

Distribucija organohlorinih pesticida i polihlorovanih bifenila u dve vrste riba iz Dunava

Dinović-Stojanović Jasna¹, Spasić Jelena², Popović Aleksandar², Vranić Danijela¹, Nikčević Miroslav³, Hegediš Aleksandar³, Nikolić Dragica¹

S a d r ž a j: U ovom radu prikazana je distribucija i sadržaj organohlorinih pesticida (organochlorine pesticides, OCP) i polihlorovanih bifenila (polychlorinated biphenyls, PCB) u ribama krupatici (*Blicca bjoerkna*) i mreni (*Barbus barbus*) iz Dunava u blizini Batajnice. Ispitano je 16 organohlorinih pesticida i 7 kongenera polihlorovanih bifenila. Analizirana su sledeća jedinjenja: α -heksahlorocikloheksan (α -HCH), β -heksahlorocikloheksan (β -HCH), heksahlorobenzen (HCB), γ -heksahlorocikloheksan (γ -HCH), δ -heksahlorocikloheksan (δ -HCH), heptahlor, aldrin, cis-heptahloroepoksid (cis-HCE), trans-heptahloroepoksid (trans-HCE), γ -hlordan, α -hlordan, *p,p'*-dihlorodifenildihloroetilen (*p,p'*-DDE), dieldrin, endrin, *p,p'*-dihlorodifenildihloroetanol (*p,p'*-DDD) i *p,p'*-dihlorodifeniltrihloroetanol (*p,p'*-DDT) i PCB kongeneri označeni IUPAC brojevima 28, 52, 101, 138, 153, 180 i 118. Kvalitativna i kvantitativna ispitivanja ovih jedinjenja rađena su GC-ECD metodom. Sadržaj proteina, lipida, vlage i pepela u filetima riba određen je korišćenjem standardnih SRPS ISO metoda. Utvrđena je statistički značajna razlika ($p < 0,05$) između sadržaja organohlorinih pesticida u krupatici i mreni, kao i između sadržaja polihlorovanih bifenila u ispitanim ribama. Najveći sadržaj među ispitivanim organohlorinim pesticidima, u obe vrste ribe utvrđen je za Σ DDT (*pp'*-DDT + *pp'*-DDE + *pp'*-DDD), (13,8 ng/g ribe – krupatica, 2,6 ng/g ribe – mrena). Ukupan sadržaj PCB jedinjenja u filetima krupatice (40,8 ng/g ribe) bio je značajno veći nego u filetima mreke (7,2 ng/g ribe). Na osnovu rezultata Studentovog *t*-testa ($p = 0,05$) utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika u sadržaju masti, vlage, pepela i izračunate energetske vrednosti između fileta ispitanih riba. Četiri puta veći sadržaj masti u filetima krupatice (4,25%) u odnosu na filete mreke (1,07%) jedan je od glavnih razloga većeg sadržaja organohlorinih pesticida i polihlorovanih bifenila u krupatici nego u mreni, koje su uzete sa istog lokaliteta (Dunav, Batajnica).

Ključne reči: Krupatica, mreka, organohlorini pesticidi, polihlorovani bifenili, hemijski sastav.

Uvod

Perzistentni organski zagađivači (Persistent Organic Pollutants, POPs) su složena organska jedinjenja velike molekulske mase, koja, često, sadrže halogene elemente, uglavnom hlor. To su jedinjenja koja su rezistentna na fotolitičku, biološku i hemijsku degradaciju. Na osnovu strukture molekula, perzistentni organski zagađivači se mogu podeliti na policiklične aromatične ugljovodonike (polycyclic aromatic hydrocarbons, PAH), tj. PAH jedinjenja i halogenovane ugljovodonike, kao što su pesticidi, polihlorovani bifenili, dioksini itd. POP jedinjenja su slabo rastvorljiva u vodi, a veoma dobro u mastima, tako da se lako transportuju kroz fosfolipidne

strukture bioloških membrana, nakon čega se depone u masnom tkivu (*Naso i dr.*, 2005).

Organohlorini pesticidi i polihlorovani bifenili dospevaju u životnu sredinu kao posledica primene u poljoprivredi i industriji (*Nie i dr.*, 2012; *Meng i dr.*, 2013). Iako je njihova proizvodnja i upotreba zabranjena, ili ograničena, krajem 80-tih godina prošlog veka, mnoga istraživanja ukazuju da su i OCP i PCB jedinjenja još uvek prisutna u različitim delovima životne sredine, kao što su voda, vazduh i zemljište (*Loganathan i Kannan*, 1994; *Castro-Jimenez i dr.*, 2011; *Barakat i dr.*, 2013). Kao posledica prisustva u životnoj sredini, ova jedinjenja se mogu naći i u hrani (*Babut i dr.*, 2012; *Shoiful i dr.*, 2013). Na taj način dospevaju u lanac ishrane i mogu negativno uticati na zdravlje ljudi (*Baldassari i dr.*, 2007;

Napomena: Rezultati su proistekli iz rada na realizaciji projekata ev. br. TR 31075, koje finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

¹Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Kačanskog 13, 11000 Beograd, Republika Srbija;

²Univerzitet u Beogradu, Hemijski fakultet, Studentski trg 12-16, 11000 Beograd, Republika Srbija;

³Institut za multidisciplinarna istraživanja, Kneza Višeslava 1, 11000 Beograd, Republika Srbija

