancerogeni za ljude (IARC, 2017.).

Metilživa je oblik koji prevladava u mišićnom tkivu ribe u postotku od 80 do 98%, ovisno o vrsti ribe (Afonso i sur., 2013.). Ukupna Hg se stoga smatra dobrim pokazateljem izloženosti metilživi obzirom na najviše dopuštene količine u različitim ribljim vrstama

Dr. sc. Nina BILANDŽIĆ*, dipl. ing. biotehnol., znanstvena savjetnica (dopisni autor, e-mail: bilandzic@veinst.hr), dr. sc. Marija SEDAK, dipl. ing. prehr. tehnol., Bruno ČALOPEK, dipl. ing. prehr. tehnol., Maja ĐOKIĆ, dipl. ing. kem. tehnol., Božica SOLOMUN KOLANOVIĆ, dipl. ing. biotehnol., dr. sc. Ivana VARENINA, dipl. ing. biotehnol., Đurđica BOŽIĆ, dipl. ing. biotehnol., Ines VARGA, mag. primj. kem., Hrvatski veterinarski institut, Zagreb, Hrvatska

prema Uredbi 1881/2006 od 0,5 mg/kg odnosno za tunu od 1,0 mg/kg (Europska komisija, 2006.). Koncentracija žive u ribljim vrstama je promjenjiva, ovisno o biotičkim čimbenicima kao što su: vrsta i hranidbene navike, trofična razina, stopa rasta, dob, spol, odnosno o abiotičkim čimbenicima kao što su voda, sedimenti i kontaminacija (Di Lena i sur., 2017.). Utvrđeno je da riblje vrste iz Sredozemnog mora usljed geokemijskih svojstava tog sustava, sadrže više razine Hg u odnosu na vrste iz drugih morskih sustava (Kotnik i sur., 2014.). U nekim predatorskim vrstama riba iz Mediteranskog mora utvrđene su visoke koncentracije Hg, na primjer u grdobini mrkulji (*Lophius piscatorius*) 2,20 mg/kg (Di Lena i sur., 2017.), odnosno u atlantskoj plavoperajnoj tuni (*Tunnus thynnus*) 3,03 mg/kg (Licata i sur., 2005.).

Danas se gotovo polovima ribe za prehranu u svijetu realizira kroz različite tehnike kultiviranja odnosno akvakulturu (FAO, 2014.). Smatra se da se time postiže i veća kvaliteta i sigurnost u zdravstvenu ispravnost ribe uzgojene u kontroliranim uvjetima u odnosu na divlje vrste iz ulova (Di Lena i sur., 2017.). U odnosu na Hrvatsku čija proizvodnja ribe iznosi 12 043 t, Italija proizvodi 474 000 tona, odnosno Ujedinjeno Kraljevstvo 148 438 t (MP, 2015., EFSA, 2016.). U Hrvatskoj uzgoj morske ribe uključuje bijelu ribu među kojima su najznačajnije vrste lubin (*Dicentrarchus labrax*) i komarča (*Sparus aurata*) te plavu ribu, odnosno atlantsku plavoperajnu tunu (*Tunnus thynnus*) (MP, 2015.). Isto je tako i potrošnja ribe u Hrvatskoj mnogo manja, odnosno, oko 10 kg po stanovniku na godinu, dok je u Italiji oko 20 kg (Di Lena i sur., 2017.).

Zbog svega navedenog od velikog je značenja kontrola i procjena rizika konzumacije ribe i ribljih proizvoda iz prehrambenog lanca u odnosu na količine Hg, a u odnosu na zakonske granice Europske unije (EU). Stoga je svrha ovog istraživanja: i) odrediti koncentracije

Hg u različitim vrstama svježih ribe ili konzervirane ribe prikupljene iz različitih prodajnih lanca; ii) provjeriti da li su izmjerene koncentracije Hg u skladu s propisima EU; iii) procijeniti tjedne unose Hg i usporediti ih s podnošljivim tjednim unosom preporučenim od Europske agencije za sigurnost hrane (EFSA).

Materijali i metode

Uzorkovanje školjaka

U istraživanju je analizirano ukupno 84 uzoraka ribe. Podrijetlom iz Hrvatske analizirane su vrste riba: atlantska plavorepa tuna (*Thunnus thynnus*), oslić (*Merluccius merluccius*), konzervirana sardina (*Sardina pilchardus*), zubatac (*Dentex dentex*), skuša (*Scomber scombrus*), lokarda (*Scomber japonicus*), lubin (*Dicentrarchus labrax*), orada (*Sparus aurata*), hama *Argyrosomus regius* i šaran (*Cyprinus carpio*). Podrijetlom iz drugih zemalja su bakalar (*Gadus morhua*) i pastrva (*Oncorhynchus mykiss*). Uzorci su do analize čuvani zapakirani u polietilenskim vrećicama i smrznuti na -18 °C.

Određivanje koncentracija Hg primjenom analizatora žive

Koncentracije Hg mjerene su bez pripreme, odnosno digestije na analizatoru žive AMA-254 (Advanced Mercury Analyzer, Leco, Poljska). Instrumentalni uvjeti i postavke za mjerenje Hg sažeti su u Tabeli 1.

