

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Antonija ZAJC

**DOLOČANJE ŽIVEGA SREBRA V RAZLIČNIH
VRSTAH SVEŽIH IN KONZERVIRANIH RIB NA
SLOVENSKEM TRŽIŠČU**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

Ljubljana, 2006

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Antonija ZAJC

**DOLOČANJE ŽIVEGA SREBRA V RAZLIČNIH VRSTAH SVEŽIH
IN KONZERVIRANIH RIB NA SLOVENSKEM TRŽIŠČU**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

**DETERMINATION OF MERCURY IN DIFFERENT SPECIES OF
FRESH AND TINNED FISH OF THE SLOVENIAN MARKET**

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2006

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študija živilske tehnologije. Opravljeno je bilo na Inštitutu Jožef Stefan na Odseku za znanosti o okolju v Ljubljani, kjer sem ugotavljala vsebnost živega srebra v različnih vrstah svežih in konzerviranih rib na slovenskem tržišču.

Študijska komisija Oddelka za živilstvo je za mentorico diplomskega dela imenovala prof. dr. Terezijo Golob, za somentorico dr. Mileno Horvat, za recenzenta prof. dr. Božidarja Žlendera.

Mentorica: prof. dr. Terezija Golob

Somentorica: dr. Milena Horvat

Recenzent: prof. dr. Božidar Žlender

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član:

Član:

Datum zagovora:

Naloga je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Antonija Zajc

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Dn
DK UDK 637.56 + 664.95: 546.49 (043) = 863
KG ribe/ribji izdelki/živo srebro/slovensko tržišče/prehrambene navade/vnos živega srebra
AV ZAJC, Antonija
SA GOLOB, Terezija (mentorica)/HORVAT, Milena (somentorica)/ŽLENDER, Božidar (recenzent)
KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo
LI 2006
IN DOLOČANJE ŽIVEGA SREBRA V RAZLIČNIH VRSTAH SVEŽIH IN KONZERVIRANIH RIB NA SLOVENSKEM TRŽIŠČU
TD Diplomsko delo (univerzitetni študij)
OP X, 84 str., 27 pregl., 14 sl., 52 vir.
IJ sl
JI sl/en
AI Živo srebro je neesencialen element, ki je v povišanih koncentracijah strupen za organizme. Njegov primarni vir je morska hrana, zato je pomembno, da spremljamo njegovo vsebnost v ribah in ribjih izdelkih. Namen našega dela je bil uporabiti enostaven in hiter postopek za določanje celotne vsebnosti živega srebra v ribah in ribjih izdelkih z metodo atomske absorpcijske spektrometrije hladnih par (AAS-HP). Na podlagi dobljenih rezultatov pa oceniti tedenski vnos živega srebra z ribami in ribjimi izdelki. Za razkroj vzorcev smo uporabili razkrojno mešanico HNO_3 - H_2SO_4 - HClO_4 . Pravilnost metode smo preverjali z uporabo ustreznih standardnih referenčnih materialov. Analiza vzorcev je bila preprosta, hitra in z majhno porabo kemikalij. Določili smo vsebnost živega srebra v vzorcih svežih in konzerviranih rib, kupljenih na slovenskem tržišču. Vrednosti za vsebnost živega srebra v svežih in konzerviranih ribah so primerljive s podatki iz literature. Vsebnosti živega srebra v svežih ribah so bile v območju od 5,6 - 186,2 μg / porcijo (160g), v konzerviranih ribah pa v območju od 0,20 do 93,36 μg / konzervo. Po novih priporočilih FAO/WHO iz leta 2003, ki predpisuje 1,6 μg Hg/ kg telesne teže/ teden, kar 96% različnih vrst svežih rib ustreza predpisu. Ne ustreza le mečarica s svojimi 1,94 μg / teden. Med konzerviranimi ribami kar 95% izdelkov ustreza priporočilom Environmental Protection Agency (EPA). Med njimi pa je nekaj takšnih izdelkov, s katerimi tudi trikrat presežemo dovoljeno količino živega srebra na teden. Po priporočilih FAO/WHO pa kar vsi ribji izdelki ustrezajo priporočilom o tedenskem vnosu živega srebra.

KEY WORDS DOCUMENTATION

- DN Dn
DC UDC 637.56 + 664.95: 546.49 (043) = 863
CX fish/fish products/mercury/Slovenian market/eating habits/mercury intake
AU ZAJC, Antonija
AA GOLOB, Terezija (supervisor)/HORVAT, Milena (co-adviser)/ŽLENDER, Božidar (reviewer)
PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Food Science and Technology
PY 2006
TI DETERMINATION OF MERCURY IN DIFFERENT SPECIES OF FRESH AND TINNED FISH OF THE SLOVENIAN MARKET
DT Graduation Thesis (University studies)
NO X, 84 p., 27 tab., 14 fig., 52 ref.
LA sl
AL sl/en
AB Mercury is a non-essential element toxic for organisms in its increased concentrations. Sea food is a primary source of mercury so it is significant for us to detect its contents in fish and fish products. The purpose of this work was to use a simple and rapid procedure for determination of total mercury content in fish and fish products by cold vapour atomic absorption spectrometry (CV-AAS). On the basis of our results we estimated weekly mercury content by fish and fish products. For all samples a digestion mixture of HNO₃ - H₂SO₄ - HClO₄ was used. The accuracy of the method was tested by the use of adequate standard reference materials. The analysis were simple, not time-consuming, relatively inexpensive and with a low consumption of chemicals. We determined the mercury content in fresh and tinned fish of the Slovenian market. Mercury contents in fresh and tinned fish were in the same range as literature data. Mercury content found in fresh fish covered a wide range, from 5,6 - 186,2µg/ portion (160g), and in fish products it ranged from 0,20 to 93,36 µg/ tin. By the new recommendations of the FAO/WHO from 2003 that advises 1,6 µg Hg/ kg of body weight/ week, a 96% of different fresh fish is suitable. Only swordfish steps out with its 1,94 µg/ week. Among the fish products 95% of them is suitable by the recommendations of the Environmental Protection Agency (EPA). With some of fish products we also three times exceed the limit of tolerable weekly intake. By the recommendations of the FAO/WHO all the fish products are suitable to the provisional tolerable weekly intake.

KAZALO VSEBINE

	stran
Ključna dokumentacijska informacija	III
Key words documentation	
IV	
Kazalo vsebine	
V	
Kazalo preglednic	VII
Kazalo slik	IX
Okrajšave in simboli	X
1 UVOD	1
1.1 NAMEN DELA	1
2 PREGLED OBJAV	2
2.1 SPLOŠNE LASTNOSTI ŽIVEGA SREBRA	2
2.2 KROŽENJE ŽIVEGA SREBRA V OKOLJU	3
2.3 BIOAKUMULACIJA ŽIVEGA SREBRA	6
2.3.1 Bioakumulacija	6
2.3.2 Biomagnifikacija	7
2.4 TOKSIČNOST ŽIVEGA SREBRA	7
2.4.1 Referenčne vrednosti za vnos živega srebra v organizem	10
2.5 ŽIVO SREBRO V RIBAH	11
2.5.1 Živo srebro v tuni	13
2.5.2 Živo srebro v Mediteranu	15
2.6 RIBE NA SLOVENSKEM TRŽIŠČU	16
2.7 RIBE V PREHRANI LJUDI	18
2.7.1 Večkrat nenasičene maščobne kisline (PUFA) v ribah	18
2.7.2 Selen v ribah	21
3. MATERIALI IN METODE	23

3.1 MATERIALI	23
3.1.1 Vzorčni material	23
3.1.1.1 Ribe	23
3.1.1.2 Ribji izdelki	25
3.1.1.3 Certificirani referenčni material (CRM)	30
3.1.2 Reagenti	31
3.1.3 Aparature	31
3.1.4 Nevarnost kontaminacije vzorcev	31
3.2 METODE DELA	32
3.2.1 Priprava vzorcev	32
3.2.2 Razkroj vzorcev	32
3.2.3 Določitev živega srebra z atomsko absorpcijsko spektrofotometrijo hladnih par (AAS-HP)	33
3.2.4 Pravilnost in natančnost postopka	34
4 REZULTATI	37
4.1 VSEBNOST ŽIVEGA SREBRA V SVEŽIH RIBAH	37
4.1.1 Primerjava vsebnosti živega srebra v svežih ribah iz istega ribolovnega območja	37
4.1.2 Vsebnost živega srebra v svežih ribah z različnimi načini prehranjevanja ...	41
4.1.3 Vsebnost živega srebra v svežih gojenih in ulovljenih ribah	45
4.2 VSEBNOST ŽIVEGA SREBRA V RIBJIH IZDELKIH	47
4.2.1 Vsebnost živega srebra v konzerviranih ribah z različnimi načini prehranjevanja	47
4.2.2 Vsebnost živega srebra v ribjih izdelkih različnih lotov istega proizvajalca ..51	
4.2.3 Vsebnost živega srebra v ribjih izdelkih enake obdelave, a različnih proizvajalcev	54
4.2.4 Vsebnost živega srebra v deklariranih in nedeklariranih ribjih izdelkih58	
4.3 PRIMERJAVA REZULTATOV Z LITERATURO	58
4.4 PRIMERJAVA VSEBNOSTI ŽIVEGA SREBRA Z ZAKONSKO PREDPISANIMI VREDNOSTMI	60
4.5 OCENA VNOSA ŽIVEGA SREBRA Z RIBAMI IN RIBJIMI IZDELKI	61
5 SKLEPI	76
6 POVZETEK	78
7 VIRI	80

KAZALO PREGLEDNIC

	stran
Preglednica 1. Povzetek škodljivih učinkov živega srebra na zdravje ljudi (IPCS/WHO, 1991)	8
Preglednica 2. Varne doze Hg v ribah za ženske z različno težo, ki jedo ribe redno (Figdor, 2004)	9
Preglednica 3. Vsebnosti Hg v prevladujočih komercialnih ribah in školjkah (Figdor, 2004)	11
Preglednica 4. Celokupne vsebnosti Hg v mišicah različnih vrst tune po svetu (Andersen in Depledge, 1996)	13
Preglednica 5. Vsebnost živega srebra v nekaterih vrstah rib (Mahaffey in sod., 2004)	14
Preglednica 6. Pogostost uživanja rib in ostalega mesa, glede na spol in starost v % (Koch, 1997).	15
Preglednica 7. Ulov rib v svetu, Evropski uniji in Sloveniji (FAOSTAT, 2005)	15
Preglednica 8. Dnevni prehranski vnos živega srebra v μg / dan, v nekaterih državah (Pirrone, 2001)	16
Preglednica 9. Skupine VNMK in nekaj primerov MK (Marin, 2005).	17
Preglednica 10. Vsebnosti EPA (20:5 ω -3) in DHA (22:6 ω -3) v nekaterih vrstah rib (Mahaffey, 2004)	18
Preglednica 11. Skupne vsebnosti Hg in Se v μg / g, najdene v različnih vzorcih rib (Cabanero in sod., 2004)	21
Preglednica 12. Vsi odvzeti vzorci svežih rib, v katerih smo določili vsebnost živega srebra	22
Preglednica 13. Seznam vzorcev ribjih izdelkov, kupljenih marca 2005 v Ljubljani	24
Preglednica 14. Seznam vzorcev ribjih izdelkov, kupljenih aprila 2005 v Ljubljani	26
Preglednica 15. Uporabljeni referenčni materiali in njegovi certificirani vrednosti	28

Preglednica 16. Vsebnost živega srebra v svežih ribah iz istega ribolovnega območja, kupljenih na ljubljanski tržnici v obdobju od aprila do junija 2005	35
Preglednica 17. Vsebnost živega srebra v svežih ribah glede na različen način prehranjevanja	38
Preglednica 18. Vsebnost živega srebra v svežih gojenih in ulovljenih ribah	41
Preglednica 19. Vsebnost živega srebra v konzerviranih ribah glede na različen način prehranjevanja	43
Preglednica 20. Vsebnost živega srebra v ribjih izdelkih istih proizvajalcev, a različnih lotov	46
Preglednica 21. Vsebnost živega srebra v enakih ribjih izdelkih različnih proizvajalcev	50
Preglednica 22. Vsebnost živega srebra v ribah in ribjih izdelkih iz naše raziskave in podatki iz literature	53
Preglednica 23. Delež vnosa živega srebra v 100g ribe glede na priporočeni dnevni vnos 0,1µg/kg tel. teže/dan in 0,7 µg/kg tel. teže/teden (US EPA)	55
Preglednica 24. Vnos živega srebra v µg/ teden z jedilno porcijo (160 g) rib	59
Preglednica 25. Delež vnosa Hg (v %) z ribjo konzervo glede na dovoljeni dnevni vnos 0,1µg in tedenski vnos 0,7µg po US EPA 2001	61
Preglednica 26. Vnos Hg v µg/ teden z ribjim izdelkom (ena porcija), glede na PTWI priporočila; US EPA 2001, WHO/FAO 2003 in WHO/FAO 1999	64
Preglednica 27. Vnos Hg µg/Hg/ kg tel. teže/ teden) in število porcij na teden z različnimi vrstami rib, po priporočilih US EPA in FAO/WHO za odrasle in otroke	72

KAZALO SLIK

stran

Slika 1.	Biokemijsko kroženje živega srebra (povzeto po Naglič, 2005)	4
Slika 1a.	Globalno kroženje živega srebra (MTS, 2005)	5
Slika 2.	Shema sistema AAS – HP (H. Akagi)	31
Slika 3.	Kontrolni diagram določanja živega srebra v standardnem referenčnem materialu Tuna muscle, IAEA 350,	33
Slika 4.	Kontrolni diagram določanja živega srebra v standardnem referenčnem materialu Dogfish muscle, DORM 2,	34
Slika 5.	Shematski prikaz vsebnosti živega srebra v svežih ribah iz istega ribolovnega območja, kupljenih na ljubljanski tržnici v obdobju od aprila do junija 2005	37
Slika 6.	Shematski prikaz vsebnosti živega srebra v svežih ribah z različnimi načini prehranjevanja	40
Slika 7.	Shematski prikaz vsebnosti živega srebra v konzerviranih ribah glede na način prehranjevanja	45
Slika 8.	Shematski prikaz vsebnosti živega srebra v ribjih izdelkih različnih lotov	49
Slika 9.	Shematski prikaz vsebnosti živega srebra v enakih ribjih izdelkih različnih proizvajalcev	52
Slika 10.	Pregled deleža vnosa živega srebra s 100g ribe glede na priporočeni dnevni vnos 0,1 μg (po priporočilih US EPA 2001)	57
Slika 11.	Pregled deleža vnosa živega srebra s 100g ribo glede na priporočeni tedenski vnos 0,7 μg (po priporočilih US EPA 2001)	58
Slika 12.	Shematski prikaz vnosa Hg v μg / teden z ribjo porcijo (160g) rib, glede na PTWI priporočila; US EPA 2001, WHO/FAO 2003 in WHO/FAO 1999	60
Slika 13.	Shematski prikaz vnosa Hg v μg / teden z ribjim izdelkom (ena porcija), glede na PTWI priporočila; US EPA 2001, WHO/FAO 2003 in WHO/FAO 1999	67

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

AAS-HP	atomska absorpcijska spektrometrija hladnih par
CRM	certificiran referenčni material
DHA	dokozaheksaenojska kislina
DNA	deoksiribonukleinska kislina
EFSA	Evropsko združenje o varnosti živil (European Food Safety Authority)
EPA	eikozapentaenojska kislina
EPA	Agencija za varovanje okolja (Environmental Protection Agency)
FAO	Mednarodna organizacija za hrano (Food and Agriculture Organization)
FDA	Vlada za prehrano in zdravila (Food and Drug Administration)
Hg _{-T}	celokupno živo srebro
Lot	serijska številka izdelka
MeHg	metil živo srebro
MK	maščobne kisline
PTWI	začasno dovoljeni tedenski vnos (Provisional Tolerable Weekly Intake)
RNA	ribonukleinska kislina
SeMet	selenometionin
SO	standardni odmik
VNМК	večkrat nenasičene maščobne kisline
WHO	svetovna zdravstvena organizacija (World Health Organization)

1 UVOD

1.1 NAMEN DELA

Ribe zagotavljajo pomembna hranila v prehrani ljudi, kot so omega-3 in omega-6 maščobne kisline ter esencialne amino kisline, so pa tudi vir kontaminantov. Med te spada tudi živo srebro (Hg), ki je ena izmed najbolj strupenih kovin. Živo srebro, zlasti v obliki monometilživosrebrih spojin (MeHg), se bioakumulira v vodnih prehranskih verigah, saj je topen v maščobah in se veže z –SH skupinami proteinov. Zato so povišane koncentracije Hg prisotne zlasti pri ribah na višjem trofičnem nivoju, kot sta morski pes in tuna.