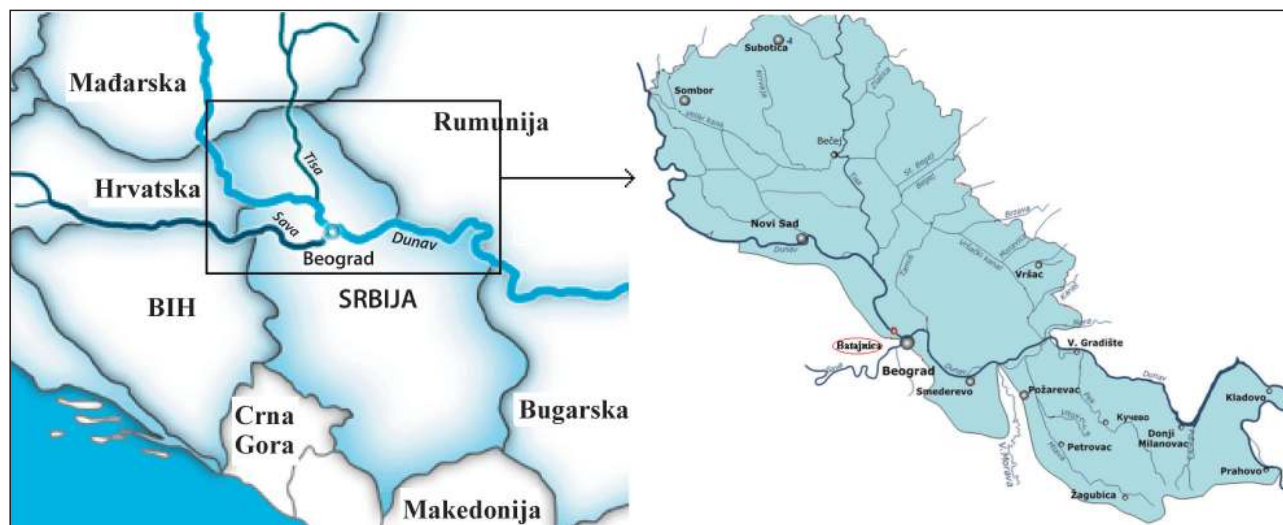
Shi i dr., 2013). Izloženost stanovništva organohlornim zagađivačima je najveća preko hrane, a oko 90% ovih zagađivača se unosi u organizam čoveka konzumiranjem prehrambenih proizvoda životinjskog porekla, pre svega ribe (Baldassari i dr., 2007; Cole i dr., 2009).

Sadržaji OCP i PCB jedinjenja u ribama mogu da zavise od više faktora, pre svega od zagađenja životne sredine ovim organohlornim jedinjenjima, zatim od vrste ribe, vremenskih prilika u pojedinim geografskim oblastima, itd. (Eqani i dr., 2013). Rezultati istraživanja Lo Turco i dr. (2007) pokazuju da kavezno gajeni brancin (*Dicentrarchus labrax*), u Mediteranskom moru u Italiji, ima veći sadržaj DDT (izražen kao suma p,p'-DDE, o,p'-DDE, p,p'-DDD, o,p'-DDT i p,p'-DDT) i PCB jedinjenja od brancina iz slobodnog izlova. Rezultati su pokazali da je sadržaj DDT jedinjenja u mišićnom tkivu i jetri kavezno gajenog brancina bio u opsegu 0,2–1,3 µg/kg (mišićno tkivo) i 9,6–48,4 µg/kg (jetra). U ribi iz slobodnog izlova sadržaji DDT jedinjenja je bio znatno manji: 0,1 µg/kg u mišićnom tkivu i 5,1–9,0 µg/kg u jetri. Ukupan sadržaj PCB jedinjenja u mišićnom tkivu i jetri bio je, takođe, veći u gajenom brancinu (5,3–59,7 µg/kg – mišićno tkivo, 74,4–267,4 µg/kg – jetra) u odnosu na istu vrstu ribe iz slobodnog izlova (1,1–1,5 µg/kg – mišićno tkivo, 63,2–109,4 µg/kg – jetra). Ove rezultate autori objašnjavaju prisustvom organohlornih zagađivača u vodama Mediterana, ali i većim sadržajem masti u kavezno gajenoj ribi.

Međutim, kada je reč o šaranu, kao vrsti ribe koja je najzastupljenija na tržištu u Srbiji, rezultati ispitivanja zagađivača iz životne sredine u šaranu iz akvakulture (Dinović i dr., 2010; Trbović i dr.,

2011; Milijašević i dr., 2012) i šaranu iz slobodnog izlova (Dinović-Stojanović i dr., neobjavljeni rezultati) su drugačiji od rezultata italijanskih ispraživača (Lo Turco i dr., 2007). Naime, sadržaj DDT (izražen kao suma p,p'-DDE, p,p'-DDD, i p,p'-DDT) u mišićnom tkivu šarana iz akvakulture (28,0 µg/kg) i mišićnom tkivu šarana iz slobodnog izlova (22,0 µg/kg) bio je približno isti, dok je sadržaj polihlorovanih bifenila u mišićnom tkivu šarana iz slobodnog izlova (53,5 µg/kg) bio veći u odnosu na sadržaj PCB jedinjenja u mišićnom tkivu gajenog šarana (30,0 µg/kg).

U mnogim istraživanjima, riba se, često, koristi kao biološki indikator zagađenja životne sredine (Babut i dr., 2012; Thomas i dr., 2012; Shi i dr., 2013). Sadržaji OCP i PCB jedinjenja u različitim vrstama ribe može da ukaže na prisustvo različitih zagađivača, ne samo u vodi, već i u sedimentu i zemljištu. Harris i dr. (1999) su pokazali da odnos koncentracija p,p'-DDE i p,p'-DDT u humanom mleku može da posluži kao indikator nedavne upotrebe p,p'-DDT u životnoj sredini. Ako je taj odnos veći od 0,5 može se zaključiti da p,p'-DDT nije bio korišćen, a njegovo prisustvo u ispitanim uzorcima mleka, pre svega, je posledica ishrane, tj. posledica kontaminiranja hrane sa reziduama organohlornih jedinjenja. Međutim, kada se govori o biološkim organizmima, kao što je riba, Eqani i dr. (2013) ukazuju da odnosi koncentracija p,p'-DDE i p,p'-DDT, kao i odnosi koncentracija p,p'-DDD i p,p'-DDT ne mogu biti siguran indikator nedavne upotrebe p,p'-DDT, jer se degradacija p,p'-DDT dešava i kao posledica metabolizma u živim organizmima (Muralidharan i dr., 2009).



Slika 1. Tok Dunava kroz Srbiju i lokacija uzimanja uzoraka ribe, Batajnica, april 2013.

Picture 1. Danube flow through Serbia and sampling location, Batajnica, april 2013.

Sa druge strane, nutritivne i zdravstvene koristi koje ljudi ostvaruju konzumiranjem ribe jedan su od razloga za povećanom potražnjom ribe na tržištu (*Burger i Gochfeld*, 2009). Sadržaj proteina u ribama kreće se u opsegu od 12 do 24% i veoma je sličan sadržaju proteina u mesu sisara. Riblje meso ima visok sadržaj vode (60 do 80%) i zanemarljivo nizak sadržaj ugljenih hidrata (*Ćirković i dr.*, 2002). Nizak sadržaj masti i relativno nizak sadržaj holesterola, kao i značajan sadržaj vitamina i esencijalnih masnih kiselina čine ribu jednom od nutritivno najvrednijih prehrambenih proizvoda.