Koncentracije Hg su određene na osnovi mokre težine i izražene u µg/kg. Uzorci su analizirani u serijama koje su sadržavale standarde za kalibracijsku krivulju i dva uzorka s dodanom koncentracijom Hg. Granica detekcije (LOD) za Hg od 0,4 µg/kg određena je kao koncentracija koja odgovara tri puta standardnim devijacijama deset negativnih uzoraka.

Kontrola kvaliteta rezultata provjerenja je analizom certificiranog referentnog

Tabela 1. Instrumentalni uvjeti za analizator žive za određivanje Hg.

Uvjeti određivanja	
Valna duljina	253,65 nm
Vrijeme sušenja	60 s
Vrijeme raspadanja	150 s
Vrijeme zadržavanja	45 s
Težina / volumen uzorka	100 mg / 100 mL
Radni raspon	0,05 - 600 ng

materijala mišića ribe kostelja (Dogfish DORM-2, National Research Council, Kanada). Rezultati određivanja pokazali su dobru točnost rezultata odnosno iskorištenje od 98,1%.

Izračun procjene tjednog unosa (EWI)

Izračun procjene dnevnog unosa (EDI) proveden je prema formuli (Copat i sur., 2013.):

EDI ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{t.m.}/\text{dan}$) =

(koncentracija Hg, $\mu\text{g}/\text{kg}$) / (količina obroka ili dnevni unos hrane, kg)

težina odrasle osobe (70 kg)

U proračunu je korištenja tjelesna težina odrasle osobe/potrošača od 70 kg. Prema studiji koju je provela Hrvatska agencija za hranu u općoj populaciji Hrvatske, prosječna dnevna konzumacija ribe je (g/dan): morska riba 6,94, slatkovodna riba 2,81 (HAA, 2014.). Za izračunavanje EDI vrijednosti za svježu ribu također je korišten obrok od 150 g svježije ribe (Di Lena i sur., 2017.).

Procjena tjednog unosa Hg izražena je kao $\mu\text{g}/\text{tjedan}/\text{t.m.}$ te izračunata prema jednadžbi: $\text{EWI} = \text{EDI} \times 7$

Izračunate EDI i EWI vrijednosti korištene su za izračunavanje doprinosa koncentracija Hg prema toksikološkoj vrijednosti, odnosno podnošljivom tjednom unosu (tolerable weekly intake level, TWI).

Statistička analiza

Statistička analiza provedena je primjenom programa STATISTICA ver. 10 (StatSoft® Inc., Tulsa, SAD). Koncentracije Hg izražavane su kao srednja vrijednost \pm standardna devijacija (SD) te minimalna i maksimalna vrijednost. Rezultati su analizirani studentovim *t*-testom kako bi utvrdile statističke razlike između pojedinih vrsta riba. Statistički značajne razlike izražavane su na nivou vjerojatnosti $\leq 0,05$.

Rezultati i rasprava

Globalna emisija Hg nastaje iz antropogenih i prirodnih izvora. Antropogeni izvori uključuju veliki broj industrijskih točkastih izvora, među kojima najvažniji doprinos imaju elektrane na fosilno gorivo, rudnici, proizvodnje neželjeznih metala, cementa i kaustične sode (Pirrone i sur., 2010.). U budućnosti se očekuju porast antropogene emisije Hg ili da će najmanje ostati u okviru sadašnjih vrijednosti, uglavnom zbog ekspanzije izgaranja ugljena u Aziji (Streets i sur., 2009.). Zbog toga se razina Hg u ribama povećava, a time i izloženost ljudske populacije metilživi jer se njena proizvodnja u oceanskim ekosustavima odvija prema dostupnoj anorganskoj Hg (Vieira i sur., 2015.). Emisija Hg u atmosferu u velikom postotku nastaje iz oceana i površinskih voda te se smatra da priobalne vode i samo Mediteransko more ima najveći

fluks Hg u atmosferu (Pirrone i sur., 2003.). Različite studije potvrdile su da ribe i morski sisavci biološki nakupljaju visoku razinu Hg i glavni su izvor izloženosti opće populacije tom metalu (ATSDR, 2003., Kim i sur., 2016.).

Koncentracije žive u ribi

Koncentracije Hg određene u 11 vrsta ribe prikazane su u Tabeli 2. Statistička analiza pokazala je raspon koncentracija od 6,3 do 276,6 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Najniža srednja vrijednost od 15,2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ utvrđena je za pastrvu, a najviša 141,3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ za tunu. Za morske ribe oslić, skušu i lokardu izmjerene su slične srednje koncentracije Hg od 31,8, 32,2 i 48,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Slične su srednje koncentracije Hg izmjerne i za oradu i hamu. Utvrđene su statistički značajne razlike u koncentracijama Hg između vrsta riba. Tuna i lubin imaju statistički značajno više razine Hg u odnosu one utvrđene za oslić, sardinu, skušu, lokardu, bakalar, pastrvu i šarana ($p < 0,05$ do $p < 0,0001$). Koncentracije Hg orade su značajno niže u odnosu na one izmjerene za tunu ($p < 0,01$), međutim značajno više prema onima za pastrvu

($p < 0,01$). Sardina i zubatac pokazale su značajno viši sadržaj Hg u odnosu na skušu i bakalar ($p < 0,01$ do $p < 0,001$). Hama ima značajno više koncentracije Hg prema razinama određenim za skušu, bakalar, lokardu, te pastrvu i šaranu ($p < 0,01$ do $p < 0,0001$).