Toksičnost Hg je odvisna od njegove kemijske oblike, kjer so organske oblike Hg najbolj toksične. Najpogosteje se v okolju pojavlja metil živo srebro, ki je najbolj toksična oblika živega srebra. Najbolj raziskani so njegovi vplivi na človeka. Deluje na centralni živčni sistem.

Sočasno z živim srebrom se kopiči tudi selen, ki s svojim antagonističnim delovanjem posredno zmanjšuje strupene vplive živosrebrih spojin.

V Sloveniji je uživanje rib v stalnem porastu. Podatki o vsebnosti Hg v svežih in konzerviranih ribah so zelo redki in splošnemu prebivalstvu nedostopni. Prav zato smo se

odločili, da bomo določili vsebnost Hg v ribah, ki jih slovensko prebivalstvo najpogosteje uživa.

Na podlagi podatkov iz literature smo postavili nekaj delovnih hipotez:

- ribe, ki so na višji stopnji prehranjevalne verige, vsebujejo višje koncentracije Hg,
- koncentracija Hg v ribah je odvisna od geografskega porekla rib,
- bioakumulacija živega srebra je soodvisna s selenom,
- pri ljudeh (zlasti kritični populaciji, v katero spadajo nosečnice, ženske v rodni dobi in otroci), ki pogosto uživajo ribe, so priporočene vrednosti, ki jih predpisujejo mednarodne organizacije, običajno presežene.

Namen diplomske naloge je:

- ugotoviti, kakšne so koncentracije celokupnega živega srebra (Hg-T) v različnih vrstah konzerviranih rib (tunah, sardelah, skušah) in v izbranih vrstah svežih morskih ter sladkovodnih rib,
- ugotoviti, kako je slovensko prebivalstvo izpostavljeno živemu srebru zaradi uživanja rib, ki se pojavljajo na slovenskem tržišču.

2 PREGLED OBJAV

2.1 SPLOŠNE LASTNOSTI ŽIVEGA SREBRA

Živo srebro je kovina svetlikajoče se srebrno bele barve z oznako Hg, ki je pri sobni temperaturi v tekočem agregatnem stanju. Njegovo vrstno število je 80, molska masa znaša 200,59 g/mol. Vrelišče živega srebra je pri 357,3 °C, tališče pa pri -39,8 °C. V okolju se pojavlja v različnih fizikalnih in kemijskih oblikah. Fizikalno je lahko v stanju tekočine, plina ali pa je vezano na trde partikulatne delce. S toksikološkega in ekološkega vidika je živo srebro ena izmed najbolj toksičnih neesencialnih težkih kovin. Zaradi hlapnosti in velike mobilnosti je prisotno povsod. V okolju se pojavlja v različnih fizikalnih in kemijskih oblikah s širokim spektrom lastnosti. Pretvarjanje ene oblike v drugo, izmenjava le-teh med različnimi ekosistemi ter vključevanje in kopičenje predvsem organskih oblik Hg v prehrabene verige daje osnovo zelo kompleksnemu biogeokemijskemu kroženju živega srebra.

Kemijsko se nahaja v treh oksidacijskih stanjih:

Hg^0 – elementarno živo srebro; edina kovina, ki je pri sobni temperaturi v tekočem agregatnem stanju. Njegovi hlapi so brez barve in vonja. Je prevladujoča oblika živega srebra v zraku. Elementarno živo srebro je zelo lipofilno in deluje nevrotoksično.

Hg_2^{2+} - monovalentno živo srebro; obstaja kot dimer, je zelo nestabilno, zato se ob nevtralnem ali kislem pH pogosto pretvori v Hg^{2+} in Hg^0 .

Hg^{2+} - dvovalentno živo srebro; je zelo stabilno, prevladuje v naravi in nastopa v različnih organskih in anorganskih spojinah. MeHg je prevladujoča oblika v ribah, je najbolj toksična oblika živega srebra.

Ekstremno visoka afiniteta Hg^{2+} do $-\text{SH}$ (sulfhidrilnih) skupin amino kislin, kot sta cistein in metionin v encimih, razlaga njegovo visoko toksičnost. Še večja je afiniteta Hg^{2+} do $\text{SeH} -$ skupin, kar ponazarja zaščitno vlogo selena pred Hg zastrupitvami (Horvat in Gibičar, 2005).

2.2 KROŽENJE ŽIVEGA SREBRA V OKOLJU

Živo srebro je v nizkih koncentracijah prisotno v atmosferi, vodi in tleh. Pretvorba in kroženje živega srebra v okolju sta zelo zapletena in v veliki meri odvisna od okoljskih pogojev. Tako je za razumevanje sprememb v koncentracijah in oblikah živega srebra treba poznati povezavo med okoljskimi razmerami in stopnjo živega srebra v različnih okoljskih medijih in živih organizmih. Oksidacija-redukcija in metilacija-demetilacija sta dve osnovni obliki reakcij, ki pogojujeta različne oblike v kroženju živega srebra.

Pretvorba med temi različnimi oblikami živega srebra zagotavlja osnove v vzorcu Hg-kompleksov v lokalnem in globalnem kroženju, za njegovo biološko bogatenje in posledično učinke.

Organske Hg komponente lahko vstopijo v okolje preko antropogenih virov in z naravno produkcijo organskih ali anorganskih Hg komponent. V nekaterih državah v kmetijstvu še vedno uporabljajo organske Hg spojine (večinoma fenil Hg, metoksimetil Hg in manjše količine etil Hg) (Horvat in Gibičar, 2005).

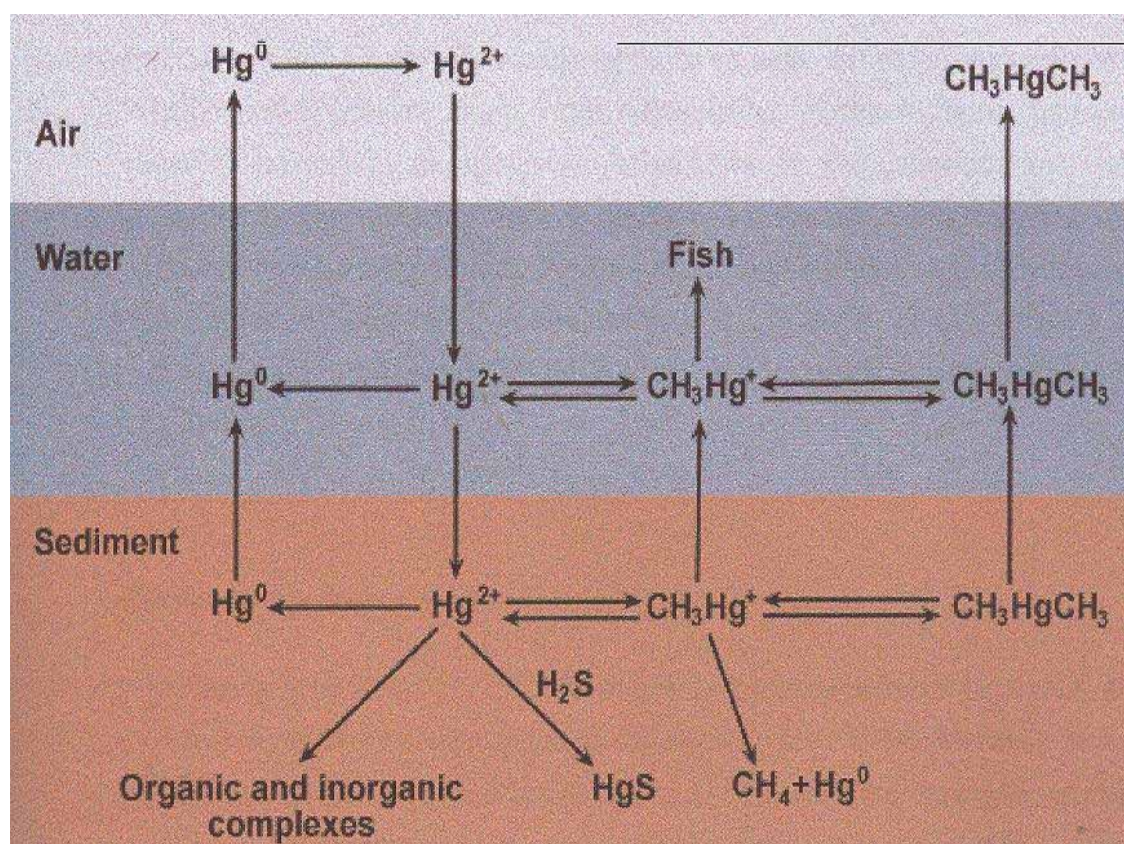
Kot je prikazano na sliki 1, je v atmosferi prevladujoča oblika Hg v obliki elementarnega Hg (Hg^0), manj ga je v organski obliki (Me_2Hg). V atmosfero se sprošča iz oceanov, kopnega, vegetacije, gozdnih požarov, vulkanov in zaradi človeškega delovanja. Odstranitev Hg^0 iz atmosfere poteka predvsem z oksidacijo v Hg^{2+} , ki se veže na delce in se tako v partikulatni obliki z mokrim in suhim usedanjem odlaga v oceane in na

zemeljsko površino. Me_2Hg je neobstojna spojina in se na zraku pretvori v anorganski Hg^0 . V atmosferi je tako več kot 90 % Hg v obliki Hg^0 , ostale oblike pa so proste ali vezane na delce. Emisije Hg v zraku lahko povzročijo njegovo kopičenje tudi do 2000 km stran od njegovega vira (Fitzgerald in Mason, 1997).

Ko se Hg usede na zemeljsko površino, pride do pretvorb, zlasti ob prisotnosti mikroorganizmov. S stališča izpostavljenosti je najpomembnejša pretvorba v monometilni živosrebrni kation (MeHg), ki se akumulira in kopiči v prehrabnih verigah (Fitzgerald in Mason, 1997).

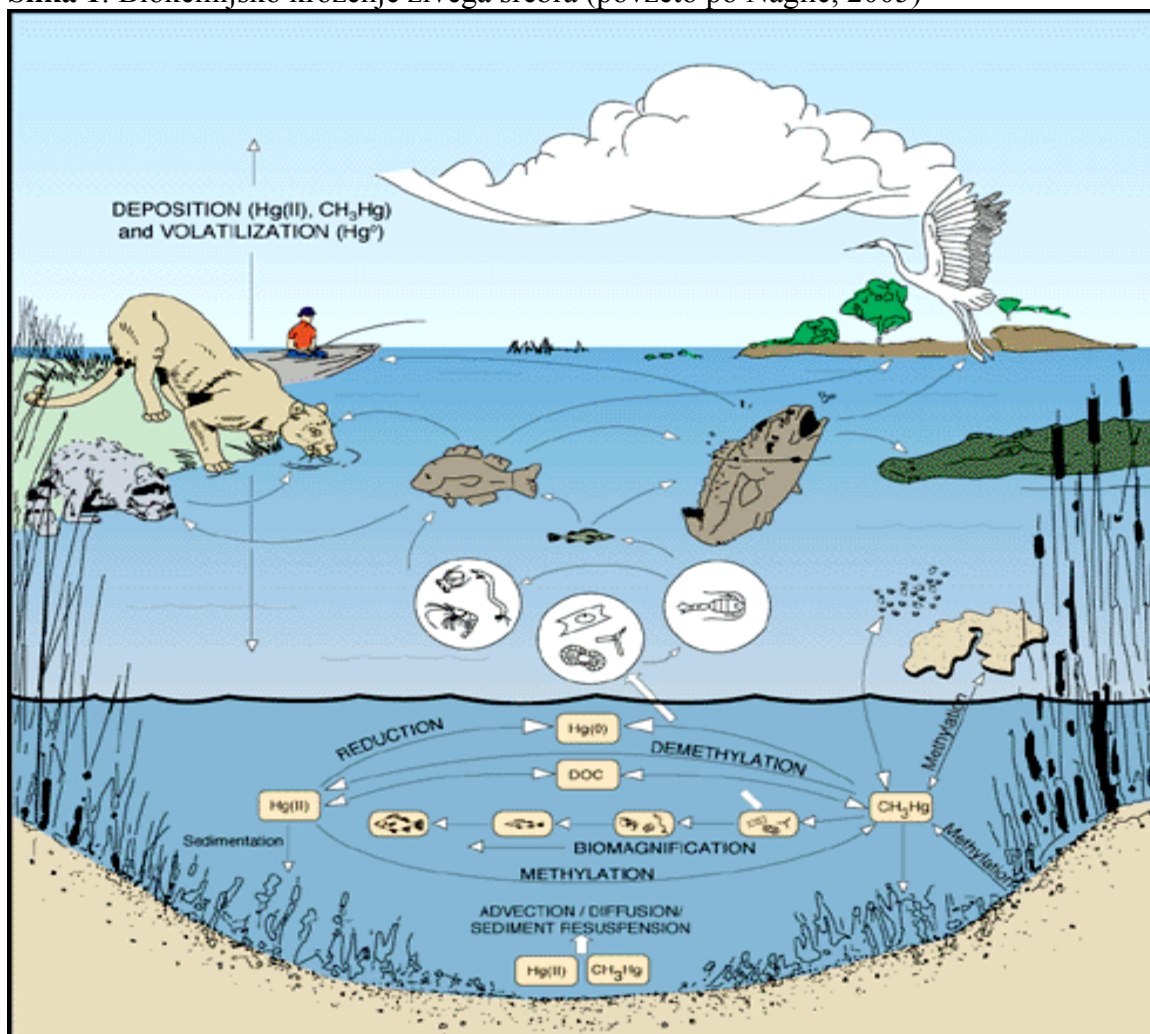
V vodnem okolju in zgornjih plasteh sedimentov prihaja do pretvorbe Hg^{2+} v MeHg . Slednji se preko prehranjevalnih verig v visokih koncentracijah kopiči v tkivih vodnih organizmov (Horvat M., 1996). Okoli 90 % vsega Hg , ki vstopi v oceane, se vrne v atmosfero v obliki Hg^0 . Okoli 10 % pa se ali metilira, in se tako v obliki MeHg akumulira v organizmih, ali pa se pretvori v HgS , ki ostaja v globinskem sedimentu oceana in se ne vključuje več v biogeokemijski cikel (Fitzgerald in Mason, 1997).

V zemlji Hg^{2+} tvori organske in anorganske komplekse. Od anorganskih Hg spojin v kisljih tleh prevladujejo HgCl_2 , v bazičnih pa $\text{Hg}(\text{OH})_2$. Organski kompleksi nastanejo tako, da se Hg^{2+} veže na $-\text{SH}$ skupine, ko pa so le-te porabljene, se veže na $-\text{NH}_2$ in $-\text{COOH}$ skupine.



Legenda: air – zrak, water – voda, sediment – sediment, organic and inorganic complexes – organski in anorganski kompleksi, fish – ribe

Slika 1: Biokemijsko kroženje živega srebra (povzeto po Naglič, 2005)



Slika 1a: Globalno kroženje živega srebra (MTS, 2005)

Znano je, da živo srebro prehaja iz enega ekosistema v drugega in se pretvarja iz ene kemijske oblike v drugo. Živo srebro ima lastnost globalnega onesnažila, zato se odlaga tudi na območjih, ki so oddaljena od vira onesnaženja. Ribe v odprtih oceanih in odročnih sladkovodnih sistemih tako odražajo globalno onesnaženje. Ribe v bližini virov onesnaženja pa odražajo stanje v ožjem vplivnem območju (Mahaffey in sod., 1997).