Cilj ovog rada bio je analiza sadržaja i distribucije organskih zagađivača u ribama, i to organohlorovanih pesticida i polihlorovanih bifenila u krupatici (*Blicca bjoerkna*) i mreni (*Barbus barbus*) sa lokaliteta Dunav kod Batajnice (slika 1). Takođe je određen i poreden osnovni hemijski sastav ovih riba. Eksperimentalno dobijeni podaci statistički su obrađeni Studentovim t-testom ($p < 0,05$).

Zakonska regulativa u Srbiji

Prema važećim propisima Republike Srbije, koji su u saglasnosti sa legislativom EU, maksimalno dozvoljena količina (MDK) za p,p'-DDT i njegove derivate (p,p'-DDE i p,p'-DDD) u mesu sa sadržajem masti većim od 10% je 1 mg/kg masti, dok za meso sa sadržajem masti manjim od 10% MDK iznosi 0,1 mg/kg jestivog dela (*Sl. glasnik RS*, br. 25/2010, 28/2011 i 20/2013; *Council directive* 86/363/EEC). Navedene vrednosti se u praksi primenjuju i za ribu, s obzirom da ni u Srbiji, a ni u EU ne postoje limiti za p,p'-DDT u ribi i proizvodima od ribe. Komisija Codex Alimentarius propisuje MDK za p,p'-DDT u ribi od 5 mg/kg masti. I u slučaju ostalih organohlorovanih jedinjenja, njihove MDK vrednosti za meso primenjuju se, u praksi, i za ribu.

Pravilnik o bezbednosti hrane u Srbiji je do polovine 2012. godine propisivao MDK za PCB jedinjenja, ne precizirajući o kojim se kongenerima radi. Propisane vrednosti date su u tabeli 1.

U EU, MDK je propisana samo za dioksine, dibenzofurane i dl-PCB (dioxin like PCB, dl-PCB) i izražava se u WHO-TEQ¹⁾ (toksični ekvivalent uspostavljen od svetske zdravstvene organizacije). TEQ se bazira na relativnoj toksičnosti svakog kongenera u odnosu na najtoksičniji dioksin, 2,3,7,8-TCDD, čija je toksičnost jednaka jedinici (*Van den Berg i dr.*, 2006). Važeći Pravilnik Republike Srbije koji se odnosi na

Tabela 1. Maksimalno dozvoljene količine PCB za neke vrste namirnica u Srbiji

Table 1. The maximum residue levels of PCBs in some foods in Serbia

Vrsta namirnice/ Type of food	MDK, PCB (mg/kg)/ MRL, PCB (mg/kg)
Mleko i proizvodi od mleka (izraženo na sadržaj masti)/ Milk and dairy products (expressed in relation to fat content)	1
Meso i proizvodi od mesa goveda, ovaca, svinja, konja i živine (izraženo na sadržaj masti)/ Meat and meat products – beef, sheep, pork, horse and poultry meat products (expressed in relation to fat content)	2
Jaja (bez ljuske)	0,3
Ribe, školjke, rakovi i mekušci (izraženo na jestivi deo)/ Eggs (without egg shell) Fish, shellfish, crustaceans and molluscs (expressed in relation to edible part)	3

bezbednost hrane (*Sl. glasnik RS*, br. 25/2010, 28/2011 i 20/2013) usklađen je sa EU propisima.

U pokušajima da se definišu maksimalno dozvoljene količine za ndl-PCB više ekspertske komisije je, na nivou EU, donosilo radne verzije propisa. Poslednja, iz 2006. god. propisuje količine ndl-PCB u namirnicama na osnovu ALARA (as low as reasonably achievable) principa, a ne na osnovu toksikoloških ispitivanja (*FAO-WHO*, 1997). MDK vrednosti za ndl-PCB u nekim vrstama namirnica su date u tabeli 2.

Materijali i metode

Uzimanje uzoraka

Ribe krupatica i mrena izlovljene su iz Dunava, sa lokaliteta Batajnica (slika 1), u aprilu 2013. godine. Za potrebe ispitivanja uzorkovano je po 6 jedinki svake vrste ribe. Prosečna masa krupatice bila je 174 g, a prosečna dužina 23 cm, dok je mre-na imala prosečnu masu 320 g i prosečnu dužinu 31 cm. Uzorci su, do laboratorijskih ispitivanja, čuvani na -18°C . Riba je, pre ispitivanja, ostavljena sat

¹⁾ WHO-TEQ (World Health Organization, WHO – Toxic Equivalent, TEQ)

Tabela 2. Predložene maksimalno dozvoljene količine za ndl-PCB u EU**Table 2.** The proposed maximum residue levels for ndl-PCBs in the EU

Vrsta namirnice/ Type of foods	MDK, ndl-PCB – suma kongenera/ MRL, ndl-PCB – sum of congeners 28, 52, 101, 138, 153 i 180 (µg/kg)
Mleko i proizvodi od mleka (izraženo na sadržaj masti)/ Milk and dairy products (expressed in relation to fat content)	50
Meso (izraženo na sadržaj masti)/ Meat (expressed in relation to fat content)	50
Preživari/ruminants	50
živina i divljač/poultry and wild game	50
svinje/pigs	50
Jetra (izraženo na sadržaj masti)/liver (expressed in relation to fat content)	200
Jaja (izraženo na sadržaj masti)/ Eggs (expressed in relation to fat content)	50
Ribe i proizvodi od riba (izraženo na jestivi deo)/ Fish and fish products (expressed in relation to edible part)	100
Jegulja (izraženo na jestivi deo)/ Eel (expressed in relation to edible part)	200
Masti i ulja/Fats and oils	
Životinjska/animal	50
Biljna/plant	50
Riblja/fish	200

vremena na sobnoj temperaturi, da bi se delimično odmrzla i lakše skinula koža, odvojila glava i rep i uklonila utroba. Odvojeni fileti ribe su homogenizovani u homogenizatoru Braun CombiMax 600 (Germany).