Većina svjetskih zemalja su članice Organizacija za hranu i poljoprivredu (FAO) i koriste najveću dopuštenu količinu (NDK) Hg u ribi za ljudsku potrošnju od 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$, a iznimka je Japan gdje je ta granica 300 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Za predatorske vrste riba kao što su morski psi, sabljarkarke i tune definirana je NDK od 1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Iznad tih razina, riba se ne preporučuje za konzumaciju. U ovome istraživanju ni u jednoj vrsti riba nisu utvrđene koncentracije iznad 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$. U nedavnom istraživanju u Italiji za 20% analiziranih vrsta riba je utvrđeno prekoračenje NDK vrijednosti (Di Lena i sur., 2017.). Istraživanje je objedinjavalo više predatorskih grabežljivih vrsta s većom tjelesnom masom, a time i većom koncentracijom Hg. Utvrđeno je da su veće razine Hg u rasponu 600-1 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ određene u grabežljivim vrstama koje

Tabela 2. Koncentracije Hg ($\mu\text{g}/\text{kg}$, mokre težine) u različitim morskim ribama, lignjama te slatkovodnim ribama.

Vrsta ribe	N	Sred.vrij.	SD	Minimum	Maksimum
Tuna	7	141,3	24,3	79,6	237,1
Lubin	19	115,6	15,9	50,8	276,7
Orada	13	74,4	14,3	26,2	204,3
Sardina	6	53,7	8,19	27,1	79,9
Skuša	5	32,2	4,14	20,2	43,1
Oslić	6	31,8	17,5	6,30	118,7
Lokarda	7	48,0	7,01	22,1	74,2
Hama	4	80,9	8,69	65,8	97,8
Zubatac	4	66,7	8,46	50,9	89,8
Bakalar	4	23,2	0,58	21,8	24,2
Pastrva	5	15,2	1,36	11,3	19,7
Šaran	4	26,3	7,59	13,1	47,8

žive u kontaktu s morskim dnom, kao što su trlja i grdobina mrkulj, odnosno u pelagičkim grabežljivcima kao što su tuna ili palamida (Di Lena i sur., 2017.). Literaturni podaci pokazuju i da su veće koncentracije Hg općenito određene u većim i starijim ribama u odnosu na koncentracije u manjih i mlađih riba, posebice u različitim vrstama tuna (Storelli i sur., 2002., Kojadinović i sur., 2007.).

U ovome istraživanju srednja vrijednost Hg u tuni je 141,4 $\mu\text{g}/\text{kg}$, a raspon koncentracija od 79,6 do 237,1 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Niži raspon koncentracija 20 - 110 $\mu\text{g}/\text{kg}$ određen je u tuni iz Irana (Andayesh i sur., 2014). Više srednje vrijednosti Hg od 284,8 izmjerene su u konzerviranoj tuni iz Sjedinjenih Država (Ikem i Egiebor, 2005.). Značajno više vrijednosti Hg određene su u svježoj tuni iz Italije: 446 i 660 $\mu\text{g}/\text{kg}$ iz Mediteranskog mora (Renzi i sur., 2014., Di Bella i sur., 2015.), 801 $\mu\text{g}/\text{kg}$ iz središnjeg Tirenskog mora (Di Lena i sur., 2017.). Također više vrijednosti Hg od 470 $\mu\text{g}/\text{kg}$ izmjerene su u svježoj tuni iz Španjolske (Olmedo i sur., 2013.), odnosno od 596 $\mu\text{g}/\text{kg}$ iz Indonezije (Miklavčič i sur., 2011.) te od 570 $\mu\text{g}/\text{kg}$ iz Grčke (Milatou i sur., 2015.). U prijašnjem istraživanju u tuni podrijetlom iz Hrvatske utvrđene su značajno više koncentracije Hg od 899 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (Srebočan i sur., 2007.). Izrazito visoke koncentracije od 3 030 izmjerene su u svježoj tuni iz Mediteranskog mora (Licata i sur., 2005.). Utvrđeno je da su koncentracije Hg u svježoj tuni i konzerviranoj tuni slične i da se kreću u rasponima 70-1760, odnosno 40-1790 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (Storelli i sur., 2010.). U drugoj studiji koncentracije Hg u svježoj tuni i konzerviranoj tuni su bile značajno različite, odnosno 306 i 765 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (García i sur., 2016.).

Koncentracije Hg u lubinu kretale su se od 50,8-276,6 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Utvrđena srednja vrijednost od 115,6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ slična je onoj utvrđenoj u Italiji od 103 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (Di Lena i sur., 2017.), odnosno u

lubinu podrijetlom iz Hrvatske (137 $\mu\text{g}/\text{kg}$) u istraživanju sa slovenskog tržišta (Miklavčič i sur., 2011.). Razine Hg u oradi izmjerene su od 26,2 do 204,3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ pri čemu je srednja vrijednost 74,4 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Slična srednja vrijednost utvrđena je u oradi s Kanarskih otoka od 82 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (Hardisson i sur., 2012.) dok je raspon Hg od 57 do 140 $\mu\text{g}/\text{kg}$ određen u Italiji (Di Lena i sur., 2017.), odnosno 138 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (podrijetlo Turska) u Sloveniji (Miklavčič i sur., 2011.).