2.3 BIOAKUMULACIJA ŽIVEGA SREBRA

Bioakumulacija in biomagnifikacija sta glavni lastnosti živega srebra, ki omogočata kopičenje in transport skozi prehranjevalno verigo in predstavljata skrb zaradi toksičnih vplivov, predvsem MeHg, na organizme, njihove predatorje in v končni fazi na človeka.

2.3.1 Bioakumulacija

Živo srebro vstopa v organizem preko dveh poti. Direktno preko Hg v vodi in s trofično potjo preko zaužitja onesnaženega plena. Tako živo srebro vstopa s hrano preko prebavnega trakta v kri, ki se filtrira v jetrih, ob tem pa se kopiči tudi živo srebro. Iz jeter nato živo srebro potuje v ostale organe v telesu. Iz telesa se večinoma izloča z urinom, ki je odvečni produkt v procesu filtracije krvi v ledvicah (Boudou in Riebeyre, 1997).

V procesu bioakumulacije se živo srebro, zaradi počasnejšega izločanja od nalaganja v telesu, kopiči v organizmih. Objavljene raziskave o živem srebru v ribah kažejo na variabilnost med organizmi iste vrste kot tudi različnih vrst. Najnižja in najvišja vrednost pri ribah iste vrste in starosti se lahko razlikujeta tudi za faktor 10 in več. Znano je, da na bioakumulacijo Hg v ribah vpliva veliko faktorjev, kot so starost, teža in dolžina. Rezultati predatorskih rib iz jezer borealnih gozdov na Švedskem kažejo, da vrednosti živega srebra naraščajo skoraj linearno s telesno težo rib (Boudou in Riebeyre, 1997).

V ribah se MeHg pospešeno in učinkoviteje absorbira preko črevesja, v manjši meri preko škrge. Pripisujejo mu dolg obstojni čas, nizek koeficient permeabilnosti dvovalentnih kationov skozi lipidni dvosloj črevesne stene in učinkovito vezavo pozitivno nabitih kovinskih ionov na negativno nabite proteine na mukozni membrani, z učinkovitostjo absorpcije kovin s prehrano. Transport preko črevesnih epitelnih celic vključuje intracelularne ligande, ki prenesajo kovinske ione iz apikalne na bazolateralno stran črevesne membrane. Znan je tudi model prenosa kovinskih ionov v ribah preko črevesnega proteina, bogatega na cisteinu. Veliko več raziskav ponazarja, da je MeHg pogosto preko celične membrane prenesen kot hidrofilen kompleks, kot L–cistein kompleks na L–tipu velikega amino kislinskega prenašalca. Prenos MeHg je možen tako s pasivnimi kot z aktivnimi transportnimi procesi (Houck in Cech, 2003).

2.3.2 Biomagnifikacija

Biomagnifikacija živega srebra skozi prehransko verigo je proces, kjer na vsakem nivoju v prehranski verigi, od bakterije do planktona, majhnih rakcev, majhnih rib, rib in organizmov, ki se hranijo z ribami, organizmi privzamejo več živega srebra, kot ga izločijo, kar ima za posledico kopičenje živega srebra v njihovih organih. Tako je koncentracija živega srebra v vsakem organizmu višja kot v njegovi prehrani. Posledica so povišane koncentracije v višjih trofičnih nivojih (Cleckner in sod., 1998).

V literaturi se pogosto navaja, da večina predatorskih rib vsebuje preko 1 mg/kg MeHg, medtem ko so koncentracije v vodi pogosto nižje od 1 ng/l (faktor povečanja vsebnosti MeHg je 10^6).

Tako imajo ribje vrste, ki plenijo druge ribe, višje koncentracije, kar kaže na pomembnost pozicije posamezne vrste v prehranski verigi. Prav tako je pomembno, ali so ribe ribojede ali rastlojede. Študije na reki Amazonki (Boudou in Riebeyre, 1997) so pokazale, da je imelo 75 % ribojedih vrst rib koncentracije nad 300 ng/g in 45 % nad 500 ng/g, po drugi strani pa je imelo okoli 90 % omnivornih in detritivornih vrst rib vsebnost Hg pod 300 ng/g. Po vseh raziskavah sodeč, odstotek MeHg v organizmih narašča z njihovo naraščajočo pozicijo v prehranski verigi, kljub nekaterim opaznim raznolikostim med vrstami v istem trofičnem nivoju. V vodnem stolpcu je 10% MeHg, v fitoplanktonu 15 %, zooplanktonu 30 % in v ribah 95 % MeHg (Boudou in Riebeyre, 1997).

Omeniti je treba tudi dejstvo, da se količina MeHg v mišičnem tkivu surove ribe ohrani tudi po kuhanju ali kakšni drugi termični obdelavi (Mahaffey in sod., 1997).

2.4 TOKSIČNOST ŽIVEGA SREBRA

Celotna pot metabolizma živega srebra se prične ravno s prehrano, saj človek privzame največ MeHg z uživanjem morske hrane. Več kot 90 % MeHg se absorbira iz gastrointestinalnega trakta. Večina se ga veže na eritrocite, zato se dobro prenaša po celem organizmu in se enakomerno porazdeli v telesnih tkivih in organih. Alkilna skupina omogoča topnost alkilne živosrebrove spojine v lipidih in s tem tudi prehajanje krvno – možganske pregrade, placentne pregrade in celičnih membran. MeHg se tako kopiči v malih možganih in v skorji velikih možganov, kjer se močno veže na tiolne skupine in povzroča okvare centralnega živčnega sistema. MeHg v celici inhibira sintezo proteinov in RNA (ribonukleinska kislina). To je zlasti kritično za razvoj možganov zarodka, saj se MeHg ob prehodu placentne pregrade kopiči v zarodku (Magos, 1997).

Živo srebro je znan kontaminant za ljudi in uživanje rib je primaren vir kontaminacije z živim srebrom pri ljudeh. Biotransformacija in tvorba MeHg predstavljata za zdravje ljudi nevaren problem (Khansari in sod., 2003). Toksični učinki Hg so odvisni od njegove kemične oblike. Oblike MeHg so v večini bolj toksične kot elementarni Hg in njegove anorganske soli. MeHg primarno prizadene centralni živčni sistem. V nekaterih primerih

pride do prizadetosti določenih delov možganov, kar povzroči ireverzibilno škodo na možganih (Leermakers in sod., 2005).

Povzetek škodljivih učinkov živega srebra na zdravje ljudi je podan v preglednici 1.

Preglednica 1: Povzetek škodljivih učinkov živega srebra na zdravje ljudi (IPCS/WHO, 1991)

Oblika Hg	Izpostavljenost	Vpliv	Biološka indikacija	Mesto in mehanizem delovanja živega srebra
Hg ⁰	klor-alkalne industrije	izguba spomina, psihološke motnje, poškodba ledvic	Hg v krvi; kot indikator kratki izpostavljenosti živemu srebru	Vdihnjeno Hg ⁰ se absorbira skozi pljuča in vstopi v krvni sistem, raztopljen Hg ⁰ se oksidira v rdečih krvničkah, možganih, jetrih, kjer inhibira aktivnost encimov z –SH skupinami, denaturira proteine, poškoduje celično membrano. Pri visokih koncentracijah povzroči smrt celice in razpad tkiva.
	zobne amalgamske plombe	proteinurija, nespečnost, izguba apetita		
Hg ²⁺	industrija usnja, baterij, fungicidov, belilna sredstva	nevrološke motnje, oslavljen imunski sistem, poškodba ledvic, nedirektno srčna kap	v urinu	Podobno kot Hg ⁰ , le da težje prehaja skozi omenjene biološke bariere
MeHg	fungicidi, prehrana (ribe in drugi morski produkti)	takojšna poškodba živčnih celic, zapoznjeni simptomi zožanja vidnega polja, gluhost, motorične nesposobnosti, paraliza	kri in lasje	MeHg se transportira v vsa tkiva, tudi v možgane, poškoduje vse dele možganov še nerojenega otroka. Inhibira sintezo proteinov, poruši zgradbo mikrotubulov nevronske celice.

Kot že omenjeno, je centralni živčni sistem kritični organ, izpostavljen hlapom Hg⁰. Posmrtna raziskava (Falnoga in sod., 2000) so pokazale, da je bila akumulacija Hg v možganih bivših rudarjev v rudnikih zelo visoka še veliko let po izpostavljenosti rudarjev takšnim okoliščinam. Visoka akumulacija je bila najdena v hipotalamusu, možganski skorji in zarodku. Za ledvicami in jetri so bile najvišje koncentracije Hg najdene v vranici in endokrinih žlezah. Torej centralni živčni sistem je kritični organ pri kronični izpostavljenosti visoko lipofilnim Hg komponentam, kot so hlapi Hg in kratko verižne alkil Hg komponente. Kronična intoksikacija s kratko verižnimi Hg komponentami, kot je MeHg, se imenuje Hunter–Russell-ov sindrom, ki je v šestdesetih letih postal znan kot bolezen "minamata". Bolezen ima latentno dobo nekaj mesecev ali celo let (Drasch in sod., 2005).

Že samo kratkotrajno vdihavanje Hg hlapov, ki presega koncentracije 1 – 2 mg/m³, pri ljudeh povzroči v ustih okus po kovini, bruhanje, trebušne bolečine, glavobol in ne nazadnje tudi bronhitis ter poškodbe pljuč (Drasch in sod., 2005).

Številne raziskave povezujejo izpostavljenost Hg s srčno-žilnimi boleznimi. Rezultati raziskav so pomembni, saj ravno ribe priporočajo za uživanje pri boleznih srca. Že manjše količine Hg v ribi zmanjšajo ugodni učinek, ki ga ima uživanje rib na srce in ožilje. Potrjena je bila povezava med nakopičenim Hg v laseh in pospešeno karotidno aterosklerozo pri Fincih. Visoke količine Hg, večje od 2 µg/g, so pokazale dvakrat večjo nevarnost smrti zaradi srčno-žilnih bolezni (Osredkar in sod., 2004).

Raziskave na ljudeh so pokazale, da pretiran privzem MeHg lahko škodljivo deluje na dedni material, in sicer na podvajanje kromosoma in izmenjavo hčerinskih kromatid. Na osnovi afinitete Hg do tiolnih skupin je Hg sposoben inhibirati nastanek mitotičnega vretena, povzroči neplodnost.

Leta 1990 je skupina znanstvenikov iz WHO potrdila, da MeHg ni potencialni mutagen. Oba, MeHg in anorganski Hg, pripomoreta k povečanju izmenjave hčerinskih kromatid v primarnih človeških limfocitih in fibroblastih. Torej MeHg povzroči razvijanje verige DNA.

Eden od glavnih produktov oksidativno poškodovane DNA je 8-hidroksi-2'-deoksigvanozin (8-OH-dG); po encimskem delovanju je ta produkt sproščen v sistemsko kroženje po telesu in izločen z urinom (Osredkar in sod., 2004).

Z vidika reprodukcije: izpostavljenost očeta Hg hlapom ne povzroča neplodnosti, medtem ko pri ženskah vpliva na plodnost. Razmeroma velike količine MeHg lahko vplivajo na reprodukcijo pri moških in ženskah. Pri kasnejšem razvoju otroka je le-ta lahko moten s Hg; po rojstvu z dojenjem ali kasneje z lastnim privzemom s hrano. Otroku se živčevje ne razvija v normalni meri, ravnotežje ni popolno, otrokovi možgani se ne razvijejo v celoti, prizadeta sta govor in vid (Drasch in sod., 2005).

Že zaradi preventive pred škodljivimi učinki na zdravje FDA (Food and Drug Administration) in EPA (Environmental Protection Agency) priporočata ženskam, ki lahko oz. so zanosile, doječim materam in otrokom, naj se izogibajo nekaterim vrstam rib in naj jedo ribe ter školjke, ki nimajo visoke koncentracije živega srebra (FDA, 2004).

Pomembno je vedeti, da je delovanje MeHg ireverzibilno, zato je dobro biti pozoren na razvijajoče se zunanje simptome. Pri človeku se strupeni učinki MeHg kažejo predvsem v nevroloških motnjah, kot so motnje pri gibanju, govoru, požiranju, sluhu, vidu; pri hujših zastrupitvah nastopijo: mentalne motnje, krči, paraliza in mišična otrplost. Blažje znake zastrupitve z MeHg je zelo težko prepoznati, zlasti kadar se kažejo v manjših vedenjskih in intelektualnih motnjah, ki so lahko posledica tudi drugih vzrokov. Hujše zastrupitve pa so podobne znakom možganske paralize. Znaki se pojavijo šele mesec ali več po zastrupitvi (Magos L., 1997).

2.4.1 Referenčne vrednosti za vnos živega srebra v organizem

US EPA je osnovala referenčno vrednost ali "varno" dnevno vrednost živega srebra, ki je 0,1 µg metil živega srebra na kilogram telesne teže na dan. Doza predstavlja količino MeHg, za katero EPA verjame, da se jo lahko dnevno zaužije ali kako drugače privzame, pa nima nikakršnih škodljivih učinkov na zdravje. Leta 2000 je National Academy of Sciences potrdila, da je EPA referenčna vrednost znanstveno opravičljiva količina za varovanje javnega zdravja (Figdor E., 2004).

Ameriško združenje za srce na osnovi prehranskih vodil za odrasle predpisuje, naj jedo ribe vsaj dvakrat na teden. Po podatkih EPA povprečna ženska v Združenih državah, ki tehta 65 kg, poje povprečen obrok z ribo cca 170g. Na osnovi po EPA postavljene referenčne doze je varna meja MeHg v ribi za žensko v Združenih državah Amerike s povprečno težo, ki uživa ribe dvakrat na teden, 0,13 mg/kg. V preglednici 2 so podane varne vrednosti živega srebra v ribi v mg/kg, ki jih lahko ženska z določeno telesno težo še privzame oziroma so v dovoljenih zdravstvenih mejah (Figdor E., 2004).

Preglednica 2: Varne vrednosti Hg v ribah za ženske z različno težo, ki jedo ribe redno (Figdor, 2004)

Telesna masa (kg)	Varna vrednost Hg v ribi (mg/kg)
45	0,09
50	0,10
55	0,11
60	0,12
64	0,13
68	0,14
73	0,15
77	0,16
82	0,17
86	0,18
90	0,19

Organizacija FAO in WHO je do leta 1999 priporočala, da skupni privzem Hg naj ne bi presegel 5 µg/kg telesne teže na teden, to je 0,7 µg/kg telesne teže na dan, od tega ne več

kot 3,3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ telesne teže na teden kot MeHg. Nobeno od 26 različnih prehranskih združenj po svetu ni prikazovalo večje doze od teh. Drugi viri poročajo o privzemu Hg iz hrane in vode 0,2 – 3,1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ telesne teže na teden za dojenčke in 0,5 – 2,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ za odrasle. Od tega je 1% skupnega privzema anorganskega Hg iz tekoče vode in 84 % preko hrane; ribe predstavljajo 20 % in 85 % od skupnega Hg, večina je v obliki MeHg (Railey, 1996).

Od leta 2003 je ista organizacija FAO/WHO predpisala novo referenčno dozo za živo srebro, ki je 0,23 $\mu\text{g}/\text{kg}$ telesne teže na dan oziroma 1,6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ telesne teže na teden kot PTWI (Provisional Tolerable Weekly Intake) (EFSA, 2004).

Začasno dovoljeni dnevni privzem ministrstva na Japonskem je 0,17 mg MeHg (0,4 μg na kg telesne teže na dan). V Evropi priporočene vrednosti za Hg variirajo. V skandinavskih državah živo srebro v ribah ne sme preseči 0,5 mg Hg/kg. Švedsko združenje za prehrano in zdravje je postavilo zahtevo za novo mejo pri 0,3 mg Hg/kg, medtem ko je Japonska že sprejela novo priporočilo za 0,3 mg/kg. V Švedski je nosečnicam odsvetovano uživati ostriža in ščuko skozi ves čas nosečnosti (Horvat in Gibičar, 2005).

2.5 ŽIVO SREBRO V RIBAH

Glavni vir kontaminacije z živim srebrom predstavlja uživanje morske hrane (ribe, školjke). V večini drugih živil Hg prevladuje v anorganski obliki in v nizkih koncentracijah (< 20 ng/g).