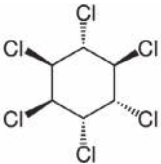
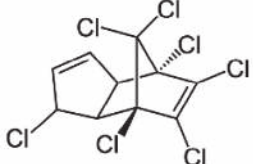
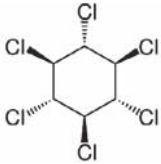
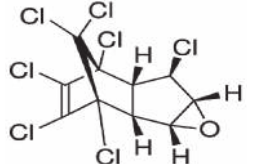
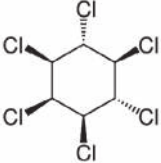
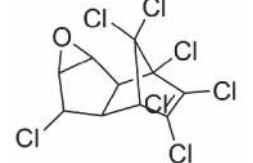
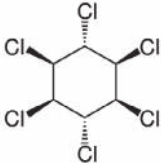
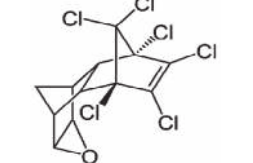
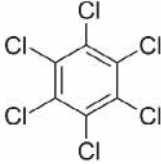
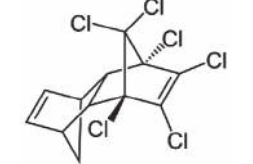
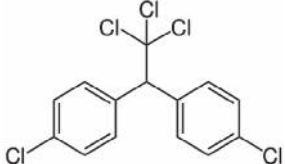
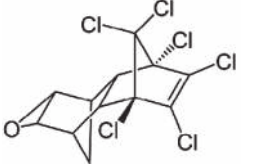
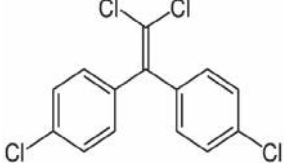
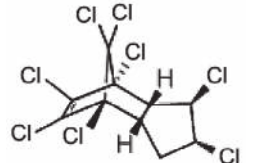
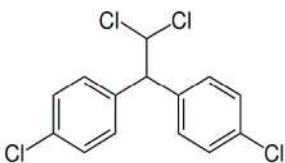
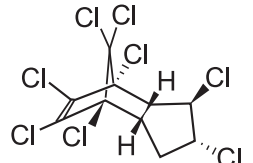
Analiza hemijskog sastava ribe

Hemijski sastav ribe određen je prema standardnim SRPS ISO metodama. Sadržaj proteina ($N \times 6,25$) određen je metodom po Kjeldahlu, na aparatu Kjeltex Auto 1030 Analyzer (Tecator, Sweden), (SPRS ISO 937/1992). Sadržaj vlage određen je sušenjem na temperaturi od $103 \pm 2^\circ\text{C}$, do konstantne mase (SPRS ISO 1442/1998). Ukupna mast određena je ekstrakcijom masti petroletrinom, korišćenjem aparature po Soxhletu, nakon kiselih hidrolize uzorka (SPRS ISO 1443/1992). Sadržaj pepela je određen merenjem mase ostatka nakon žarenja na temperaturi od $550 \pm 25^\circ\text{C}$ (SPRS ISO 936/1999).

Organohlorni pesticidi i polihlorovani bifenili

Ostaci 16 organohlornih pesticida i 7 kongenera polihlorovanih bifenila određeni su u mišićnom tkivu riba. Nazivi i strukturne formule analiziranih organohlornih jedinjenja prikazane su u tabelama 3 i 4. Za potrebe određivanja sadržaja OCP i PCB jedinjenja u ribi, ekstrahuje se mast iz homogenizovanog uzorka ribe pomoću petroletra. Rastvarač se upari na rotacionom vakuum uparivaču, a od ekstrahovane masti odmeri se 0,1 g za dalju analizu. Odmereni ekstrakt masti prečišćava se na koloni sa aluminijum-oksidiom, koji je prethodno deaktiviran vodom. Organohlorna jedinjenja se iz ekstrahovane masti, koja je nanosena na kolonu, eluiraju n-heksanom. Eluat se upari do suva, a suvi ostatak se rasvori u 1 ml n-heksana. Organohlorni pesticidi i polihlorovani bifenili su identifikovani i kvantifikovani primenom gasne hromatografije sa ^{63}Ni detektorom sa zahvatom elektrona (GC/ECD). Gasni hromatograf (GC Varian model

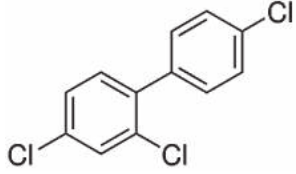
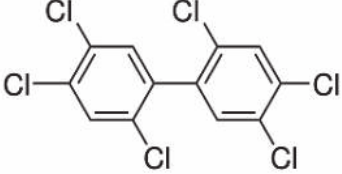
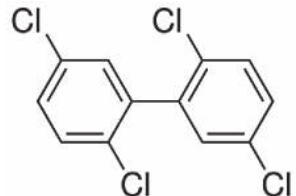
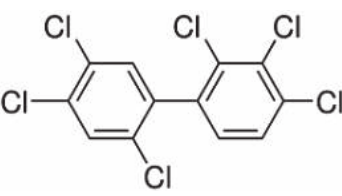
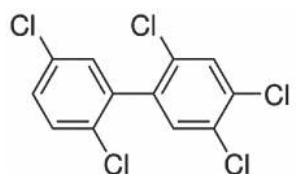
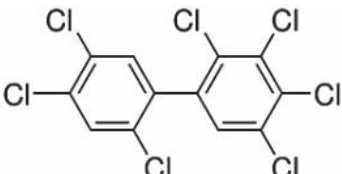
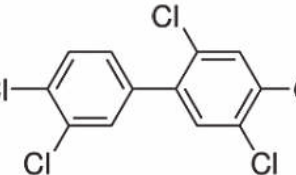
Tabela 3. Nazivi i strukturne formule analiziranih organohlorinih pesticida
Table 3. The names and structural formulas of the analyzed organochlorine pesticides

Naziv jedinjenja/ Name of the compound	Strukturna formula/ Structural formula	Naziv jedinjenja/ Name of the compound	Strukturna formula/ Structural formula
α -HCH ^a		Heptahlor/ Heptachlor	
β -HCH		Heptahlor-endo-epoksid Izomer A (trans) (trans-HCE)/ Heptachlor-endo-epoxide Isomer A (trans) (trans-HCE)	
δ -HCH		Heptahlor-egzo-epoksid Izomer B (cis) (cis-HCE)/ Heptachlor-exo-epoxide Isomer A (trans) (trans-HCE)	
γ -HCH -Lindan		Endrin/ Endrin	
^b HCB		Aldrin/ Aldrin	
^c p,p'-DDT		Diieldrin/ Diieldrin	
^d p,p'-DDE		cis-hlordan/ cis-chlordane	
^e p,p'-DDD		trans -hlordan trans-chlordane	