Srednja vrijednost Hg u konzerviranoj sardini iznosila je 53,7 $\mu\text{g}/\text{kg}$, a maksimalna vrijednost 79,9 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Slična vrijednost od 67,3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ izmjerena je u konzervama sardine u Italiji (Di Lena i sur., 2017.). Međutim, u konzerviranim sardinama iz Sjedinjenih Država i Italije (Sicilija) određene su više koncentracije Hg, odnosno 106,6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i 80-310 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (Ikem i Egiebor, 2005., Copat i sur., 2012.) kao i 94 $\mu\text{g}/\text{kg}$ u konzervama s tržišta iz Slovenije (Miklavčič i sur., 2011.). Niske koncentracije Hg manje od 9 $\mu\text{g}/\text{kg}$, odnosno 18,2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ određene su u sardinama iz Sjedinjenih Država i Portugala (Shiber, 2011., Vieira i sur., 2011.).

Srednja koncentracija Hg od 32,2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ izmjerena je u ovome istraživanju u skuši i niža je od 56 $\mu\text{g}/\text{kg}$, odnosno raspona 46,3-528 $\mu\text{g}/\text{kg}$ određenih u Sloveniji i Italiji (Miklavčič i sur., 2011., Di Lena i sur., 2017.). Koncentracije Hg u osliću kretale su se u rasponu 6,30-118,7 $\mu\text{g}/\text{kg}$, a srednja vrijednost je značajno niža od koncentracija 180 i 85 $\mu\text{g}/\text{kg}$ određenih u Italiji (Storelli i sur., 2005., Di Lena i sur., 2017.), odnosno od 52 $\mu\text{g}/\text{kg}$ u Sloveniji (Miklavčič i sur., 2011.).

Srednja vrijednost koncentracija Hg za zubatac je 66,7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ što je slično literaturnim vrijednostima od 77 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (podrijetlo Maroko) iz Slovenije (Miklavčič i sur., 2011.). U ribi lokardi u ovome istraživanju izmjerena je srednja vrijednost Hg od 48,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ što je niže u odnosu na prijašnje vrijednosti (60 $\mu\text{g}/$

kg) određene u Hrvatskoj (Bilandžić i sur., 2011.). Znatno više koncentracije Hg određene su u lokardi iz Mediteranskog mora od 106 µg/kg (Di Lena i sur., 2017.), odnosno podrijetlom iz Turske (138 µg/kg) u studiji provedenoj u Sloveniji (Miklavčič i sur., 2011.).

U ovome istraživanju su za bakalar te slatkovodne ribe pastrva i šaran određene najniže koncentracije Hg. Srednja koncentracija Hg u bakalaru iznosila je 23,2 µg/kg i niža je u odnosu na sadržaj u sjeveroistočnom arktičkom bakalaru od 36 µg/kg (Julshamn i sur., 2013.), odnosno bakalaru podrijetlom iz Nizozemske od 36 µg/kg sa slovenskog tržišta (Miklavčič i sur., 2011.).

Razine utvrđene za pastrvu su u rasponu od 11,3 do 19,7 µg/kg. Srednja vrijednost od 15,2 µg/kg značajno je niža od onih utvrđenih za pastrvu iz Slovenije (45 µg/kg) (Miklavčič i sur., 2011.), odnosno s Kanarskih otoka od 23 µg/kg (Hardisson i sur., 2012.) te u konzerviranoj pastrvi od 26 µg/kg iz Turske (Mol, 2011.). Koncentracije Hg u šaranu su u rasponu od 13,1 do 47,8 µg/kg te je srednja vrijednost od 26,3 µg/kg značajno niža od vrijednosti za šarana utvrđene u Bosni i Hercegovini od 83 µg/kg (Djedjibegovic i sur., 2012.).

Procjena tjednog unosa Hg

Zajednički stručni odbor Organizacije za hranu i poljoprivredu i Svjetske zdravstvene organizacije (Joint FAO/WHO Expert Committee) preporučio je privremeni podnošljivi tjedni unos (PTWI) za Hg putem hrane, kao smjernicu, odnosno vrijednost koja predstavlja dopuštenu tjednu izloženost s kumulativnim svojstvima koja proizvode štetne učinke i povećavaju učestalost raka (WHO, 2005). Tako je prvotno određena PTWI vrijednost za metilživu od 1,6 µg/kg/t.m. (WHO, 2007.), odnosno 4 µg/kg/t.m. za anorgansku Hg (WHO, 2011). Nedavno je Europska agencija za sigurnost hrane (EFSA) revidirala

vrijednost za metilživu kao podnošljivi tjedni unos (TWI) od 1,3 µg/kg/t.m./tjedan (EFSA, 2012.).