V ribah in ribjih izdelkih Hg prevladuje v metilirani obliki in najvišje koncentracije (>4000 ng/g) smo našli v mišičnih delih morskega psa, mečarice in tune. Podobne koncentracije so našli tudi v sladkovodnih ribah v zelo kontaminiranih vodnih sistemih (Leermakers in sod. 2005).

Najvišje koncentracije Hg v svežih morskih organizmih smo našli na najvišjih ravneh prehranjevalne verige, kjer vsebnost Hg preseže najvišjo mejo, ki je 0,5 mg/kg. Odstotek MeHg od skupnega Hg v ribji mišici variira od 80 do 100 %. V drugih organih pa je vsebnost MeHg manjša (v jetrih in ledvicah do 20 %). V drugih vodnih organizmih je odstotek MeHg odvisen od morske globine, lokacije in tipa organizma. Relativno veliko Hg in MeHg so našli v obmorskih ptičih, ki se hranijo z ribami. Ptiči, ki se hranijo z vegetacijo, pa imajo po navadi veliko manjšo vsebnost Hg v svojih telesih (Horvat in Gibičar, 2005).

V preglednici 3 so prikazane vsebnosti živega srebra v različnih vrstah rib, ki jih najdemo na ameriškem tržišču.

Preglednica 3: Vsebnosti Hg v prevladujočih komercialnih ribah in školjkah (Figdor, 2004)

Vrsta ribe	Število vzorcev	Povprečna vsebnost Hg (mg/kg)	Največja vsebnost Hg (mg/kg)
morski pes	351	0,99	4,54
mečarica	605	0,97	3,22
skuša vel.	213	0,73	1,67
španska skuša (mehiški zaliv)	66	0,45	1,56
tuna (sveža)	131	0,38	1,30
tuna (konzervirana) Albacore	179	0,35	0,85
jastog (S. Amerika)	88	0,31	1,31
morski list	32	0,26	1,52
morska postrv	27	0,25	0,74
španska skuša (S. Atlantik)	43	0,18	0,73
krap	2	0,14	0,27
ostriž	5	0,14	0,31
skat	56	0,14	0,36
ovčica	59	0,13	0,63
tuna (konzervirana) lahka	131	0,12	0,85
polenovka	20	0,11	0,42
jastog	9	0,09	0,27
klen (Pacifik)	30	0,09	0,19
rakovica	59	0,06	0,61
skuša (S. Atlantik)	80	0,05	0,16
pokrovače	66	0,05	0,22
sardelice	40	0,04	0,34
slanik	38	0,04	0,14
vahnja	4	0,03	0,04
potočna postrv	17	0,03	0,13
sardina	22	0,02	0,04
losos (sveži)	34	0,01	0,19
školjke	6	ND	ND
ostrige	34	ND	0,25
oceanski ostriž	6	ND	0,03
losos (konzerviran)	23	ND	ND
kozice	24	ND	0,05

Legenda:

ND – koncentracija Hg je bila pod mejo detekcije 0,01 mg/kg

2.5.1 Živo srebro v tuni

Vsebnost Hg se povečuje v prehranjevalni verigi rib od nižjih k višjim trofičnim predatorskim vrstam, kot so morski pes, mečarica in tuna. Le-te imajo večjo vsebnost Hg kot rastlinojede vrste. Tudi med samimi vrstami rib so razlike; starejša in večja je riba, več Hg vsebuje, kot je to značilno za tuno. Pogoste so domneve, da sveža tunina ali tunini fileji vsebujejo večjo količino Hg kot pa konzervirana tunina. Količina MeHg v sveži ali zmrznjeni tunini je 0,32 mg/kg, medtem ko je vsebnost MeHg v konzervirani tunini 0,17 mg/kg. V modroplavuti tuni (*Thunnus thynnus*) nekega italijanskega proizvajalca so zasledili celo 0,249 mg Hg/kg. Pomembno je tudi ribolovno območje ribe, saj je od tega odvisna sama vsebnost živega srebra v ribi. V tuni albacore iz Mediteranskega morja so leta 1993 našli od 0,85 do 1,45 mg/kg Hg na mokro težo tune. Od tega je 78 % vzorcev presegalo vrednost 1 mg/kg. V konzervirani tuni brazilskega proizvajalca so določili 0,65 mg/kg Hg, med vsemi 39 pločevinkami tune je bilo 51 % pločevink, ki so presegale mejo 0,5mg/kg, in 15% jih je presegalo 1 mg/kg Hg. Razvidno je, da količina Hg v ribah variira glede na oceane in regije, ki so povezani z ribolovnim območjem, ter glede na vrsto in velikost ribe (Andersen in Depledge, 1996).

Med vsemi vrstami rib pa je z vidika potrošnika najbolj aktualna tuna. Tuna albacore je bela tuna, ki jo včasih deklarirajo kot lahka tuna. Albacore ponavadi tehta 10 – 20 kg, lahko pa preseže tudi 40 kg in naj bi imela najvišje koncentracije Hg (Burger in Gochfeld, 2003).

V preglednici 4 so podane vsebnosti Hg v mišicah različnih vrst tune, ki jih najdemo na različnih ribolovnih območjih sveta.

Preglednica 4: Celokupne vsebnosti Hg v mišicah različnih vrst tune po svetu (Andersen in Depledge, 1996)

Vrsta ribe Območje vzorčenja	N	Dolžina (cm)	Teža (kg)	Konc. Hg _T (µg/g)
Skipjack tuna				
\bar{x} (interval)				
Azurna obala, Atlantik	53	28-84		0,192 (0,089-0,336)
Maldivi	26		1,0-8	0,360 ± 0,19
Havaji, Pacifik	26		0,6-1,8	(0,150-0,350)
Havaji	20			(0,270-0,520)
Novozelandski zaliv	5			(0,100-0,020)
Sejšeli	5		2,2-5,7	(0,026-0,448)
Pacifik	1			0,18
Havaji	1			0,42
Albacore tuna				
\bar{x} (interval)				
Azurna obala, Atlantik	46	87-117		0,370 (0,201-1,046)
Kalifornija	2			0,193
Kalifornija	1			0,13
Modroplavuta tuna				
\bar{x} (interval)				
Z. Mediteran	7	200-271		0,499 (0,040-1,120)
Zaliv Cadiz	6			0,68 (0,460-0,910)
Atlantski ocean	285		2-100	0,485 (0,200-0,760)
Mediteran	132			1,145 (0,200-2,460)
Caiz, Mediteran	6	200-270		0,720 (0,460-0,910)
Ebro, Mediteran	3	140-200		1,700 (1,650-2,650)
JZ Sardinija	25	160-200		0,850 (0,010-1,750)
JZ Sardinija	155	80-220		1,650 (0,010-3,250)
R. Calabria	2			(0,480-0,560)
Rumenoplavuta tuna				
\bar{x} (interval)				
Novozelandski zaliv	88		2-105	0,420 (0,070-1,200)
Havaji	22		31-98	0,540 (0,240-1,320)
Sejšeli	5		1,6-50	(0,012-0,600)
Afrika, Atlantik	3		4,5-40	0,490 (0,290-0,770)

Legenda:

- Skipjack tuna – latinsko *Katsuwonus Pelamis*, živi 2 – 3 leta, popularna pri proizvajalcih mediteranskega območja.
- Albacore tuna – latinsko *Thunnus Alalungal*, bela riba, zraste do teže 40kg, vsebuje več živega srebra kot light (lahka) tuna.
- Modroplavuta tuna – latinsko *Thunnus Thynnus*, bela riba, živi do 25 let.
- Rumenoplavuta tuna – latinsko *Thunnus Albacares*, je največja riba izmed vseh vrst tune, najdemo jo v večini konzerviranih ribjih izdelkov.

Vsebnosti Hg v tuni nihajo zaradi različne velikosti rib in geografske lokacije. Glavna vsebnost Hg v tuni je 0,206 µg/g, ki predstavlja povprečje izmerjenih koncentracij v treh vrstah tune: albacore tuna (0,264 µg/g), skipjack tuna (0,136 µg/g) in rumenoplavuta tuna (0,218 µg/g) (Mahaffey in sod., 1997).

Po raziskavi Storellija in sodelavcev (2002) je bilo objavljeno, da tuna albacore (*Thunnus alalunga*), ki tehta povprečno 4 kg, vsebuje 0,84 mg/kg skupnega Hg, medtem ko posamezni primeri iste vrste z več kot 8 kg povprečne teže vsebujejo več kot 1,4 mg/kg skupnega Hg. Po drugi strani pa modroplavuta tuna (*Thunnus thynnus*), ki tehta 5,3 kg, povprečno vsebuje samo 0,16 mg/kg skupnega Hg (Mahaffey, 2004). Več primerov je podanih v preglednici 5.

Preglednica 5: Vsebnost živega srebra v nekaterih vrstah rib v Združenih državah Amerike (Mahaffey, 2004)

Vrsta ribe	povprečna vsebnost Hg (µg/g)	vir
morski pes	1,33	US EPA (1997)
mečarica	0,95	US EPA (1997)
morski list	0,25	US EPA (1997)
tuna	0,21	US EPA (1997)
skat	0,18	Hall in sod. (1978)
postrv	0,15	US EPA (1997)
polenovka	0,12	US EPA (1997)
ostriž	0,12	US EPA (1997)
krap	0,11	US EPA (1997)
sardela	0,10	Hall in sod. (1978)
vahnja	0,089	US EPA (1997)
klen	0,081	US EPA (1997)

Tuna je ena izmed najbolj pogosto zaužitih rib v Združenih državah Amerike. Vsebnost Hg v tuni pa je zelo različna. Izdelka tunini fileji in konzervirana tuna albacore na splošno vsebujeta večje količine Hg, kot pa jo ima konzervirana lahka tuna. Po teh ugotovitvah, lahko tuno albacore varno vključimo v del tedenskega uživanja rib, če jo uživamo le po dve porciji na teden (FDA, 2005).

2.5.2 Živo srebro v Mediteranu

Zanimive raziskave znanstvenikov glede biokemije živega srebra v Mediteranskem morju kažejo, da veliko vrst rib v Mediteranskem morju vsebuje večje vsebnosti Hg v ribjih tkivih kot iste vrste rib v Atlantskem oceanu (FAO, 1986), kljub temu da so vsebnosti Hg v obeh oceanskih vodah podobne. Večje vsebnosti v številnih večjih morskih ribah v Mediteranskem morju niso povezane le s človeškim dejavnikom vnosa Hg v morje, ampak tudi z naravno prisotnimi povišanimi koncentracijami živega srebra (Horvat in sod., 2002).

Velik vpliv na Mediteran ima predvsem Tržaški zaliv. V zaliv se steka živo srebro iz naravnih virov, ti preko globalnega kroženja živega srebra, kot tudi prek človeških virov, predvsem iz nekdanj delujočega rudnika živega srebra v Idriji. Živo srebro se še zdaj, po zaprtju rudnika, pospešeno koncentrira v vodi, sedimentu in morskih organizmih v zalivu. Prihaja do metilacije Hg, ki se v svoji organski obliki bioakumulira v organizme (Rajar in sod., 2004).

Prav tako na količino Hg v morju vplivajo globina vode in vodni dinamični procesi ob gladini vode, saj morska voda iz globine kontinuirno prinaša Hg v raztopljeni obliki na površinske plasti morja. To kroženje in mešanje morskih tokov je še kako značilno za Mediteransko morje (Horvat in sod., 2002).

2.6 RIBE NA SLOVENSKEM TRŽIŠČU

Ribje meso pridobivamo prvenstveno z lovom rib, ki jih ne vzrejamo, pač pa prosto živijo v jezerih, rekah, morjih in oceanih. Akvakultura – reja vodnih organizmov – prispeva k celotni količini rib manjši delež. V zadnjih letih se je količina vzrejenih rib sicer povečala, a strokovnjaki že nekaj časa opozarjajo, da je količina ulovljenih rib dosegla svoj višek in je ne smemo povečevati, če nečemo porušiti naravnega ravnovesja med prirastom in ulovom.

Morski ribolov je še vedno osredotočen na lov drobnih pelagičnih rib, v morju pa vzrejamo predvsem dve vrsti morskih rib (orada, brancin) in eno vrsto školjk (dagnja). Zaradi omejenih naravnih možnosti marikultura nima velikih možnosti razvoja (Čepin in sod., 1997).

Obsežnejša raziskava o prehranskih navadah odraslih Slovencev je bila narejena leta 1997 (Koch V.). V naslednji preglednici so prikazani deleži pogostosti uživanja rib, piščanca in govedine.

Preglednica 6: Pogostost uživanja rib in ostalega mesa, glede na spol in starost v % (Koch, 1997)

Meso	Povpr. vredn.	Spol		Starost (let)		
		M	Ž	do 25 l	26 – 45 l	46 – 65 l
Ribe 120g	0,14	0,15	0,13	0,14	0,14	0,13
Piščanec 150g	0,20	0,21	0,18	0,18	0,21	0,20
Govedina 120g	0,25	0,26	0,23	0,20	0,26	0,26

Legenda: 120 g/150 g – običajna porcija mesa

Preglednica 7: Ulov rib v svetu, Evropski uniji in Sloveniji (FAOSTAT, 2005)

	Letni ulov (ton)				
	1980	1998	1999	2000	2001
Svet	72.417.418	118.110.682	127.082.153	130.782.342	129.942.647

EU	7.423.722	7.963.458	7.528.196	7.356.977	7.410.420
Slovenija	/	3.137	3.233	3.037	3.089

Legenda: EU - Evropska unija

/ - ni podatka

V Evropski uniji v zadnjih letih precej upada ulov rib. Razlog je v prevelikem ulovu in porušnem naravnem ravnovesju med naravnim prirastkom in ribolovom ter v onesnaženosti voda.

V evropskih državah je bila poraba ribjega mesa leta 2002 med 59,3 in 7,6 kg na prebivalca. Portugalci so letno zaužili 59,3 kg, Norvežani 54,7 kg, Španci 47,5 kg in na koncu smo Slovenci s 7,6 kg letno zaužitih rib in morske hrane na prebivalca (FAOSTAT, 2005).

Glavni problem za oceno vnosa različnih oblik Hg s prehrano je ta, da so znane samo vsebnosti skupnega Hg, kjer odstotek MeHg, kot najbolj škodljive oblike Hg, ni znan. V sledeči tabeli so podane vsebnosti skupnega Hg, privzete v enem dnevu, v različnih državah. Predvideno je, da je v morski hrani odstotek MeHg med 60 in 90 %. Od tega ribe in ribji izdelki predstavljajo glavni vir MeHg (Pirrone in sod., 2001).

Preglednica 8: Dnevni prehranski vnos živega srebra v µg/dan, v nekaterih državah (Pirrone in sod., 2001)

Država	Vnos (µg/dan)	Vir
Belgija	Vsa prehrana: 13, od katerega je 2,9 iz rib	Fouassin in Fondu, 1978
Poljska	5,08 (starostna skupina 1 – 6 let)	Szprengier-Juszkiewicz, 1988
	5,43 (starostna skupina 6 – 18 let)	
	15,8 odrasli	
	Iz rib 7 % skupnega prehranskega vnosa	Nabrzyski in Gajewska, 1984
Nemčija	0,8 iz rib 0,2 iz celotne prehrane (razen ribe)	ALI, 1996
Hrvaška	27,7 iz rib (skupni Hg) 20,8 (MeHg)	Buzina in sod., 1995
Španija	4-8 (60-90 % iz morske hrane)	Moreiras in sod., 1996
Švedska	1,8	Becker in Kumpulainen, 1991
Velika Britanija	2	MAFF, 1994
Finska	2	Kumpulainen in Tahvonen, 1989
Nizozemska	0,7	Van Dokkum in sod., 1989
Češka	0,7	Ruprich, 1995
Brazilija	315 – 448 (Amazonija)	Boishio in Henshel, 1996

Japonska	10 6,9 – 11,0 24 (18 kot MeHg)	Tsuda in sod., 1996 Ikerashi in sod., 1996 Nakagawa in sod., 1997
----------	--------------------------------------	---

Iz preglednice je razvidno, da v državah, ki ležijo pretežno ob morju ali oceanu, katerega prebivalci se prehranjujejo v veliki meri z morskno hrano, privzamejo tudi veliko živega srebra; na Hrvaškem 27,7 µg/dan, na Japonskem do 24 µg/dan, v Braziliji pa celo do 448 µg/dan živega srebra na enega prebivalca.