^a HCH – heksahlorocikloheksan; ^b HCB – heksahlorobenzen; ^c DDT – p,p'-dihlorodifeniltrihloroetan; ^d DDE – p,p'-dihlorodifenildihloroetan; ^e DDD – p,p'-dihlorodifenildihloroetan

^a HCH – hexachlorocyclohexane; ^b HCB – hexachlorobenzene ^c DDT – p p'-dichlorodiphenyltrichloroethane; ^d DDE – p p'-dichlorodiphenyldichloroethylene ^e DDD – p p'-dichlorodiphenyldichloroethane

Tabela 4. Nazivi i strukturne formule analiziranih polihlorovanih bifenila^a
Table 4. The names and structural formulas of analyzed polychlorinated biphenyls^a

Naziv jedinjenja/ Name of the compound	Strukturna formula/ Structural formula	Naziv jedinjenja/ Name of the compound	Strukturna formula/ Structural formula
PCB 28		PCB 153	
PCB 52		PCB 138	
PCB 101		PCB 180	
PCB 118			

^a PCB–polihlorovanibifenili/^a PCB – polychlorinated biphenyls:

2,4,4'–trihlorobifenil (PCB -28)/ 2,4,4'–trichlorobiphenyl (PCB -28)

2,2',5,5'–tetrahlorobifenil (PCB-52)/ 2,2',5,5'–tetrachlorobiphenyl (PCB-52)

2,2',4,5,5'–pentahlorobifenil (PCB -101)/ 2,2',4,5,5'–pentachlorobiphenyl (PCB -101)

2,3',4,4',5–pentahlorobifenil (PCB -118)/ 2,3',4,4',5–pentachlorobiphenyl (PCB -118)

2,2',4,4',5,5'–hexahlorobifenil (PCB -153)/ 2,2',4,4',5,5'–hexachlorobiphenyl (PCB -153)

2,2',3,4,4',5'–hexahlorobifenil (PCB 138)/ 2,2',3,4,4',5'–hexachlorobiphenyl (PCB 138)

2,2',3,4,4',5,5'–heptahlorobifenil (PCB -180)/ 2,2',3,4,4',5,5'–heptachlorobiphenyl (PCB -180)

CP-3380) radio je u split less modu, primenom odgovarajućeg temperaturnog programa, a korišćena je kolona Zebtron ZB-1 (30 m × 0,25 mm i.d. i 0,25 μm debljina filma). Azot visoke čistoće korišćen je kao noseći gas. Podaci su obrađeni korišćenjem Varian Star softvera.

Statistička analiza

Eksperimentalni podaci, prikazani kao srednja vrednost ± standardna devijacija, su statistički obrađeni Studentovim t-testom na nivou značajnosti od

95%. Za statističku obradu rezultata korišćen je softver Microsoft Office Excel 2007 i njegov standardni dodatak Data Analysis ToolPak.

Rezultati i diskusija

Sadržaji OCP i PCB jedinjenja u ispitanim uzorcima riba prikazani u tabeli 5, a osnovni hemijski sastav (sadržaj proteina, lipida, vlage i pepela) i izračunate energetske vrednosti za obe vrste ribe prikazano je u tabeli 6.

Tabela 5. Sadržaj organohlorinih pesticida i polihlorovanih bifenila u dve vrste ribe iz Dunava (srednja vrednost ± standardna devijacija, n = 6)**Tabela 5.** Content of OCPs and PCBs in two freshwater fish species from the Danube river (mean value ± standard deviation, n = 6)

Vrsta ribe /Fish species	Krupatica/ (Silver Bream)	Mrena/ (Barbel)
Jedinjenja / Compounds	[ng/g ribe/fish]	
α-HCH	nd*	nd
β-HCH	nd	nd
HCB	0,38 ± 0,07	nd
γ-HCH	0,38 ± 0,08	nd
δ-HCH	nd	nd
Heptahlor	nd	nd
Aldrin	nd	nd
cis-HCE	0,94 ^a ± 0,33	0,16 ^b ± 0,05
trans-HCE	nd	0,24 ± 0,04
γ-Hlordan	nd	nd
α-Hlordan	nd	nd
p,p'-DDE	9,06 ^a ± 1,74	1,72 ^b ± 0,35
Dieldrin	nd	0,28 ± 0,04
Endrin	nd	nd
p,p'-DDD	4,74 ^a ± 1,56	0,84 ^b ± 0,17
p,p'-DDT	nd	nd
ΣDDT**	13,80 ^a ± 2,59	2,57 ^b ± 0,52
ΣPCB***	40,91 ^a ± 8,44	7,16 ^b ± 0,98

* nd – nije detektovano, ispod limita detekcije (0,001 µg/g masti)/nd – not detected, below limit of detection (0,001 µg/g lipid)

** ΣDDT = Σ(p,p'-DDE + p,p'-DDD + p,p'-DDT)

***ΣPCB = Σ(28+52+101+153+138+180)

^{a,b} Vrednosti u istom redu označene različitim slovima se značajno razlikuju (P < 0,05)/Values in the same row followed by different letters are significantly different (P < 0.05)

Tabela 6. Hemijski sastav fileta krupatice i mreke (srednja vrednost ± standardna devijacija, n = 6)**Table 6.** Proximate composition of Silver Bream and Barbel fillets (mean value ± standard deviation, n = 6)

Parametri/Parameters	Krupatica/ (Silver Bream)	Mrena/ (Barbel)
Sadržaj proteina, %/Protein content, %	19,63 ± 0,17	19,38 ± 0,30
Sadržaj masti, %/Fat content, %	4,25 ^a ± 0,05	1,07 ^b ± 0,06
Sadržaj vlage, %/Moisture content, %	75,14 ^a ± 0,23	78,31 ^b ± 0,22
Sadržaj pepela, %/Ash content, %	0,92 ^a ± 0,03	1,10 ^b ± 0,02
Energetska vrednost/Energy value, kcal/100g	117,01 ^a ± 1,06	87,73 ^b ± 0,72
Energetska vrednost/Energy value, kJ/100g	491,94 ^a ± 4,45	371,49 ^b ± 3,09

n – broj uzoraka/number of samples

^{a,b} Vrednosti u istom redu označene različitim slovima se značajno razlikuju (P < 0,05)/Values in the same row followed by different letters are significantly different (P < 0.05)