U ovome istraživanju određena je ukupna živa no obzirom na činjenicu da je metilživa u mišićnom tkivu ribe sadržana u rasponu 80-98%, za procjenu razine Hg s implikacijama na zdravlje pretpostavljeno je da je 100% Hg u ribi i ribljim proizvodima u obliku ovog spoja. Tabela 3 prikazuje izračunate EDI i EWI vrijednosti unosa Hg za analizirane vrste riba i analizu rizika izraženu kao postotak doprinosa u odnosu na TWI vrijednost od 1,3 µg/kg t.m./tjedan, što odgovara sigurnosnoj granici od 0,19 µg/kg/dan (EFSA, 2012.). Najveći doprinos utvrđenih koncentracija Hg prema TWI vrijednosti izračunat obzirom na prosječnu dnevnu količinu konzumirane ribe u Hrvatskoj je nizak te je u najvećem postotku određen za tunu od 7,54% te lubin od 6,08%. Ostale vrste ribe doprinose TWI vrijednosti u rasponu od 0,85 do 4,23%. Međutim, ako se izračun provede primjenom obroka od 150 g/dan doprinos TWI vrijednosti prelazi 100%, odnosno 163,1 i 134,6% za tunu i lubin dajući 2,12 i 1,75 µg/kg/dan. Stoga višekratna konzumacija tune i lubina u tjednu kroz duži period može imati toksikološke posljedice na konzumente. Među analiziranim ribama koncentracije Hg za hamu daju 0,17 µg/kg/dan, odnosno 91,5% doprinos TWI. Konzervirana sardina po obroku konzerve daje 0,12 µg/kg/dan te daje doprinos TWI vrijednosti od 64,6%. Nizak rizik za zdravlje konzumenata procenjen je za potrošnju slatkovodne ribe pastrve i šarana bilo kao izračun na prosječnu potrošnju po danu ili po veličini obroka.

U prijašnjim studijama koje su procjenjivale količine Hg u ribama utvrđeno je da veličina ribe ključni pokazatelj koji određuje visoku razinu bioakumulacije Hg. Unos Hg koji premašuje TWI bio je općenito povezan s potrošnjom većih primjeraka tune, dok je količina Hg ostala na sigurnoj

Tablica 3. Procjena dnevnih (EDI) i tjednih unosa (EWI) Hg i doprinos toksikološkoj vrijednosti.

Način izračuna	Vrsta ribe	EDI (µg/kg/dan)	EWI (µg/kg/tjedan)	Doprinos TWI ^d vrijednosti (%)
Prema prosječnoj količini konzumirane ribe na dan ^a	Tuna	0,014	0,098	7,54
	Lubin	0,011	0,079	6,08
	Orada	0,0073	0,051	3,92
	Sardina	0,0053	0,037	2,85
	Skuša	0,0032	0,022	1,69
	Oslić	0,0031	0,022	1,69
	Lokarda	0,0047	0,033	2,54
	Hama	0,0079	0,055	4,23
	Zubatac	0,0066	0,046	3,54
	Bakalar	0,0023	0,016	1,23
	Pastrva	0,0015	0,011	0,85
Šaran	0,0026	0,018	1,38	
Prema obroku svježe ribe ^b	Tuna	0,303	2,12	163,1
	Lubin	0,25	1,75	134,6
	Orada	0,16	1,12	86,2
	Skuša	0,069	0,48	36,9
	Oslić	0,068	0,48	36,6
	Lokarda	0,10	0,72	55,4
	Hama	0,17	1,19	91,5
	Zubatac	0,14	0,98	75,4
	Bakalar	0,049	0,34	26,2
	Pastrva	0,033	0,23	17,7
Šaran	0,056	0,39	30,0	
Prema pakiranju konzerve ^c	Sardina	0,12	0,84	64,6

^a prosječne količine konzumirane ribe dnevno (g/dan): morska 6,94, slatkovodna 2,81 (HAA, 2014.)

^b obrok svježe ribe od 150 g

^c pakiranje konzerve od 105 g

^d TWI = 1,3 µg/kg/t.m. (EFSA, 2012.)

razini s potrošnjom manjih primjeraka tune (Storelli i sur., 2010.). U ovome istraživanju procjena zdravstvenog rizika prema toksikološkoj vrijednosti TWI za slatkovodne ribe pastrvu i šarana te morske ribe oslić, sardinu, skušu, zubatac, lokardu i bakalar, ukazuje da

konzumacija ovih riba predstavlja mali rizik za ljudsko zdravlje. Međutim, budući da prehrambeni unos Hg potrošnjom tune i lubina značajniji u odnosu na druge vrste riba potrebno je redovito pratiti i procjenjivati sadržaj ovog metala u tim vrstama ribe.