2.7 RIBE V PREHRANI LJUDI

Morska hrana je pomemben vir hranil za ljudi. Proteini in neproteinske dušikove komponente igrajo pomembno vlogo v prehranski vrednosti in senzorični kvaliteti morske hrane. Aktivno se tudi spodbuja uživanje ne samo rib, temveč tudi olj iz morske hrane, in sicer zaradi preprečevanja in zdravljenja srčno-žilnih bolezni ter revmatičnega artritisa. Večkrat nenasičene dolgo verižne omega-3 maščobne kisline so znane aktivne komponente olj in lipidov morske hrane. Osnovne kemične in biokemične značilnosti proteinov in lipidov morske hrane, skupaj z aktivnimi komponentami arome, mikrobiološka varnost ter svežost so tisti faktorji, ki se jih mora upoštevati (Ackman in Botta, 1994).

Energijska vrednost ribjega mesa pa je odvisna od vsebnosti maščob. Značilno je, da je od skupnih maščob v mesu različnih vrst rib 17 – 21 % nasičenih in 79 – 83 % večkrat nenasičenih maščobnih kislin (VNMK). Od nenasičenih MK prevladujejo (do 30 %) oleinska (ω -9), linolna (ω -6), linolenska (ω -3) in arahidonska kislina. Vse so esencialne za zdravje (Treer in sod., 1995).

Preglednica 9: Skupine VNMK in nekaj primerov MK (Marin, 2005)

SKUPINA	Skrajšano ime	Kemijsko ime	Trivialno ime
ω -3	18:3n-3	9,12,15-oktadekatrienojska k.	α -linolenska k.
	20:5n-3	5,8,11,14,17-eikozapentaenojska k.	EPA
	22:6n-3	4,7,10,13,16,19-dokozaheksaenojska k.	DHA
ω -6	18:2n-6	9,12-oktadekadienojska k.	linolna k.
	18:3n-6	6,9,12-oktadekatrienojska k.	γ -linolenska k.
	22:4n-6	5,8,11,14-eikozatetraenojska k.	arahidonska k.

Ribje meso je bogato tudi z vitamini, kar mu daje visoko mesto v dietetiki. Od vodotopnih vitaminov najdemo vitamine B kompleksa: B₁ (tiamin), B₂ (riboflavin), B₆ (piridoksin), B₁₂ (cianokobalamin), B₇ (karnitin), folno kislino, vitamin H (biotin), niacin, pantotenska kislina in manjše količine vitamina C. Od vitaminov, ki so topni v maščobah, najdemo vitamin A, vitamin D₃ in vitamin E (tokoferol). Večina teh vitaminov je odporna na različne metode toplotne obdelave mesa, konzerviranje in dimljenje (Treer in sod., 1995).

2.7.1 Večkrat nenasičene maščobne kisline (PUFA) v ribah

Prisotnost velikih količin dolgoverižnih omega-3 MK, eikozapentaenojske kisline (EPA), dokozaheksaenojske kisline (DHA) je ena glavnih prednosti uživanja lipidov v ribah. DHA je pogosta samo v ribah in školjkah. Maščobne kisline so komponente v vsaki prehrani in zagotavljajo pomemben vir energije. So gradniki celičnih membran. Linolna (omega-6 nenasičena) in α -linolenska kislina (omega-3 nenasičena) sta priporočljivi, ker jih naš organizem ne more sam sintetizirati, sta tudi prekursorja biosinteze dolgoverižnih večkrat nenasičenih maščobnih kislin.

Ljudje ne sintetiziramo α -linolenske kisline (18:3 ω -3), njen primanjkljaj pa daje klinične simptome nevrološke nenormalnosti in slabšo rast.

EPA je tudi prekursor omega-3 eikozanoidov, ki preprečujejo koronarne srčne bolezni, aritmijo, trombozo.

Arahidonska kislina in druge nenasičene MK imajo pomembno vlogo pri ekspresiji genov. Manjši privzem arahidonske kisline zmanjša ekspresijo proteinov, ki regulirajo encime, vključene v sintezo maščobnih kislin (Mahaffey, 2004).

Posledica tega je, da je priporočljivo uživati morskno hrano, ki vsebuje še kako pomembne maščobne kisline, ki jih naše telo drugače samo ne more sintetizirati.

Maščobnokislinska sestava v ribah in školjkah variira z vrsto ribe, temperaturo vode, v kateri riba živi, in vrsto ribje prehrane. Celične in tkivne membrane rib so bogate z omega-3 MK. Pri teži sveže ribe je vsebnost EPA od 0,01 g do 1,5 g/100 g. Vsebnost DHA pa je od 0,01 g do 2,0 g/100 g ribe.

Ribe na nižjem trofičnem nivoju z majhno vsebnostjo MeHg vsebujejo visoko vsebnost omega-3 MK. Školjke imajo malo Hg (0,08 mg/kg Hg) in zagotovijo skupaj 0,3 g EPA in DHA na 100 g tkiva. Mečarica, morski pes, tuna imajo več kot 1 mg/kg Hg, nimajo pa veliko omega-3 MK (približno 0,3 g skupno EPA in DHA/100 g užitnega dela ribe). Te tri vrste rib predstavljajo eno petino količine glavnih omega-3 MK in več kot desetkrat več živega srebra kot nekatere druge vrste; losos, skuša, slanik (Mahaffey, 2004).

Omega-3 maščobne kisline, kot je potrdila raziskava na Danskem, imajo zaščitno vlogo pred prezgodnjim rojstvom otroka in manjšo porodno težo.

Ženske, ki med nosečnostjo pojedjo več kot 150 g sveže ribe na teden, imajo 85 % manjšo možnost, da rodijo otroka z manjšo porodno težo (< 250 g).

Priporočila za noseče ženske, da ne smejo uživati rib zaradi kontaminacijskih vsebnosti živega srebra v njih, niso vedno primerna. Poleg kontaminantov ribe vsebujejo tudi bogate hranilne snovi (Barbone in sod., 2004).

V primerjavi, ki so jo delali na Eskimih, so merili vsebnosti omega-3 MK v plazmi yupic-govorečih Eskimov in v plazmi nedomorodnih ljudi kontrolne skupine. Pri yupic-govorečih Eskimih so odkrili kar za 6,8 do 13-krat večje vsebnosti omega-3 MK. Rezultati so pokazali, da so omega-3 MK v plazmi nesporno posledica pogostega uživanja rib med temi prebivalci. Med prebivalci obalnih vasi so ugotovili tudi povečane vsebnosti EPA in DHA, kar odraža večji privzem morskih rib in morskih sesalcev ter uporaba masti tjulnov v pripravi hrane. Med prebivalci, živečimi ob rečni strugi, pa so se

povečane vsebnosti omega-3 MK odražale kot posledica večjega uživanja lososa (Mahaffey in sod., 1997).

Preglednica 10: Vsebnosti EPA (20:5 ω -3) in DHA (22:6 ω -3) v nekaterih vrstah rib (Mahaffey, 2004)

Vrsta ribe	Skupne EPA in DHA (g/100 g)	EPA (g/100 g)	DHA (g/100 g)
skuša	3,61	1,45	2,16
losos	3,00	1,30	1,70
klen	2,40	1,10	1,30
slanik	2,34	1,05	1,29
tuna albacore	2,33	0,63	1,70
sardelica	1,89	0,69	1,20
slanik (Atlantik)	1,81	1,10	0,71
losos (Pacifik)	1,76	0,82	0,94
skuša (Atlantik)	1,75	0,65	1,10
losos (file)	1,72	1,00	0,72
losos (konzerviran)	1,62	0,62	1,00
tuna (lahka, konzervirana)	1,60	0,40	1,20
tuna albacore (lahka, konz.)	1,48	0,38	1,10
slanik (Pacifik)	1,33	0,76	0,57
tuna albacore (lahka., konz.)	1,21	0,11	1,10
sardine	1,16	0,28	0,88
klen	0,96	0,24	0,72
postrv (ZDA)	0,84	0,22	0,62
tuna (albacore)	0,81	0,19	0,62
oslič	0,74	0,31	0,43
postrv, gojena	0,62	0,12	0,50
mečarica	0,58	0,14	0,44
morski pes	0,52	0,05	0,47
postrv (Evropa)	0,42	0,16	0,26
tuna (modroplavuta)	0,37	0,06	0,31
losos (atlantik)	0,31	0,18	0,13
jegulja (Evropa)	0,29	0,18	0,11
tuna (rumenoplavuta)	0,29	0,20	0,09
tuna (lahka, konz. v vodi)	0,27	0,05	0,22
sardelica (Atlantik)	0,24	0,10	0,14
tuna (konz. v olju)	0,24	0,06	0,18
polenovka (Atlantik)	0,23	0,08	0,15
tuna (rumenoplavuta)	0,22	0,04	0,18
ostriž	0,21	0,14	0,07
vahnja	0,21	0,07	0,14
tuna, lahka	0,19	0,02	0,17

polenovka (Pacifik)	0,19	0,07	0,12
tuna skipjack (konz., lahka)	0,19	0,07	0,12
tuna skipjack (file)	0,17	0,06	0,11
tuna, lahka (konz. v olju)	0,13	0,03	0,10

2.7.2 Selen v ribah

Selen je esencialen mikroelement, sestavni del encimov (kot je glutation peroksidaza). Je zelo znan zaradi potencialne zavirajoče aktivnosti za bolezni. Pomembno vlogo igra pri zmanjševanju pojava raka in pri drugih tipih bolezni, kot so srčno-žilne bolezni, nekroza jeter in druge (Cabanero in sod., 2004).

Po priporočilih organizacij FAO in WHO (1996) je priporočljiva doza selena 50 – 200 µg/dan/osebo. Po vnosu selena, ki je večji od 400 µg/dan/osebo, se lahko pojavijo toksični učinki (Cabanero in sod., 2004).

Selen, znan antagonist toksičnega Hg, deluje po postavljenih hipotezah:

- selen lahko pospešuje ponovno razdelitev MeHg iz bolj občutljivih organov (ledvice) v manj občutljive (mišice),
- selen tekmuje za iste receptorje,
- tvori komplekse,
- pospešuje pretvorbe MeHg v manj toksične oblike in preprečuje oksidativne razgradnje (Cabanero in sod., 2004).

Selenove komponente imajo vzajemno delovanje na toksične učinke živega srebra. Imajo tudi številne biološke funkcije na ljudi in tudi na nekatere živalske vrste. Verjetno je, da visok privzem Se lahko zmanjša tveganje za nekatere oblike raka in srčno-žilne bolezni. Najbolj pomembna in poznana aktivnost Se komponent, kot je npr. selenoprotein, je povezana z zmanjšanjem nevarnih učinkov živega srebra (Cabanero in sod., 2004)

Po Yoneda in Suzuki (1997) je znano, da Hg najprej reagira z reducirano obliko selenita, oblikuje (Hg-Se)_n kompleks, na kar sledi vezava na specifičen plazma protein (selenoprotein P). Selenoprotein P je primarno učinkovit pri detoksifikaciji težkih kovin, kot je Hg, s čimer te kovine povezuje v stabilne komplekse.

Po raziskavah na ribah, živečih v različnih ekosistemih, in morskih sesalcih je razvidno, da je selen, prav tako kot Hg v vodnih organizmih, najpogosteje najden v koncentracijah, ki se proporcionalno povečujejo po vrstah glede na trofičnost (Lima in sod., 2003).

Dobro je znano, da obstajajo sinergistični ali antagonistični učinki med elementi v organizmih. Vedno več pozornosti je namenjeno raziskovanju interakcij med toksičnimi elementi (Hg) in esencialnimi elementi (Se).

Na splošno je vsebnost elementov višja v jetrih kot pa v mišicah. Tako je koncentracija Hg v jetrih več kot dvakrat večja kot v mišicah, medtem ko je koncentracija selena v jetrih kar sedemkrat večja kot v mišicah.

Znano je, da obstaja zelo močna pozitivna zveza med Hg in Se v nekaterih vrstah rib. Tako v primeru, ko je koncentracija Hg v mišicah velika, je tudi vsebnost Se v tkivu večja (Zhang in sod., 2004).

Preglednica 11: Skupne vsebnosti Hg in Se v $\mu\text{g/g}$ v različnih vzorcih rib (Cabanero in sod., 2004)

Vzorec	Voda (%)	Skupni Hg ($\mu\text{g/g}$)	Skupni Se ($\mu\text{g/g}$)	Se:Hg Molarno razmerje
skuša	80	0,033	0,26	20
hobotnica	79	0,024	0,13	13
mečarica	78	0,47	0,47	3
sardina	76	0,048	0,43	22
tuna	60	0,31	0,92	8

SeMet je bila edina oblika selena, najdena v treh ribjih vzorcih (sardina, mečarica, tuna), po procesu encimske hidrolize. Najvišje molarno razmerje med SeMet (selenometioninom) in MeHg je bilo zaznано pri sardinah (SeMet:MeHg = 6,3). Po tej ugotovitvi naj bi bilo uživanje sardin bolj ugodno kot uživanje tune in mečarice (Cabanero in sod., 2004).

Selen je znan po zaščitni vlogi v organizmu s toksičnim živim srebrom. Določene predatorske ribe na vrhu prehranjevalne verige, ki vsebujejo visoke vsebnosti živega srebra, vsebujejo tudi visok nivo selena. Že leta 1972 so določili molarno razmerje 1:1 med Hg in Se v tuni z veliko vsebnostjo živega srebra. Molarna razmerja živega srebra in selena nihajo med mišičnimi tkivi rib in so pogosto nižja od 1. Leta 1982 so določili neobičajno visoko molarno razmerje Hg:Se, ki je bilo 3,58 in 4,21, pri dveh individualnih tunah, ki sta vsebovali razmeroma velike vsebnosti živega srebra (Andersen in Depledge, 1996).

Belzile in sod. (2004) so opazovali antagonistični učinek skupnega Hg in Se v tkivih dveh vrst sladkovodnih rib. Majhne vsebnosti Hg in velike vsebnosti Se v tkivih so potrdile antagonistični učinek med Hg in Se. To pomeni antagonistično delovanje selena na asimilacijo živega srebra.

Pozitivne povezave med Se in Hg so razvidne v vseh vrstah rib. Se ni neodvisna spremenljivka pri asimilaciji Hg. Prav tako asimilacija živega srebra vpliva na asimilacijo selena. Ko je vsebnost selena značilno večja od vsebnosti živega srebra, takrat selen igra prevladujočo vlogo pri asimilacijskih procesih Hg (Belzile in sod., 2004).

Ribe so zaradi svojih bogatih hranil, kot so proteini, večkrat nasičene maščobne kisline in vitamini, dobre in nenadomestljive v prehrani človeka. So pa tudi vir živega srebra in drugih bioakumulativnih onesnažil. Namen te naloge je prikazati vsebnost Hg v ribah in predstavlja dopolnilo k diplomskima nalogama Saše Volk (2006) in Viktorja Kureta (2006), kjer so bile opravljene meritve Se in VNMK.

3. MATERIALI IN METODE

3.1 MATERIALI

3.1.1 Vzorčni material

Vzorčni material so bile sveže ribe in ribji izdelki, skupno 128 vzorcev. Analize vsebnosti Hg smo izvedli na 52 svežih ribah in 56 konzerviranih ribah oziroma ribjih izdelkih. Kupovali smo jih v večjih trgovinah in ribarnici v Ljubljani. Osredotočili smo se na lokacije, kjer potrošniki kupujejo hrano v večjih količinah. Vzorce smo vzorčili od marca do junija 2005.

3.1.1.1 Ribe

Sveže ribe smo kupovali v velikih trgovskih centrih in ribarnici na ljubljanski tržnici. Imeli smo na razpolago veliko uvoženih vrst rib iz naravnega ribolovnega območja ali gojene ribe. Od vsake vrste ribe smo vzeli po tri primerke, če so bile ribe manjše, drugače pa samo po dve ribi. Tudi v ribarnici na tržnici smo kupovali sveže ribe po tri primerke od vsake vrste. Paziti smo morali, da smo dobili sveže ribe kompaktne strukture, brez neznačilnega vonja.