Od organohlornih pesticida, cis-HCE, p,p'-DDE i p,p'-DDD identifikovani su i kvantifikovani su u filetima obe vrste riba. Njihovi sadržaji u filetima krupatice i mreke su se statistički značajno razlikovali ($P < 0,005$), (tabela 5), a veći sadržaji ovih jedinjenja određeni su u filetima krupatice. U filetima krupatice kvantifikovani su još i HCB i γ -HCH, a u filetima mreke i trans-HCE i dieldrin. Među ispitanim pesticidima u obe vrste ribe najveći sadržaj utvrđen je za p,p'-DDE. Sadržaj p,p'-DDT je bio ispod granice detekcije (0,001 mg/kg) u obe vrste riba. Ovo se može objasniti kratkim vremenom poluraspada p,p'-DDT u ribi (~8 meseci) u poređenju sa vremenom poluraspada DDE i DDD, koji iznosi oko 7 godina (Binelli i Provini, 2003). Ako se ukupni DDT (Σ DDT) posmatra kao zbir p,p'-DDT, p,p'-DDE i p,p'-DDD, evidentno je da najveći doprinos ukupnom DDT-u daje metabolit p,p'-DDE, što je u saglasnosti sa istraživanjima drugih autora (Davodi i dr., 2011). p,p'-DDE nastaje razgradnjom p,p'-DDT, veoma je perzistentno u prirodi, i, stoga, može da posluži kao mera ekspozicije p,p'-DDT u prošlosti. U obe vrste riba, α -HCH, β -HCH, δ -HCH, heptahlor, aldrin, γ -hlordan, α -hlordan i endrin nisu detektovani iznad granice detekcije (0,001 mg/kg). Ukupan sadržaj PCB jedinjenja u filetima krupatice (40,9 ng/g ribe) bio je veći nego u filetima mreke (7,2 ng/g ribe) i statistički se značajno razlikovao ($p < 0,05$).

Dobijeni rezultati ispitanih organohlornih zagađivača u uzorcima ribe iz Dunava, Batajnica (tabela 5), u pogledu sadržaja Σ DDT i Σ PCB, mogu se porediti sa sadržajem ovih jedinjenja u istim vrstama riba iz različitih evropskih i svetskih vodenih sredina. Na primer, u mreki koja je uzorkovana u najvećoj i najpoznatijoj močvari u Iranu utvrđen je prosečan sadržaj Σ DDT od 340 ng/g masti (Davodi i dr., 2011), dok je u našem istraživanju ta vrednost za Σ DDT iznosila 240 ng/g masti. Međutim, sadržaj sume 7 kongenera PCB u mreki u našem istraživanju (~670 ng/g masti) je znatno veći od rezultata Davodi-a i dr. (2011), (Σ_7 PCB = ~215 ng/g masti). Ako dobijene rezultate za mreku (Σ DDT = 2,6 ng/g ribe; Σ_7 PCB = 7,2 ng/g ribe), (tabela 1) poredimo sa rezultatima grčkih istraživača, koji su ispitali mreku iz reke Nestos (Σ DDT = 0,47-0,25 ng/g ribe; Σ_{36} PCB = 3,6-6,8 ng/g ribe), (Christoforidis i dr., 2008) može se zaključiti da je Dunav u Srbiji zagađeniji organohlornim zagađivačima u poređenju sa rekama Nestos u Grčkoj. Međutim, ako rezultate iz ove studije za sadržaj PCB u mreki (Σ_7 PCB = 7,2 ng/g ribe) poredimo sa sadržajem PCB u mreki iz vodotokova na severu Luksemburga (Σ_7 PCB = 14,8 ng/g ribe), (Boscher i dr., 2010), može se zaključiti da je sadržaj polihlorovanih bifenila u mreki iz Dunava kod Batajnice dva puta manji.

Prema dostupnoj literaturi koji se odnose na sadržaj organohlornih zagađivača u krupatici iz rečnih vodotokova su veoma oskudni. U krupatici, koja je, takođe, uzimana iz Dunava, ali nizvodno od Pančeva, utvrđeni sadržaj polihlorovanih bifenila (Σ_7 PCB = 36,8-40,4 ng/g ribe), (Janković i dr., 2011), bio je sličan rezultatima našeg istraživanja (Σ_7 PCB = 40,9 ng/g ribe).

Podaci koji se odnose na osnovni hemijski sastav, kako fileta mreke tako i fileta krupatice, su dostupniji u literaturi i značajni su za poređenje sa dobijenim rezultatima u ovoj studiji (tabela 6). Na osnovu rezultata Studentovog t-testa ($P < 0,05$) utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika u sadržaju masti, vlage, pepela i izračunate energetske vrednosti između fileta krupatice i mreke. Jedino u slučaju sadržaja proteina nije utvrđena statistički značajna razlika između fileta ispitanih vrsta riba. Sadržaj masti bio je znatno veći (4,25%) u filetima krupatice u odnosu na sadržaj masti u filetima mreke (1,07%). Rezultati istraživanja Clement-a i dr. (2012), koji su proučavali ribu iz reke Rone u Francuskoj, takođe, pokazuju da je sadržaj masti u filetima krupatice (16,3%-27,8%) bio veći od sadržaja masti u filetima mreke (4,8%-19,9%). Međutim, u poređenju sa rezultatima ovog istraživanja vidi se da je sadržaj masti u istoj vrsti ribe iz reke Rone znatno veći u odnosu na ribu iz Dunava u blizini Batajnice.

Ekotosikološke studije koje koriste ribu kao bioindikator ističu da biološki faktori, kao što su vrsta ribe, starost, veličina, njihovo fiziološko stanje i dr., mogu uticati na bioakumulaciju organskih zagađivača (Fisk i dr., 2001; Borga i dr., 2004). Položaj ribe u lancu ishrane i sadržaj lipida predstavljaju drugi važan faktor u akumulaciji organohlornih jedinjenja (Roche i dr., 2000; Zhou i Wong, 2004). Rezultati ovog istraživanja mogu se objasniti razlikama u hemijskom sastavu ove dve vrste riba, pre svega u sadržaju ukupnih lipida koji je četiri puta veći u filetima krupatice nego u filetima mreke. Shodno tome, veći sadržaj analiziranih lipofilnih jedinjenja je dokazan u krupatici nego u mreki, izuzev za trans-HCE i dieldrin koji su detektovani samo u mreki.