Sažetak

Koncentracije žive (Hg) određene su u 9 morskih vrsta ribe i 2 slatkovodne ribe s tržišta. Raspon koncentracija Hg kretao se od 6,3 do 276,6 µg/kg. Najniža srednja vrijednost od 15,2 µg/kg utvrđena je za pastrvu, a najviša 141,3 µg/kg za tunu. Za morske ribe oslić, skuša i lokarda izmjerene su slične srednje koncentracije Hg od 31,8, 32,2 i 48,0 µg/kg. Slične srednje koncentracije Hg određene su za oradu i hamu, odnosno 74,4 i 80,9 µg/kg. Utvrđeno je da tuna i lubin imaju statistički značajno više razine Hg u odnosu na oslić, sardinu, skušu, lokardu, bakalar, pastrvu i šarana ($p < 0,05$ do $p < 0,0001$). Koncentracije Hg određene za oradu su značajno niže u odnosu na one za tunu ($p < 0,01$), međutim značajno više prema onima za pastrvu ($p < 0,01$). Sardina i zubatac pokazale su značajno viši sadržaj Hg u odnosu na skušu i bakalar ($p < 0,01$ do $p < 0,001$). Hama ima značajno više koncentracije Hg prema razinama određenim za skušu, bakalar, lokardu te pastrvu i šaranu ($p < 0,01$ do $p < 0,0001$). U ovome istraživanju ni u jednoj vrsti riba nisu utvrđene koncentracije iznad najviših dopuštenih granica za Hg od 1000 µg/kg za tunu, odnosno 500 µg/kg za ostale vrste riba. Usporedbom dobivenih koncentracija s literaturnim podatcima, može se generalno zaključiti da su dobivene koncentracije žive u analiziranim vrstama ribe niže u odnosu na one iz Mediteranskog mora. Zdravstveni rizik koji proizlazi iz utvrđenih razina Hg procenjen je usporedbom s dostupnom toksikološkom granicom podnošljivog tjevnog unosa (TWI) od 1,3 µg/kg/t.m./tjedan. Doprinos razina Hg prema TWI vrijednosti obzirom na prosječnu dnevnu količinu konzumirane ribe u Hrvatskoj je nizak i u najvećem postotku određen je za tunu od 7,54% i lubin od 6,08%. Ostale vrste ribe doprinose TWI vrijednosti u rasponu od 0,85 do 4,23%. Doprinos TWI vrijednosti primjenom obroka ribe od 150 g/dan prelazi 100%, odnosno 163,1 i 134,6% za tunu i lubin dajući 2,12 i 1,75 µg/kg/dan (sigurnosna granica je 0,19 µg/kg/dan). Stoga višekratna konzumacija tune i lubina u tjednu kroz duži period može imati toksikološke posljedice na konzumente. Prema tome, unos Hg potrošnjom tune i lubina je značajan posebice prema drugim vrstama ribe i za te vrste je potrebno redovito pratiti i procjenjivati sadržaj Hg.

Gljučne riječi: živa, morske ribe, slatkovodne ribe, toksikološka granica

Literatura

1. AFONSO, C., H. M. LOURENÇO, C. CARDOSO, N. M. BANDARRA, M. L. CARVALHO, M. CASTRO and M. L. NUNES (2013): From fish chemical characterization to the benefit-risk assessment – Part A. *Food Chem.* 137, 99-107.
2. ATSDR (Agency for Toxic Substance and Disease Registry) (2003): Toxicological Profile for Mercury U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Diseases Control, Atlanta, GA.
3. ANDAYESH, S., M. R. HADIANI, Z. MOUSAVI and S. SHOEIBI (2014): Lead, cadmium, arsenic and mercury in canned tuna fish marketed in Tehran, Iran. *Food Addit. Contam. B* 8, 93-98.
4. BILANDŽIĆ, N., M. ĐOKIĆ and M. SEDAK (2011): Metal content determination in four fish species from the Adriatic Sea. *Food Chem.* 124, 1005-1010.
5. COPAT, C., F. BELLA, M. CASTAING, R. FALLICO, S. SCIACCA and M. FERRANTE (2012): Heavy Metals Concentrations in Fish from Sicily (Mediterranean Sea) and Evaluation of Possible Health Risks to Consumers. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 88, 1, 78-83.
6. COPAT, C., G. ARENA, M. FIORE, C. LEDDA, R. FALLICO, S. SCIACCA and M. FERRANTE (2013): Heavy metals concentrations in fish and shellfish from eastern Mediterranean Sea: consumption advisories. *Food Chem. Toxicol.* 53, 33-37.
7. DI BELLA, G., A. G. POTORTI, V. LO TURCO, D. BUA, P. LICATA, N. CICERO and G. DUGO (2015): Trace elements in *Thunnus thynnus* from Mediterranean Sea and benefit-risk assessment for consumers. *Food Addit. Contam. B* 8, 175-181.
8. DI LENA, G., I. CASINI, R. CAPRONI, A. FUSARI and E. ORBAN (2017): Total mercury levels in commercial fish species from Italian fishery and aquaculture. *Food Addit. Contam. B*, 10, 118-127.
9. DJEDJIBEGOVIC, J., T. LARSEN, A. SKRBO, A. MARJANOVIĆ and M. SOBER (2012): Contents of cadmium, copper, mercury and lead in fish from the Neretva river (Bosnia and Herzegovina) determined by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). *Food Chem.* 131, 469-476.
10. EFSA (2012): European Food Safety Authority. Scientific Opinion on the risk for public health related to the presence of mercury and methylmercury in food. *EFSA J.* 12, 2985.
11. EFSA (2016): Report for 2014 on the results from the monitoring of veterinary medicinal product residues and other substances in live animals and animal product. EFSA Supporting publication EN-923.
12. European Commission (2006): Commission Regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuff. *OJ EU L364*, 5-24.
13. FAO (2014): The state of world fisheries and aquaculture. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome. 223.
14. GARCÍA, A. M., R. NÚÑEZ, J. ALONSO and M. J. MELGAR (2016): Total mercury in fresh and processed tuna marketed in Galicia (NW Spain) in