Preglednica 12: Vsi odvzeti vzorci svežih rib, v katerih smo določili vsebnost živega srebra

Št. vzorca	Vrsta sveže ribe/ kos	Latinsko ime	Poreklo ribe	Ribolovno območje
40	Ameriškapostrv/ file	<i>Onchorhynchus mykiss</i>
79	Tuna filon	<i>Thunnus thynnus</i>	Indonezija	FAO 41
80	Losos/ file	<i>Salmo salar</i>	Norveška	FAO 27
81	List panga/ file	<i>Platichthys flesus</i>	Nizozemska	FAO 27
82	Oslič/ file	<i>Gadus morhua</i>	Holandija	FAO 27
83	Lignji mediteranski	<i>Loligo vulgaris</i>	Francija	FAO 27
84	Ugor	<i>Conger conger</i>	Hrvaška	FAO 37.1, 37.2, 37.3
85	Hobotnica mariva d.o.o.	<i>Octopus vulgaris</i>	Filipini	...
86	Romb	<i>Psetta maxima</i>	Španija	...

87	Morska žaba/ rep	<i>Lophius Piscatorius</i>	Španija	FAO 37.1, 37.2, 37.3
88	Škarpena	<i>Scorpaena scrofa</i>	Maroko	FAO 34
89	Oslič/ file	<i>Gadus morhua</i>	Danska	FAO 27
90	Oslič	<i>Gadus morhua</i>	Hrvaška	...
91	Trlja	<i>Mullus barbatus</i>	Hrvaška	...
92	Ribon	<i>Pagellus erythinus</i>	Hrvaška	FAO 37.1, 37.2, 37.3

Preglednica 12: Nadaljevanje ...

Št. vzorca	Vrsta sveže ribe/ kos	Latinsko ime	Poreklo ribe	Ribolovno območje
93	Cipelj	<i>Mugil chepalus</i>	Hrvaška	FAO 37.1, 37.2, 37.3
94	Slanik	<i>Clupea harengus</i>	Danska	FAO 27
95	Postrv/ file	<i>Salmo trutta</i>	Slovenija	FAO 34
96	Ostriž/ file	<i>Lates niloticus</i>	Tanzanija	FAO 51 in 57
97	Skuša	<i>Scomber scomber</i>	Slovenija	FAO 37.1, 37.2, 37.3
98	Brancin	<i>Dicentrarchus labrax</i>	Hrvaška	FAO 37.1, 37.2, 37.3
99	List/ file	<i>Solea vulgaris</i>	Danska	FAO 27
100	Zobatec/ file	<i>Dentex dentex</i>	Maroko	...
101	Losos	<i>Salmo salar</i>	Norveška	FAO 27
102	Orada	<i>Sparus aurata</i>	Turčija	FAO 37.1, 37.2, 37.3
103	Tuna	<i>Thunnus thynnus</i>	Indonezija	FAO 41
104	Ovčica	<i>Lithognathus mormyrus</i>	Hrvaška	FAO 37.1, 37.2, 37.3
105	Kovač	<i>Zeus faber</i>	Maroko	FAO 34
106	Morska žaba/rep	<i>Lophius piscatorius</i>	Hrvaška	FAO 37.1, 37.2, 37.3
107	Orada	<i>Sparus aurata</i>	Hrvaška	...
108	Sardela	<i>Clupea pilchardus</i>	Slovenija	FAO 37.1, 37.2, 37.3
109	Cipelj	<i>Mugil chepalus</i>	Hrvaška	FAO 37.1, 37.2, 37.3
110	Ostriž/ file	<i>Lates niloticus</i>	Tanzanija	FAO 51 in 57
111	Zobatec/ file	<i>Dentex dentex</i>	Maroko	...
112	Losos	<i>Salmo salar</i>	Norveška	FAO 27
113	Orada	<i>Sparus aurata</i>	Turčija	FAO 37.1, 37.2, 37.3
114	Sardela	<i>Clupea pilchardus</i>	Slovenija	FAO 37.1, 37.2, 37.3
115	Oslič/ file	<i>Gadus morhua</i>	Danska	FAO 27
116	Postrv/ file	<i>Salmo trutta</i>	Slovenija	FAO 34
117	List/ file	<i>Platichrus flesus</i>	Danska	FAO 27
118	Mečarica/ file	<i>Xiphias gladius</i>	Hrvaška	FAO 37.1, 37.2, 37.3
119	Tuna/ file	<i>Thunnus thynnus</i>	Indonezija	FAO 41
120	Morska žaba/ rep	<i>Lophius piscatorius</i>	Hrvaška	FAO 37.1, 37.2, 37.3
121	Ribon	<i>Pagellus erythinnus</i>	Hrvaška	FAO 37.1, 37.2, 37.3
122	Slanik	<i>Clupea harenges</i>	Danska	FAO 27
123	Oslič/ file	<i>Merluccius merluccius</i>	Hrvaška	...
124	Orada	<i>Sparus aurata</i>	Turčija	FAO 37.1, 37.2, 37.3

125	Brancin	<i>Dicentrarchus labrax</i>	Hrvaška	FAO 37.1, 37.2, 37.3
126	Skuša	<i>Scomber scombrus</i>	Slovenija	FAO 37.1, 37.2, 37.3
127	Škarpna	<i>Scorpaena scrofa</i>	Maroko	FAO 34
128	Ovčica	<i>Lithognathus mormyrus</i>	Hrvaška	FAO 37.1, 37.2, 37.3
129	Trlja/ file	<i>Mullus barbatus</i>	Hrvaška	...

... ni navedena država porekla in ni navedeno ribolovno območje

3.1.1.2 Ribji izdelki

Konzervirane ribe smo kupovali v večjih trgovskih centrih v Ljubljani, in sicer smo izbirali med proizvajalci, ki prispevajo večji delež prodaje izdelka (Rio Mare, Calvo in drugi). Od vsakega proizvajalca določenega ribjega izdelka smo vzeli po tri konzerve. Pazili smo, da izdelki niso imeli pretečenega roka uporabe. Vsak vzorec rib smo popisali. Popis je vseboval: naziv izdelka, proizvajalca, poreklo, lot številko in rok uporabe.

Preglednica 13: Seznam vzorcev ribjih izdelkov, kupljenih marca 2005 v Ljubljani

Št. Vz.	Naziv izdelka	Vrsta dodatka	Lot številka	Neto masa (g)	Masa mesa (g)	Rok uporabe	Proizvajalec/ država	Poreklo izdelka
1	Tuna, kosi tunov v rastlinskem olju	Rastlinsko olje	L-124-D-04	80	58,3	13.12.10	A/Španija	Španija
3	Sardine v rastlinskem olju		PA 1	115	85,5	13.12.10	A/Hrvaška	...
6	Koščki tunine v rastlinskem olju		352COE 3D7H9	185	150,9	Do konca leta 2010	A/Tajska	Tajska
12	Zviti slani fileti inčunov v rastlinskem olju		L 027 05	50	31,9	Julij 2006	.../Španija	...
13	Sardine z limono v rastlinskem olju		3Z11 0205	115	94,3	13.12.08	A/Hrvaška	...
14	Koščki tune v rastlinskem olju		352FOE 3D6014	185	150,6	Do konca leta 2008	A/Tajska	Tajska
20	Kosi tune v rastlinskem olju		P0102A A 16C03	80	56,9	13.12.09	A/Španija	...
22	Sardine v rastlinskem olju		612 B	69	49,6	Do leta 2010	A/Francija	...
31	Tuna v rastlinskem olju		352 F0 3N7H4	185	131,1	Do konca leta 2010	B/Tajska	Tajska
34	Sardine v rastlinskem olju		Z09 0205	115	89,5	13.12.09	A/Hrvaška	...
5	Tunina v ekstra deviškem oljčnem olju	Oljčno olje	L4071 N	160	123,1	13.12.08	A/Italija	...
17	Tuna v olivnem olju		L4099 B	160	114,7	13.12.08	A/Italija	...

Št. Vz.	Naziv izdelka	Vrsta dodatka	Lot številka	Neto masa (g)	Masa mesa (g)	Rok uporabe	Proizvajalec/država	Poreklo izdelka
19	Tunina v olivnem olju		LT 214	160	118	Do konca leta 2007	B/Italija	...
21	Tunina v oljčnem olju		L 178 TZ	80	66,0	13.12.08	B/Španija	...

Preglednica 13: Nadaljevanje tabele

Št. Vz.	Naziv izdelka	Vrsta dodatka	Lot številka	Neto masa (g)	Masa mesa (g)	Rok uporabe	Proizvajalec/država	Poreklo izdelka	
24	Kosi tuna v oljčnem olju	Oljčno olje	5238KN TCTH K PT 18	185	142,8	8.11.07	C/Tajska	Tajska	
27	Tunina v oljčnem olju z origanom		L5304 N	160	110,5	13.12.05	A/Italija	...	
28	Fileti tune v oljčnem olju		L4087	200	149,7	13.12.08	A/Italija	...	
29	Tuna v olivnem olju z rožmarinom		L4126 N	160	109,6	13.12.06	A/Italija	...	
35	Fileti skuše v olivnem olju				125	96,8	do konca leta 2009	A/Portugalska	
37	Koščki tune v olivnem olju		L 4088	80	72,1	25.08.06	A/Italija	...	
18	Fileti skuše v semenskem olju	Semensko olje	P 29 U 04 02	125	91,8	do konca leta 2005	B/Hrvaška		
9	Koščki tune v sončničnem olju	Sončnično olje	A07120 8B TPMOP	80	52,8	31.12.07	B/Francija	Slonokoščena obala	
11	Tunina v sončničnem olju		A07052 1B TPEOW	80	60,1	21.05.07	B/Francija	Slonokoščena obala	
36	Koščki tune v sončničnem olju		A07041 6B	160	117,9	15.04.07	B/Francija	Slonokoščena obala	
2	Fileti skuše, lastni sok	Naravni (lastni) sok	L-031 021	125	80,3	21.04.05	A/Slovenija	...	
15	Tuna listao v naravnem soku		P SLCE 569 4061	185	134,1	28.02.07	.../Francija	...	
16	Tunina v naravnem soku		B L4279N	160	102,7	31.12.07	A/Italija	...	

23	Kosi tuna v lastnem soku		5023CN TCTH K PN08X	95	68	18.10.07	C/Tajska	Tajska
25	Tunina albacore v naravnem soku		A071029 B AENU	139	84,8	29.10.07	B/Francija	Slonokoščena obala

Preglednica 13: Nadaljevanje tabele

Št. Vz.	Naziv izdelka	Vrsta dodatka	Lot številka	Neto masa (g)	Masa mesa (g)	Rok uuporabe	Proizvajalec/država	Poreklo izdelka
39	Kosi tunine v naravnem soku		L 4089	80	69,5	28.10.05	A/Italija	Tajska
7	Kosi tuna v paradižnikovi omaki po mediteransko	Paradižnikova omaka	54C6KN TCTH K PN 05	185	149,4	05.11.07	A/Avstralija	Tajska
8	Koščki tune v paradižnikovi omaki		A071102 B TPMTP	80	59,6	30.11.07	B/Francija	Slonokoščena obala
10	Koščki tunine v paradižnikovi omaki		L179607 1	160	104,8	31.12.08	C/Španija	...
4	Skušini fileji s petimi aromati in belim vinom	Zelenjavni dodatki	HE	176	77,5	21.01.09	C/Francija	...
26	Mehiška solata s tuno		HE1	280	107,4	08.10.08	C/Francija	...
30	Fižol s tunino		L4271	160	80,6	31.12.06	A/Italija	...
32	Sardine z zelenjavo		1102 205f	115	73,8	31.12.07	A/Hrvaška	...
33	Oslič na lovski način		21610 03 R	115	110,9	31.12.06	A/Hrvaška	...
38	Kosi lososa z zelenjavo		7235TD N 918	110	73,2	20.10.05	B/Italija	Tajska

Preglednica 14: Seznam vzorcev ribjih izdelkov, kupljenih aprila 2005 v Ljubljani

Št. Vz.	Naziv izdelka	Vrsta dodatka	Lot številka	Neto masa (g)	Masa mesa (g)	Rok uporabe	Proizvajalec/država	Poreklo izdelka
47	Koščki tune v rastlinskem olju	Rastlinsko olje	MM 22 KGO F18BD	185	136,6	31.12.06	D/Tajska	...
51	Sardine v rastlinskem olju		Z 20 0205	115	51,7	31.12.08	B/Hrvaška	...
53	Sardine v rastlinskem olju		LSB0E 16DF1	125	71,9	31.12.06	D/Tajska	...
54	Spar sardine v rastlinskem olju		PA 3	125	94,1	31.12.09	.../Hrvaška	...
57	Sardine v rastlinskem olju		2A5 S150304	125	86,5	31.12.08	C/Hrvaška	...
62	Kosi tune v rastlinskem olju		MNI ACOOK A 6ML1L	185	132,2	31.12.06	D/Tajska	...
74	Spar kosi tune v rastlinskem olju		L/K 351	80	48,1	30.06.10	.../Španija	...
75	Spar kosi tune v rastlinskem olju		L/K 349	160	98,6	30.06.10	.../Španija	...
42	Kocke tune v oljčnem olju	Oljčno olje	C01675 12C	160	115,5	23.09.06	C/Španija	...
45	Tunina v oljčnem olju		L1940	160	109,8	31.12.09	D/Španija	...
48	Fileti tune v oljčnem olju		LB 034 B	200	132,4	03.02.08	C/Italija	...
69	Rumenoplavuti tun v olivnem olju		M 073 A4	80	49,4	31.12.11	E/Španija	...
70	Tunina v oljčnem olju, sredozemski okus s česnom		K163 AG	80	50,4	31.12.10	E/Španija	...
71	Tunina v oljčnem olju z manj soli	K 183 AJ	80	49,6	31.12.10	E/Španija	...	
43	Koščki tune v naravnem soku	Naravni (lastni) sok	C01675 11D	160	111,6	23.09.06	A/Italija	...
65	Koščki tune v lastnem soku		CNI ASBBK A 6DB1N	185	112,1	31.12.06	D/Tajska	...
66	Kosi tune v lastnem soku		MM 22 KCW B2KCD	170	99,2	31.12.06	D/Tajska	...
72	Losos v lastnem soku		3113P08 13C	170	126,9	17.08.05	A/ZDA	ZDA

Preglednica 14: Nadaljevanje tabele

Št. Vz.	Naziv izdelka	Vrsta dodatka	Lot številka	Neto masa (g)	Masa mesa (g)	Rok uporabe	Proizvajalec/država	Poreklo izdelka
52	Tuna v paradižnikovem soku z zelenjavo		QOF	185	132,5	31.12.06	D/Tajska	...
58	Rezani slanikovi fileti v paradižnikovi omaki		D-NI-EFB 015 BG	200	107,2	31.12.09	.../Avstralija	...
77	Sardine v paradižnikovi omaki		LSBSD2 15DF1	125	80,9	31.12.06	D/Tajska	...
41	Sicilijanska solata	Zelenjavni dodatki	LH248J	180	165,0	30.09.05	E/Španija	...
44	Provincale zelenjava s skušo		L040730	125	82,7	30.07.07	A/Slovenija	...
46	Tunina v oljčnem olju z inčuni in kaprami		L3251N	160	108,8	31.12.06	A/Italija	...
50	Sardine v zelenjavni omaki		Z11F 0205	115	85,4	31.12.08	B/Hrvaška	...
55	Picnic zelenjava s skušo		L050106	125	56,6	06.01.08	A/Slovenija	...
56	Izola Brand skuša z zelenjavo		L041207	125	73,6	07.12.07	A/Slovenija	...
59	Kosi tuna z mehiško omako		54D8KN TCTH K R121	185	126,9	21.01.08	A/Avstralija	Tajska
61	Grah s tunino		L4182	160	71,4	31.12.06	A/Italija	...
63	Antipasto zelenjava s tunom		L040827	150	78,8	27.08.07	A/Slovenija	...
64	Tuna Pikantina zelenjava s tunom v pikantni omaki		L041117	150	67,7	17.11.07	A/Slovenija	...
73	Spar koščki tunine s čebulo, grahom in paradižnikovo omako		OE 2VDS 3139 MA	185	126,2	31.12.07	.../Tajska	...
60	Solata s tunino v jerebičji omaki		G274 P	150	93,5	Do konca leta 2006	E/Španija	...
67	Solata s tunino		LK345	150	112,3	Do konca leta 2008	E/Španija	...