Zaključak

Rezultati ovog istraživanja su pokazali da postoje statistički značajne razlike (na nivou značajnosti od 95%) između sadržaja organohlornih pesticida i polihlorovanih bifenila u krupatici i mreki iz Dunava. Utvrđeno je da je sadržaj ispitanih organohlornih jedinjenja u krupatici veći nego u mreki, sem za trans-HCE i dieldrin. Statistički značajna razlika utvrđena je između većine parametara osnovnog

hemijskog sastava ispitanih riba (mast, vlaga, pepeo, energetska vrednost), izuzev za sadržaj proteina.

Prisustvo organohlorinih pesticida i polihlorovanih bifenila u ribama iz Dunava (Batajnica, Srbija) ukazuje na potrebu za kontinuiranim praćenjem organohlorinih, ali i nekih drugih zagađivača u

različitim vrstama ribe. Preventivna i efikasna zaštita ekosistema Dunava je neophodna u cilju očuvanja životne sredine, koja može obezbediti direktne i indirektne ekonomske, socijalne i ekološke pogodnosti u čitavom slivu Dunava, odnosno u svih devet zemalja kroz koje Dunav protiče.

Literatura

- Babut M., Mathieu A., Pradelle S., Marchand P., Le Bizet B., Perceval O., 2012.** Nationwide PCB congener pattern analysis in freshwater fish samples in France. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems*, 407, Article Number: 07, DOI: 10.1051/kmae/2013033.
- Baldassari L. T., Abate V., Alivernini S., Battistelli C. L., Carasi S., Casella M., Iacovella N., Iamiceli A. L., Indelicato A., Scarcella C., La Rocca C., 2007.** A study on PCB, PCDD/PCDF industrial contamination in a mixed urban-agricultural area significantly affecting the food chain and the human exposure. Part I: Soil and feed. *Chemosphere*, 67, 1822–1830.
- Barakat A. O., Khairy M., Aukaily I., 2013.** Persistent organochlorine pesticide and PCB residues in surface sediments of Lake Qarun, a protected area of Egypt. *Chemosphere*, 90, 9, 2467–2476.
- Binelli A., Provini A., 2003.** DDT is still a problem in developed countries: the heavy pollution of Lake Maggiore. *Chemosphere*, 52, 717–723.
- Borga K., Fisk A. T., Hoekstra P. F., Muir D. C. G., 2004.** Biological and chemical factors of importance in the bioaccumulation and trophic transfer of persistent organochlorine contaminants in arctic marine food webs. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 23, 2367–2385.
- Boscher A., Gobert S., Guignard C., Ziebel J., L’Hoste L., Gutleb A. C., Cauchie H. M., 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.
- Burger J., Gochfeld M., 2009.** Perceptions of the risks and benefits of fish consumption: Individual choices to reduce risk and increase health benefits. *Environmental Research*, 109, 343–349.
- Castro-Jimenez J., Mariani G., Vives I., Skejo H., Umlauf G., Zaldivar J. M., Dueri S., Messiaen G., Laugier T., 2011.** Atmospheric concentrations, occurrence and deposition of persistent organic pollutants (POPs) in a Mediterranean coastal site (Etang de Thau, France). *Environmental Pollution*, 159, 7, 1948–1956.
- Christoforidis A., Stamatis N., Schmieder K., Tsachalidis E., 2008.** Organochlorine and mercury contamination in fish tissues from the River Nestos, Greece. *Chemosphere*, 70, 694–702.
- Clement R. E., Reiner J. J., Bhavsar S. P., 2012.** Organohalogen contaminants of emerging concern in Great Lakes fish: a review. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 404, 2639–2658.
- Cole D. W., Cole R., Gaydos S. J., Gray J., Hyland G., Jacques M. L., Powell-Dunford N., Sawhney C., Au W.W., 2009.** Aquaculture: Environmental, toxicological, and health issues. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 212, 369–377.
- Council directive 86/363/EEC.** Council directive on the fixing of maximum levels for pesticide residues in and on foodstuffs of animal origin. *Official journal of European Union*, L 221, 7.8.1986, 43.
- Ćirković M., Jovanović B., Maletin S., 2002.** Ribarstvo–biologija–tehnologija–ekologija–ekonomija. Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu.
- Davodi M., Esmaili-Sari A., Bahramifarr N., 2011.** Concentration of polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in some edible fish species from the Shadegan Marshes (Iran). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74, 294–300.
- Đinović J., Trbović D., Vranić D., Janković S., Spirić D., Radičević T., Spirić A., 2010.** Stanje ekosistema, kvaliteta i bezbednost mesa šarana (*Cyprinus carpio*) iz akvakulture u toku uzgoja. *Tehnologija mesa*, 51, 2, 124–132.
- Eqani S. A. M. A. S., Malik R. N., Cincinelli A., Zhang G., Mohammad A., Qadir A., Rashid A., Bokhari H., Jones K. C., Katsoyiannis A., 2013.** Uptake of organochlorine pesticides (OCPs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) by river water fish: The case of River Chenab. *Science of the Total Environment*, 450–451, 83–91.
- FAO–WHO, 1997.** Codex Maximum Residue Limits for Pesticides. FAO, Rome.
- Fisk A. T., Hobson K. A., Norstrom R. J., 2001.** Influence of chemical and biological factors on trophic transfer of persistent organic pollutants in the northwater polynya marine food web. *Environmental Science and Technology*, 35, 732–738.
- Harris C. A., O’Hagen S., Merson G. H. J., 1999.** Organochlorine pesticide residues and polychlorinated biphenyls in human milk in the United Kingdom 1997–1998. *Human & Experimental Toxicology*, 18, 602–606.
- Jankovic S., Curcic M., Radicevic T., Stefanovic S., Lenhardt M., Durgo K., Antonijevic B., 2011.** Non-dioxin-like PCBs in ten different fish species from the Danube river in Serbia. *Environmental Monitoring and Assessment*, 181, 153–163.
- Lo Turco V., Di Bella G., La Pera L., Conte F., Macri B., Mo Dugo G., 2007.** Organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyl residues in reared and wild *Dicentrarchus labrax* from the Mediterranean Sea (Sicily, Italy). *Environmental Monitoring and Assessment*, 132, 411–417.
- Loganathan B. G., Kannan K., 1994.** Global organochlorine contamination trends: An overview. *Ambio*, 23, 187–191.
- Meng J., Wang T., Wang P., Giesy, J. P., Lu Y. L., 2013.** Perfluorinated compounds and organochlorine pesticides in soils around Huaihe River: a heavily contaminated watershed in Central China. *Environmental Science and Pollution Research*, 20, 6, 3965–3974.