- relation to dietary exposure. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 23, 24960-24969.
15. HAA (2014): Znanstveno mišljenje o prisutnosti žive, olova, kadmija i arsena u akvatičnim organizmima na tržištu Republike Hrvatske. Hrvatska agencija za hranu, Osijek, Hrvatska.
 16. HARDISSON, A., C. RUBIO, A. GUTIERREZ, A. JALILI, C. HERNANDEZ-SANCHEZ, G. LONZANO, C. REVERT and J. HERNANDEZ-ARMAS (2012): Total mercury in aquatic fish. *Pol. J. Environ. Stud.* 21, 1203-1209.
 17. IARC (2017): International Agency for Research on Cancer (IARC). Agents Classified by the IARC Monographs, Volumes 1-118. http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/latest_classif.php. Accessed 23 March 2017
 18. IKEM, A. and N. O. EGIEBOR (2005): Assessment of trace elements in canned fishes (mackerel, tuna, salmon, sardines and herrings) *J. Food Composit. Anal.* 18, 771-787.
 19. JULSHAMN, K., A. DUINKER, B. M. NILSEN, S. FRANTZEN, A. MAAGE, S. VALDERSNES and K. NEDREAAS (2013): A baseline study of levels of mercury, arsenic, cadmium and lead in Northeast Arctic cod (*Gadus morhua*) from different parts of the Barents Sea. *Mar. Poll. Bull.* 67, 187-195.
 20. KIM, K. H., E. KABIR and S. A. JAHAN (2016): A review on the distribution of Hg in the environment and its human health impacts. *J. Hazard. Mater.* 306, 376-385.
 21. KHAWAJA, O. A., J. M. GAZIANO and L. DJOUSSE (2014): N-3 Fatty Acids for prevention of cardiovascular disease. *Curr. Atheroscler. Rep.* 16, 450.
 22. KOJADINOVIC, J., M. POTIER, M. LE CORRE, R. P. COSSON and P. BUSTAMANTE (2007): Bioaccumulation of trace elements in pelagic fish from the Western Indian Ocean. *Environ. Pollut.* 146, 548-566.
 23. KOTNIK, J., F. SPROVIERI, N. OGRINC, M. HORVAT and N. PIRRONE (2014): Mercury in the Mediterranean, part I: Spatial and temporal trends. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 21, 4063-4080.
 24. LARSEN, R., K. E. EILERTSEN and E. O. ELVEVOLL (2011): Health benefits of marine foods and ingredients. *Biotechnol. Adv.* 29, 508-518.
 25. LICATA, P., D. TROMBETTA, M. CRISTANI, C. NACCARI, D. MARTINO, M. CALŃ and F. NACCARI (2005): Heavy metals in liver and muscle of bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) caught in the Straits of Messina (Sicily Italy). *Environ. Monit. Assess.* 107, 239-248.
 26. MP (2015): Akvakultura, uzgoj u moru u 2015. Ministarstvo poljoprivrede Republike Hrvatske, Uprava za ribarstvo. <http://www.mps.hr/ribarstvo/default.aspx?id=14> Achived 16.05.2017.
 27. MOL, S. (2011): Levels of selected trace metals in canned tuna fish produced in Turkey. *J. Food Composit. Anal.* 24, 66-69.
 28. OLMEDO, P., A. PLA, A. F. HERNÁNDEZ, F. BARBIER, L. AYOUNI and F. GIL (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.
 29. RENZI, M., A. CAU, N. BIANCHI and S. E. FOCARDI (2014): Levels of mercury and polychlorobiphenyls in bluefin tuna from the Western Mediterranean Sea: a food safety issue? *J. Environ. Prot.* 5, 106-113.
 30. MIKLAVČIĆ, A., V. STIBILJ, E. HEATH, T. POLAK, J. S. TRATNIK, J. KLAVŽ, D. MAZEJ and M. HORVAT (2011): Mercury, selenium, PCBs and fatty acids in fresh and canned fish available on the Slovenian market. *Food Chem.* 124, 711-720.
 31. MILATOU, N. M. DASSENAKISB and P. MEGALOFONO (2015): Do fattening process and biological parameters affect the accumulation of metals in Atlantic bluefin tuna? *Food Addit. Contam. A* 32, 1129-1139.
 32. SREBOCAN, E., J. POMPE-GOTAL, A. PREVENDAR-CRNIC and E. OFNER (2007): Mercury concentrations in captive Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) farmed in the Adriatic Sea. *Vet. Med.* 52, 175-177.
 33. STORELLI, M. M., R. GIACOMINELLI STUFFLER and G. O. MARCOTRIGIANO (2002): Total and methylmercury residues in tuna-fish from the Mediterranean sea. *Food Add. Contam.* 19, 715-720.
 34. STORELLI, M. M., A. STORELLI, R. GIACOMINELLI-STUFFLER and G. O. MARCOTRIGIANO (2005): Mercury speciation in the muscle of two commercially important fish, hake (*Merluccius merluccius*) and striped mullet (*Mullus barbatus*) from the Mediterranean sea: estimated weekly intake. *Food Chem.* 89, 295-300.
 35. STORELLI, M. M., G. BARONE, G. CUTTONE, D. GIUNGATO and R. GAROFALO (2010): Occurrence of toxic metals (Hg, Cd and Pb) in fresh and canned tuna: public health implications. *Food Chem. Toxicol.* 48, 3167-3170.
 36. PATRICK, L. (2002): Mercury toxicity and antioxidants: Part I; role of glutathione and alpha-lipoic acid in the treatment of mercury toxicity. *Altern. Med. Rev.* 7, 456-471.
 37. PIRRONE, N., R. FERRARA, I. M. HEDGECOCK, G. KALLOS, Y. MAMANE, J. MUNTHER, J. M. PACYNA, I. PYTHAROULIS, F. SPROVIERI, A. VOUDOURI and I. WANGBERG (2003): Dynamic processes of mercury over the Mediterranean region: results from the Mediterranean Atmospheric Mercury Cycle System (MAMCS) project, dynamic processes of mercury and other trace contaminants in the marine boundary layer of european seas - ELOISE II. *Atmos. Environ.* 37, S21-S39.
 38. PIRRONE, N., S. CINNIRELLA, X. FENG, R. B. FINKELMAN, H. R. FRIEDLI, J. LEANER, R. MASON, A. B. MUKHERJEE, G. B. STRACHER, D. G. STREETS and K. TELMER (2010): Global mercury emissions to the atmosphere from anthropogenic and natural sources. *Atmos. Chem. Phys.* 10, 5951-5964.
 39. SHIBER, J. G. (2011): Arsenic, cadmium, lead and mercury in canned sardines commercially available in eastern Kentucky, USA. *Marine Poll. Bull.* 62, 66-72.