Preglednica 14: Nadaljevanje tabele

Št. Vz.	Naziv izdelka	Vrsta dodatka	Lot številka	Neto masa (g)	Masa mesa (g)	Rok uuporabe	Proizvajalec/ država	Poreklo izdelka
68	Sredozemska solata s tunino		LK195	150	100,8	Do konca leta 2008	E/Španija	...
76	Sardine v semenskem olju	Se me. olje	S N6 1711 04	125	93,8	Do konca leta 2008	D/Hrvaška	...
49	Tuna s fižolom v pikantni paradižnikovi omaki	Paradiž. omaka	4NG 2701 04	125	76,6	do konca leta 2006	E/Hrvaška	...

... ni naveden proizvajalec in ni navedeno poreklo izdelka

3.1.1.3 Certificiran referenčni material (CRM)

Pri delu smo uporabljali certificirane referenčne materiale (CRM), ki so najboljši način za ugotavljanje pravilnosti analiznega postopka. CRM je referenčni material, katerega ena ali več lastnosti je certificirana s tehnično veljavnim postopkom. Ima certifikat ali kako drugo listino, ki jo je izdal certifikacijski organ in v kateri so podane certificirane vrednosti, njihove negotovosti ter interval zaupanja z navedbo stopnje negotovosti. Za zagotavljanje pravilnosti rezultatov morata biti sestava in koncentracijski nivo uporabljenega CRM podobna analiziranemu vzorcu. CRM smo pripravili v vsaki seriji meritev, po enakem postopku kot vzorce. V preglednici sta navedena oba referenčna materiala in njuni certificirani vrednosti.

Preglednica 15: Uporabljeni referenčni materiala in njegovi certificirani vrednosti.

CRM	Osnova	Certificirana vrednost (ng/g)	
		MeHg	Hg-T
IAEA 350	Tuna Muscle	3650 ± 350	4680,00 ± 280
DORM-2	Dogfish Muscle	4470 ± 32	4640,00 ± 260

Prti vsaki seriji meritev smo pripravili tudi slepe raztopine (vsaj dve na vsako serijo). V steklene bučke brez vzorcev smo dodali vse reagentne in izvedli enak postopek priprave kot pri vzorcih. Na ta način smo lahko preverili, če ni prišlo do morebitne kontaminacije laboratorijske posode ali reagentov.

3.1.2 Reagenti

Pri pripravi raztopin in vzorcev smo uporabljali deionizirano vodo (Milli-Q, Millipore) in naslednje kemikalije:

- 65 % HNO₃ (Merck, za analize Hg);
- 96 % H₂SO₄ (Merck, za analize Hg);
- 96 % HClO₄ (Merck, suprapur);
- BrCl₂ - oksidirajoči reagent, raztopino smo hranili pri 4 °C, na temnem;
- HONH₃Cl - hidroksilamin hidroklorid;
- SnCl₂ * 2H₂O, v 7 % v/v HCl - kositrov klorid, reducirajoča raztopina
- standardna raztopina na zalogo 5 µg/ml Hg v 10% dušikovi kislini: 6,77 mg HgCl₂ smo zatehtali v 250 ml bučko, dodali Milli-Q vodo, dodali 10 ml koncentrirane dušikove kisline (z majhno vsebnostjo Hg), dopolnili do oznake z Milli-Q, vsebino pretresli do popolne raztopitve, shranili v hladilniku na +4 °C;
- standardne raztopine za analize smo pripravili dnevno, v treh koncentracijskih območjih:
 - 1 ng/ml (20 µl standardne raztopine Hg razredčili v 100ml Milli-Q),
 - 10 ng/ml (200 µl standardne raztopine Hg razredčili v 100 ml Milli-Q),
 - 100 ng/ml (2 ml standardne raztopine Hg razredčili v 100 ml Milli-Q).

3.1.3 Aparature

- analizna tehtnica (Mettler AE 240 S),
- avtomatska tehtnica (Mettler PM 460 DR),
- kuhinjski homogenizator (Kenwood),
- atomski absorpcijski spektrometer (Milton Roy, elemental mercury detector),
- rekorder (Cole Palmer, model 201),
- rokavice (Sänger prima Neotril, brez pudra).

3.1.4 Priprava in čiščenje laboratorijskega pribora

Pri delu smo poskrbeli za temeljite postopke čiščenja vse laboratorijske opreme, ki smo jo uporabljali, za ustrezno pripravo vzorcev in sam laboratorij ter za vse, kar je prišlo v stik z vzorci. Da smo se izognili dodatni kontaminaciji vzorcev, smo pripravljene vzorce analizirali čim prej.

Vse steklene bučke, ki smo jih uporabili za eno serijo vzorcev, smo pomili z 0,5 % KMnO₄ v 1N H₂SO₄ in oplaknili z destilirano vodo, Milli-Q. Za tem so se sušile v sušilniku, da so bile popolnoma suhe.

Po končanih meritvah smo vzorce zlili iz bučk v odpad, oplaknili z vodo, sprali z 0,5 % KMnO_4 v 1N H_2SO_4 in končno z Milli-Q vodo. Za spravitev bučk smo le-te napolnili z destilirano vodo in dolili 65 % HNO_3 do zamaška.

Za analize smo uporabljali ultra čiste kisline, večkrat destilirano vodo Milli-Q, kar je še zmanjšalo možnost dodatne kontaminacije vzorcev.

Če je prišlo do naknadne kontaminacije, smo merili Hg v slepih vzorcih z AAS-HP. Pri naši metodi je bila vsebnost skupnega Hg v slepem vzorcu pod mejo detekcije.

3.2 METODE DELA

3.2.1 Priprava vzorcev

Iz vseh treh konzerv posameznih vzorcev smo odstranili dodatek (odlili olje, lasten sok ali odstranili zelenjavo) in stehali maso mesa. Mesno vsebino smo stresli v električni mešalnik (kuhinjski homogenizator Kenwood) in homogenizirali, dokler ni bila vsebina homogena, kar je zelo pomembno za nadaljnjo analizo. Po tem smo s homogeniziranim vzorcem s pomočjo plastične žličke tesno napolnili manjše plastične lončke (približno 4 g), vsebino zaprli, označili s številko vzorca ter shranili v zamrzovalnik pri temperaturi $-24\text{ }^\circ\text{C}$. Med homogeniziranjem posameznih vzorcev smo mešalnik najprej spraznili s pomočjo papirnate brisače, umili z milnico ter splaknili z vodo, nazadnje pa še razkužili z etanolom.

Sveže ribe smo prav tako morali očistiti. Ribam smo ročno, z uporabo rokavic (Sänger prima Neotril, brez pudra), odstranili kožo z luskami, kosti, glavo in vso drobovino. Kjer pa se to ni dalo z rokami, smo si pomagali z nerjavečim kovinskim nožem, očiščenim z etanolom. Vzorčili smo samo mišičnino, ki smo jo shomogenizirali v električnem mešalniku, da je vsebina postala gladka, ter z njo napolnili manjše plastične lončke. Lončki so bili do vrha polni, da smo čim bolj preprečili dostop kisika do vzorca. Lončke smo številčno označili ter jih shranili v zamrzovalniku pri temperaturi $-24\text{ }^\circ\text{C}$ do začetka analiz.

3.2.2 Razkroj vzorcev

Zmrznjene vzorce smo najprej odtajali na sobni temperaturi. Nato smo vzorce v paralelkah odtehtali (približno 1 g) v 100 ml steklene bučke. V digestoriju smo dodali 5 ml koncentrirane HNO_3 , nežno premešali in pustili delovati nekaj časa. Zatem smo dodali 2 ml HClO_4 in 10 ml H_2SO_4 . V vsako bučko smo stresli približno 5 steklenih kamenčkov, ki smo jih prej sprali z 1 % KMnO_4 v 1 N H_2SO_4 , in oplaknili z destilirano vodo. Vzorce smo pustili stati eno uro pri sobni temperaturi. Po eni uri smo bučke za dvajset minut postavili na električno ploščo v aluminijastem bloku, segreto na $200\text{ }^\circ\text{C}$. S tem, ko smo vzorce skupaj s kislino segrevali pri visoki temperaturi, smo dosegli postopno razgradnjo ogljikovih hidratov, proteinov in maščob.

Po točno dvajsetih minutah smo bučke odstavili na trdno podlago in jih zaprli s prilegajočimi steklenimi zamaški. Ko so se razkrojeni vzorci ohladili, smo jih razredčili z Milli-Q vodo, malo manj kot do oznake bučke (< 100 ml), zaradi raztezovanja volumna. Na koncu smo dodali 2ml brom klorida (BrCl_2) in pustili stati čez noč. Naslednji dan smo pred samo meritvijo dodali še 120 μl hidroksilamin hidroklorida (HONH_2Cl).

Pri vsaki seriji vzorcev (do 15) smo uporabili certificiran referenčni material, in sicer IAEA 350 oziroma DORM-2, ki smo ga odtehtali v steklene bučke po približno 0,3 g. S CRM vzorci smo postopali na enak način.

3.2.3 Določitev živega srebra z atomsko absorpcijsko spektrofotometrijo hladnih par (AAS-HP)

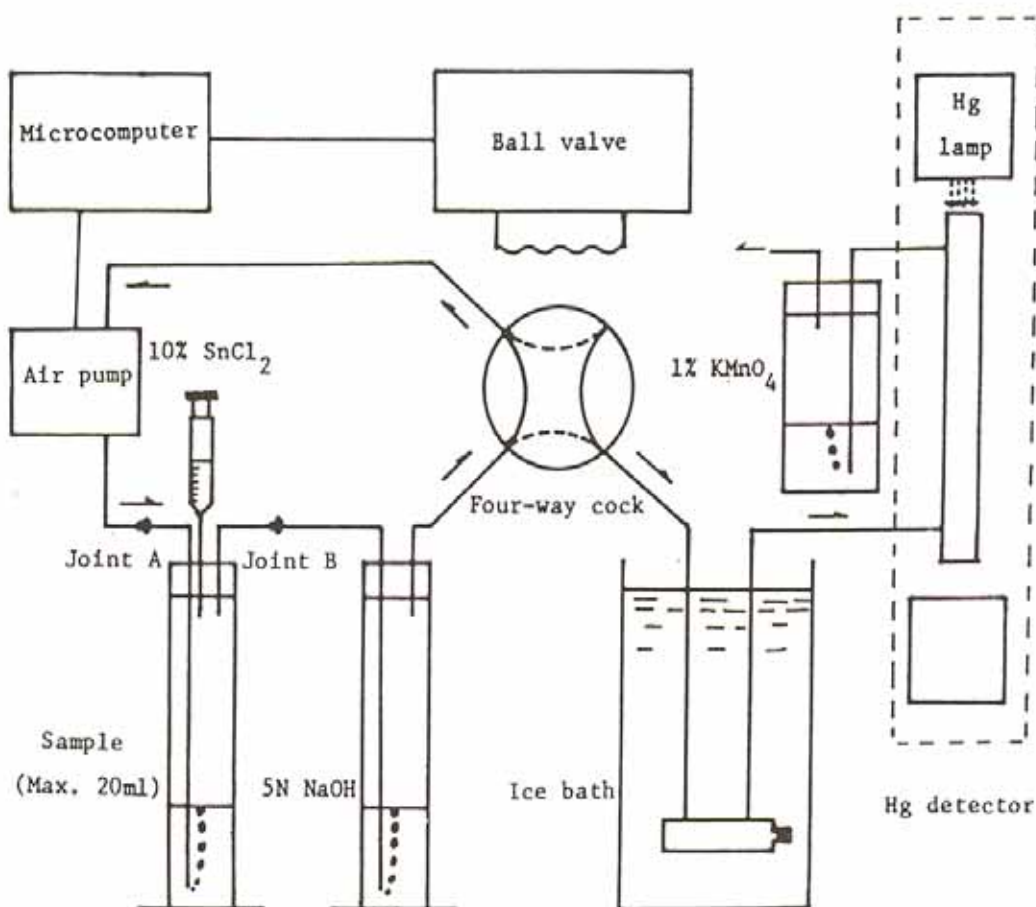
Za merjenje koncentracije Hg_T smo uporabili atomsko absorpcijsko spektrofotometrijo hladnih par (AAS-HP). Meje zaznavnosti te metode so 0,01 – 1 ng/g.

AAS-HP za determinacijo živega srebra temelji na redukciji ionske oblike Hg v raztopini v elementarno stanje in njegov posledičen prenos v absorpcijsko celico atomskega absorpcijskega spektrometra.

Polavtomatski Hg sistem hladnih par, sestavljen po japonskem znanstveniku Hirokatsu Akagi, sestoji iz zračne cirkulacijske črpalke, reakcijske posode, kislinsko plinske pasti in okrogle pipe, odprte na štirih delih, povezane s cevko. Znan volumen vzorca smo odpipetirali v reakcijsko posodo ter dodali destilirano vodo do oznake 20 ml. Posoda je narejena tako, da ustvarja zaprt sistem. V reakcijsko posodo smo injicirali še 1 ml 10 % SnCl_2 , ki zagotovi, da se vse oblike Hg oksidirajo do elementarne oblike Hg. S tokom zraka (1-1,5 l/min) je elementno živo srebro prešlo iz raztopine v zaprti sistem zraka. Štiripotni ventil omogoča usmerjanje zraka, in sicer tako, da v času redukcije zapre kroženje zraka znotraj sistema. V času merjenja pa usmeri tok zraka skozi UV celico, kjer pride do absorpcije Hg^0 pri 253,7 nm. Zaprti sistem vključuje tudi past za odstranjevanje kislinskih par z nevtralizacijo (NaOH) ter past za kondenzacijo vodnih par, ki lahko sicer motijo detekcijo signala. Absorbcija Hg se zapiše z rekorderjem z obsegom 0,1V.

Ko je bil na rekorderju zabeležen maksimalen vrh, je raztopina vzorca odtekla in zapustila reakcijsko posodo.

Koncentracije živega srebra v vzorcih smo merili v tistem meritvenem območju, kjer so meritve vzorcev in standardnih raztopin prišle na isto meritveno skalo. Na to standardno raztopino smo umerjali vse nadaljnje vzorce iste serije.