- Milijašević M., Babić J., Baltić M. Ž., Đorđević V., Spirić D., Janković S., Spirić A., 2012. Parametri higijenske ispravnosti četiri vrste riba koje su najzastupljenije na tržištu Srbije. Tehnologija mesa, 53,2, 127–133.
- Muralidharan S., Dhananjayan V., Jayanthi P., 2009. Organochlorine pesticides in commercial marine fishes of Coimbatore, India and their suitability for human consumption. Environmental Research, 109, 15–21.
- Naso B., Perrone D., Ferrante M.C., Bilancione M., Lucisano A., 2005. Persistent organic pollutants in edible marine species from the Gulf of Naples, Southern Italy. Science of the Total Environment, 343, 83–95.
- Nie Z., Liu G., Liu W., Zhang B., Zheng M., 2012. Characterization and quantification of unintentional POP emissions from primary and secondary copper metallurgical processes in China, Atmospheric Environment, 57, 109–115.
- Roche H., Buet A., Jonot O., Ramade F., 2000. Organochlorine residues in European eel (*Anguilla anguilla*), crucian carp (*Carassius carassius*) and catfish (*Ictalurus nebulosus*) from Vaccarès lagoon (French National Nature Reserve of Camargue)/effects on some physiological parameters. Aquatic Toxicology, 48, 443–459.
- Shi J. C., Li Y., Liang H., Zheng G. J., Wu Y., Lui W., 2013. OCPs and PCBs in Marine Edible Fish and Human Health Risk Assessment in the Eastern Guangdong, China. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 64, 4, 632–642.
- Shoiful A., Fujita H., Watanabe I., Honda K., 2013. Concentrations of organochlorine pesticides (OCPs) residues in foodstuffs collected from traditional markets in Indonesia. Chemosphere, 90, 1742–1750.
- Sl. glasnik RS, br. 25/2010, 28/2011 i 20/2013. Pravilnik o maksimalno dozvoljenim količinama ostataka sredstava za zaštitu bilja u hrani i hrani za životinje i o hrani i hrani za životinje za koju se utvrđuju maksimalno dozvoljene količine ostataka sredstava za zaštitu bilja.
- SRPS ISO 1442/1998. Meso i proizvodi od mesa – Određivanje sadržaja vlage (referentna metoda).
- SRPS ISO 1443/1992. Meso i proizvodi od mesa – Određivanje sadržaja ukupne masti.
- SRPS ISO 936/1999. Meso i proizvodi od mesa – Određivanje ukupnog pepela.
- SRPS ISO 937/1992. Meso i proizvodi od mesa – Određivanje sadržaja azota (referentna metoda).
- Thomas M., Lazartigues A., Banas D., Brun-Bellut J., Feidt C., 2012. Organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in sediments and fish from freshwater cultured fish ponds in different agricultural contexts in north-eastern France. Ecotoxicology and Environmental Safety, 77, 35–44.
- Trbović D., Janković S., Čirković M., Nikolić D., Matekalo-Sverak V., Đorđević V., Spirić A., 2011. Bezbednost i kvalitet mesa slatkovodnih riba u Srbiji. Tehnologija mesa, 52, 2, 276–282.
- Van den Berg M., Birnbaum L. S., Denison M., 2006. The 2005 World Health Organization reevaluation of human and mammalian toxic equivalency factors for dioxins and dioxin-like compounds. Toxicological Science, 93, 223–241.
- Zhou H. Y., Wong M. H., 2004. Screening of organochlorines in freshwater fish collected from the Pearl River delta, People's Republic of China. Archives of Environment Contamination and Toxicology, 46, 106–113.

Distribution of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in two species of fish from Danube

Dinović-Stojanović Jasna, Spasić Jelena, Popović Aleksandar, Vranić Danijela, Nikčević Miroslav, Hegediš Aleksandar, Nikolić Dragica

S u m m a r y: The distribution and contents of organochlorine pesticides (OCPs) and congeners of polychlorinated biphenyls (PCBs) were analyzed in Bream (*Blicca bjoerkna*) and Barbel (*Barbus barbus*) from the Danube River, near Batajnica. The analysed compounds were 16 OCPs (α -Hexachlorocyclohexane (α -HCH), β -Hexachlorocyclohexane (β -HCH), Hexachlorobenzene (HCB), γ -Hexachlorocyclohexane (γ -HCH), δ -Hexachlorocyclohexane (δ -HCH), Heptachlor, Aldrin, *cis*-Heptachloroepoxide (*cis*-HCE), *trans*-Heptachloroepoxide (*trans*-HCE), γ -Chlordane, *p,p'*-Dichlorodiphenyldichloroethylene (*p,p'*-DDE), α -Chlordane, Dieldrin, Endrin, *p,p'*-Dichlorodiphenyldichloroethane (*p,p'*-DDD), *p,p'*-Dichlorodiphenyltri-chloroethane (*p,p'*-DDT)) and 7 PCB congeners (IUPAC numbers 28, 52, 101, 138, 153, 180, 118). Determination and quantification of OCPs and PCBs were performed by a GC-ECD method. The proximate composition of fish filets was determined by applying standard SRPS ISO methods. The statistically significant difference ($p < 0.05$) was found between the OCPs content in Bream and Barbel, as well as between PCBs content in the analysed fish filets. Among all analysed pesticides, both fish contained the highest amounts of Σ DDT (expressed as sum of *p,p'*-DDT + *p,p'*-DDE + *p,p'*-DDD), (13.8 ng/g fish – Bream, 2.6 ng/g fish – Barbel). The sum of PCB congeners in Bream filets (40.8 ng/g fish) was significantly higher than in Barbel filets (7.2 ng/g fish). Results of Student's *t*-test ($p = 0.05$) showed the differences in the content of lipids, moisture, ash and calculated energy value between the analysed fish filets. Four times higher fat content in Bream (4.25%) than in Barbel (1.07%) is one of the main reasons for higher content of OCPs and PCBs in Bream compared to Barbel, which were taken from the same location (The Danube River, Batajnica).

Key words: bream, barbel, organochlorine pesticides, polychlorinated biphenyls, proximate composition.

Rad primljen: 30.08.2013.

Rad prihvaćen: 2.09.2013.