40. STREETS, D. G., Q. ZHANG and Y. WU (2009): Projections of global mercury emissions in 2050. *Environ. Sci. Technol.* 43, 2983-2988.
41. USEPA (1997): Mercury study report to congress volume V: health effects of mercury and mercury compounds. U.S. Environmental Protection Agency.
42. WHO (2005): Evaluations of certain food additives and contaminants. Sixty-fourth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO technical report series 930. Geneva, Switzerland.
43. WHO (2007): Evaluations of certain food additives and contaminants. Sixty-seventh report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO technical report series 940. Geneva, Switzerland.
44. WHO (2011): Evaluations of certain food additives and contaminants. Seventy-second report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO technical report series 959. Geneva, Switzerland.
45. VIEIRA, C., S. MORAIS, S. RAMOS, C. DELERUE-MATOS and M. B. P. OLIVEIRA (2011): Mercury, cadmium, lead and arsenic levels in three pelagic fish species from the Atlantic Ocean: Intra- and inter-specific variability and human health risks for consumption. *Food Chem. Toxicol.* 49, 923-932.
46. VIEIRA, H. C., F. MORGADO, A. M. V. M. SOARES and S. N. ABREU (2015): Fish consumption recommendations to conform to current advice in regard to mercury intake. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22, 9595-9602.

Mercury concentrations in different fish species

Nina BILANDŽIĆ, PhD, Grad. Biotechnology Eng., Scientific Advisor, Marija SEDAK, PhD, Grad. Food Technology Eng., Bruno ČALOPEK, Grad. Food Technology Eng., Maja ĐOKIĆ, Grad. Chem. Technology Eng., Božica SOLOMUN KOLANOVIĆ, Grad. Biotechnology Eng., Ivana VARENINA, PhD, Grad. Biotechnology Eng., Đurđica BOŽIĆ LUBURIĆ, Grad. Biotechnology Eng., INES VARGA, Mag. Appl. Chem., Croatian Veterinary Institute Zagreb, Croatia

Mercury (Hg) concentrations were determined in nine marine fish species and two freshwater fish species obtained from the market. Concentrations ranged from 6.3 to 276.6 µg/kg. The lowest mean value of 15.2 µg/kg was determined for trout and the highest of 141.3 µg/kg for tuna. Similar mean Hg concentrations (31.8, 32.2 and 48.0 µg/kg) were measured for the marine fishes: hake, Atlantic mackerel and mackerel. Similar mean Hg values (74.4 and 80.9 µg/kg) were determined for gilthead sea bream and salmon-bass. Hg concentrations were statistically significant higher in tuna and European sea bass compared to hake, sardine, Atlantic mackerel, mackerel, cod, trout and carp ($p < 0.05$ to $p < 0.0001$). Hg levels in gilthead sea bream were significant lower than in tuna ($p < 0.01$), but significantly higher than in trout ($p < 0.01$). Sardines and common dentex showed significantly higher Hg content in comparison to Atlantic mackerel and cod ($p < 0.01$ to $p < 0.001$). Salmon-bass had a significantly higher Hg content than Atlantic mackerel, cod, mackerel, and trout and carp ($p < 0.01$ to $p < 0.0001$). In this study, no Hg concentration exceeded the maximum permissible limits of 1000 µg/kg for tuna or 500 µg/kg for other fish species. Comparing the obtained concentrations with the literature

data, it can be concluded that the measured Hg levels in the analysed fish species are lower than those from the Mediterranean Sea. The health risk deriving from the measured Hg levels was estimated using the available toxicological limit of tolerable weekly intake (TWI) of 1.3 µg/kg/b.w/week. The contribution of the Hg levels to the TWI value using the average daily consumption of fish in Croatia is low, and the highest percentage was determined for tuna (7.54%) and European sea bass (6.08%). For other fish species, the contribution to the TWI ranged from 0.85 to 4.23%. The contribution to the TWI value based on a fish meal of 150 g/day exceeded 100%, *i.e.* 163.1% and 134.6% for tuna and European sea bass, giving 2.12 and 1.75 µg/kg/day (the safety margin is 0.19 µg/kg/day). Therefore, the frequently consumption of tuna and European sea bass per week over longer periods may have toxicological consequences on consumers. Therefore, the intake of Hg via the consumption of tuna and European sea bass is significant, especially compared to other fish species, and therefore regularly monitoring and evaluation of the Hg content in these two species is necessary.

Key words: *mercury, sea fish, freshwater fish, toxicological limit*