Slika 2: Shema sistema AAS-HP (Akagi, 1991)

Vsebnost Hg-T smo izračunali po naslednji enačbi:

$$c \text{ (ng Hg-T / g)} = \frac{(h_{vz} - h_{sl}) * V_{vz} * 10 \text{ ng}}{(h_s - h_0) * V_i * m} \dots (1)$$

h_{vz} – višina signala v alikvotu (mm),

h_s – višina signala standardne raztopine (10 ng) (mm),

h_0 – višina ozadja (mm),

h_{sl} – višina signala slepe raztopine (mm),

V_i – volumen dodanega alikvota (ml),

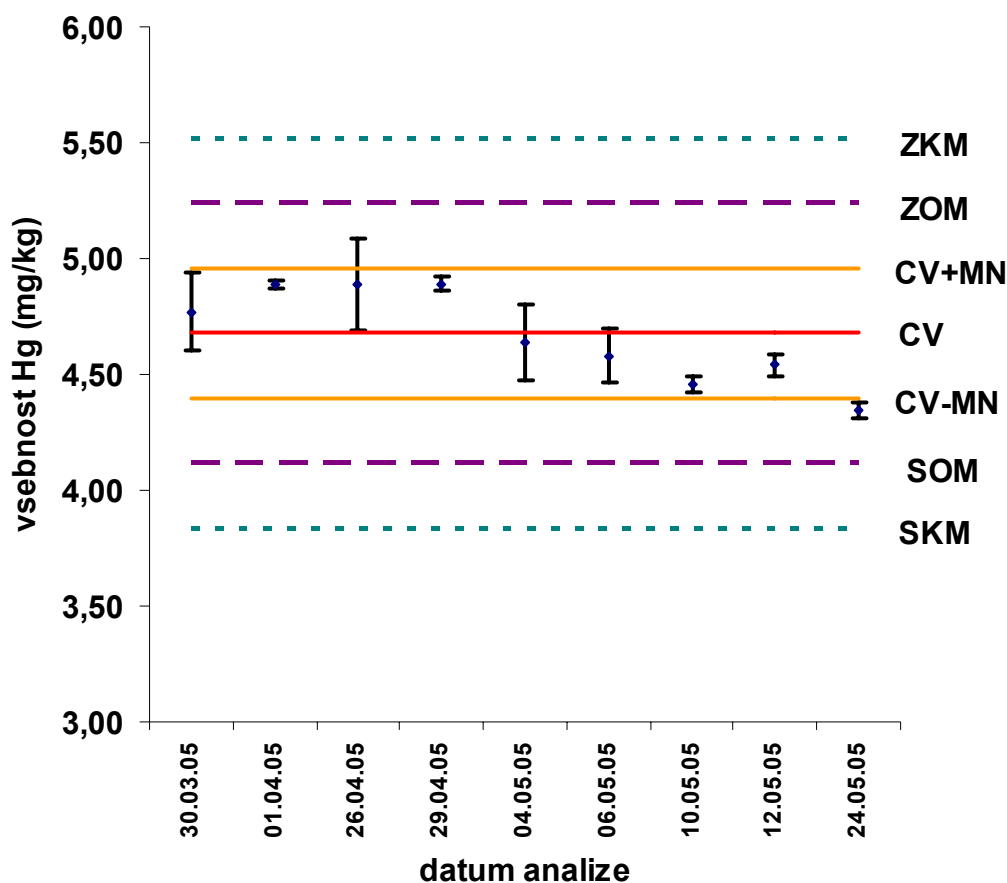
V_v – volumen razkrojenega in razredčenega vzorca (ml),

m – masa vzorca (g).

3.2.4 Pravilnost in natančnost postopka

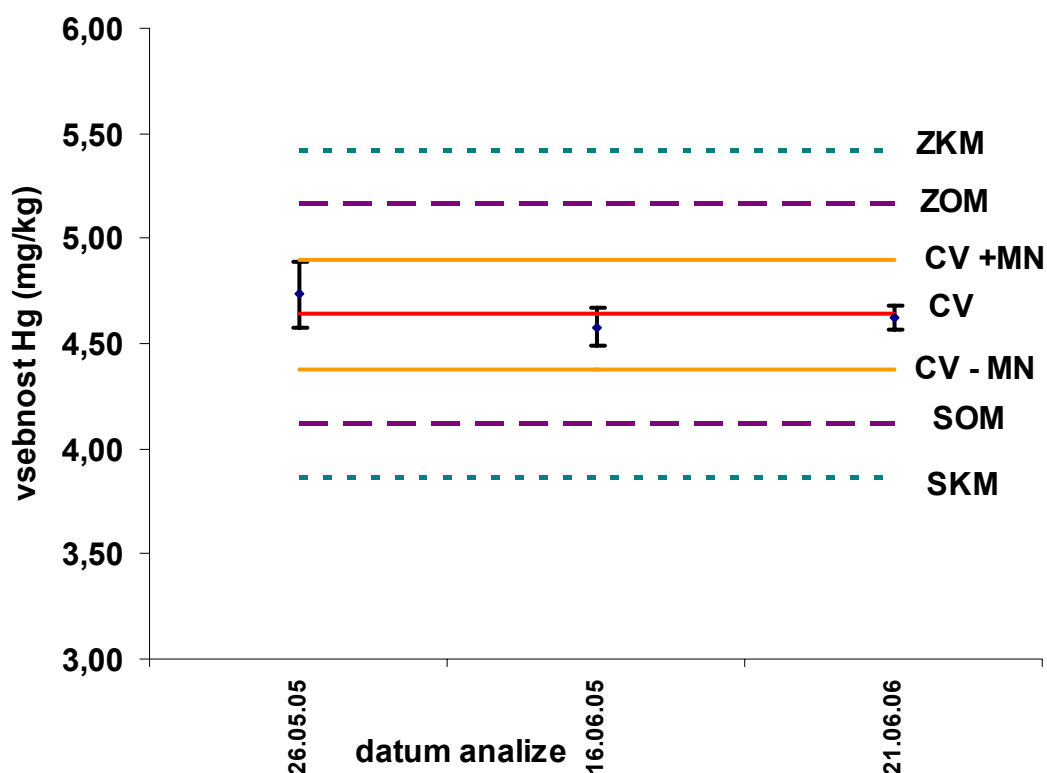
Pravilnost in zanesljivost metode z razkrojem pri 200 °C v odprti stekleni bučki in detekcije živega srebra z AAS-HP smo preverili z uporabo kontrolnega diagrama za

določanje živega srebra v certificiranem referenčnem materialu IAEA 350 (Tuna muscle, mišičnina tune) oziroma DORM-2 (Dogfish muscle, mišičnina morskega psa), ker sta po sestavi podobna sestavi naših vzorcev. Podatke smo podali kot povprečje \pm standardni odmik, kar je eden izmed načinov podajanja podatkov v kontrolni karti. Večina rezultatov je znotraj območja med spodnjo in zgornjo opozorilno mejo, kar kaže na pravilnost in ponovljivost metode.



CV – certificirana vrednost (4,68 $\mu\text{g/g}$), MN – merilna negotovost (0,28 $\mu\text{g/g}$), SOM – spodnja opozorilna meja ($\text{CV} - 2 \cdot \text{MN}$), ZOM – zgornja opozorilna meja ($\text{CV} + 2 \cdot \text{MN}$), SKM – spodnja kritična meja ($\text{CV} - 3 \cdot \text{MN}$), ZKM – zgornja kritična meja ($\text{CV} + 3 \cdot \text{MN}$)

Slika 3: Kontrolni diagram določanja živega srebra v certificiranem referenčnem materialu Tuna muscle, IAEA 350



CV – certificirana vrednost (4,64 $\mu\text{g/g}$), MN – merilna negotovost (0,26 $\mu\text{g/g}$), SOM – spodnja opozorilna meja ($CV - 2 \cdot MN$), ZOM – zgornja opozorilna meja ($CV + 2 \cdot MN$), SKM – spodnja kritična meja ($CV - 3 \cdot MN$), ZKM – zgornja kritična meja ($CV + 3 \cdot MN$)

Slika 4: Kontrolni diagram določanja živega srebra v certificiranem referenčnem materialu Dogfish muscle, DORM 2

4 REZULTATI

Rezultate opravljenih analiz podajamo posebej za sveže ribe in ribje izdelke.

4.1 VSEBNOST ŽIVEGA SREBRA V SVEŽIH RIBAH

4.1.1 Primerjava vsebnosti živega srebra v svežih ribah iz istega ribolovnega območja

Namen našega večkratnega vzorčenja svežih rib je bil ugotoviti, kako variira vsebnost živega srebra v istem ribolovnem območju. Rezultati so prikazani v preglednici 16 in shematsko na sliki 5.

Preglednica 16: Vsebnost živega srebra v svežih ribah iz istega ribolovnega območja, kupljenih na ljubljanski tržnici v obdobju od aprila do junija 2005.

Št. Vz.	Vrsta sveže ribe / kos	Vsebnost Hg (ng/g) $\bar{x} \pm SO$	Čas ulova v letu 2005	Ribolovno območje	Poreklo ribe	
80	Losos / file	34 ± 3	April	FAO 27	Norveška	
94	Slanik	85 ± 5	Maj		Danska	
122		81,6 ± 5,2	junij			
99	List / file	24,4 ± 2,3	Maj		Nizozemska	
117		66,0 ± 0,1	Junij		Danska	
82	Oslič / file	35,7 ± 3,3	April		Holandija	
89		41,8 ± 3,9	Maj		Danska	
115		366 ± 6	Junij			
83	Lignji	46,5 ± 2,1	April		Francija	
87	Morska žaba / rep	71,2 ± 3,5	April		FAO 37.1, 37.2, 37.3	Hrvaška
106		668 ± 12	Maj			
120		125 ± 7	Junij			
92	Ribon	38 ± 8	Maj			
121		964 ± 28	Junij			
93	Cipelj	173 ± 2	Maj			
109		570 ± 30	Junij			
97	Skuša	107 ± 4	Maj	Slovenija		
126		78,8 ± 2,4	Junij			
104	Ovčica	142 ± 10	Maj	Hrvaška		
128		210 ± 8	Junij			
108	Sardela	159 ± 7	Maj	Slovenija		
114		378 ± 19	Junij			

Preglednica 16: Nadaljevanje tabele

Št. Vz.	Vrsta sveže ribe / kos	Vsebnost Hg (ng/g) $\bar{x} \pm SO$	Čas ulova v letu 2005	Ribolovno območje	Poreklo ribe
118	Mečarica / file	1164 ± 120	Junij		Hrvaška
84	Ugor	864 ± 61	April		
88	Škarpena	231 ± 7	Maj	FAO 34	Maroko
127		371 ± 19	Junij		
96	Ostriž / file	71,8 ± 22,1	Maj	FAO 51 in 57	Tanzanija
110		587 ± 36	Junij		
79	Tuna	438 ± 6	April	FAO 41	Indonezija
103		1107 ± 87	Maj		
119		162 ± 17	Junij		
91	Trlja	504 ± 41	Maj	FAO 37	Hrvaška
129		249 ± 7	Junij		
100	Zobatec / file	45,5 ± 1,9	Maj	FAO 37	Maroko
111		308 ± 28	Junij		
85	Hobotnica	12,0 ± 1,4	April	...	Filipini
86	Romb	42,3 ± 2,5	April	FAO 37	Španija

Legenda:

Čas ulova = čas, v katerem je bila riba kupljena

... = ni navedeno ribolovno območje

SO = standardni odmik se nanaša na variiranje meritev enega vzorca ribe iste vrste

Opredelitev ribolovnega območja:

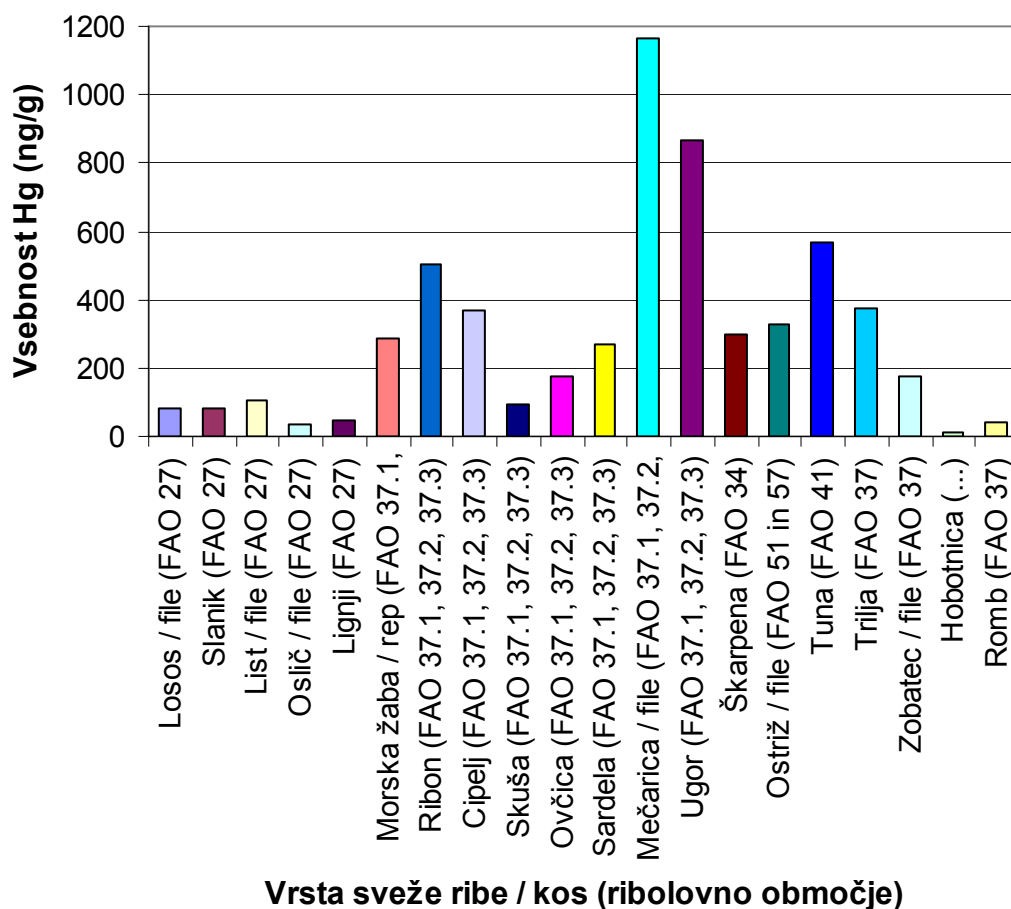
FAO 27 = severnovzhodni Atlantik (brez Baltskega morja)

FAO 34 = centralno-vzhodni Atlantik

FAO 37 = Sredozemsko morje; 37.1. (Z Mediteran), 37.2. (Centralni Mediteran), 37.3 (V Mediteran)

FAO 41 = južnozahodni Atlantik

FAO 51 in 57 = Indijski ocean



Slika 5: Shematski prikaz vsebnosti živega srebra v svežih ribah iz istega ribolovnega območja

Iz preglednice 16 in slike 5 je razvidno, da se vsebnost živega srebra v 37 vzorcih svežih rib giblje v območju od 12 do 1164 ng/g. Veliko vzorcev svežih rib (38 %) vsebuje manj kot 100 ng Hg/g. 33 % vsebuje od 100 – 350 ng Hg/g, 27 % svežih rib pa vsebuje več kot 350 ng Hg/g.

Rezultati ne kažejo dobrega ujemanja v vsebnosti živega srebra v svežih ribah iz istih ribolovnih območjih, ulovljenih v različnem časovnem obdobju, razen v ribolovnem območju FAO 27, kjer je ujemanje dobro. Največje nihanje v vsebnosti živega srebra je opaziti pri filejih osliča, ribonu, ciplju, ovčici, sardeli, škarpeni, ostrižu in pri zobatcu, pri katerih se vsebnost živega srebra vidno povečuje od aprila do junija. Pri morski žabi in tuni pa je vsebnost Hg največja v maju, v juniju pa izrazito manjša. Pri slaniku, skuši in trliji se, v primerjavi z mesecem aprilom, v maju in juniju pojavlja trend zmanjšanja vsebnosti živega srebra. Največjo razliko v vsebnosti živega srebra smo dobili pri tuni, saj se giblje od $1107 \pm 86,8$ ng Hg/g v mesecu maju do $162 \pm 17,0$ ng Hg/g v mesecu juniju.

Prva ugotovitev je, da se vsebnosti živega srebra med posameznimi vrstami rib razlikujejo predvsem zaradi različnih lokacij ribolovnih območij. V povprečju imajo najvišje vsebnosti Hg ribe, ki so bile ulovljene v Sredozemskem morju. Najnižje vsebnosti Hg v povprečju pa imajo ribe, ki so bile ulovljene v severnovzhodnem Atlantiku.

Prav tako je vsebnost Hg odvisna tudi od starosti ribe in njene velikosti. Starejša je riba, dlje časa bioakumulira Hg (Khansari in sod., 2003).

Prav tako na vsebnost živega srebra vplivajo tudi sezonska nihanja, o katerih so poročali že hrvaški znanstveniki, ki so proučevali vsebnost živega srebra v mišičnih tkivih morskih rib v poletnem in zimskem obdobju. Iz njihove raziskave je razvidno, da v zimskem obdobju vsebnost Hg v mišičnih tkivih rib občutno narašča, medtem ko v poletnem obdobju narašča do meseca aprila ali maja, nato pa se nekoliko zmanjša v mesecu juniju (Odžak in sod., 2004).

Široko območje v vsebnosti živega srebra se lahko pojavi tudi zaradi vzorčenja. Pri večjih ribah, kjer smo imeli na voljo le manjši kos ribje mišičnine (file ali rep ribe), verjetno ne dobimo tako reprezentativnega rezultata o vsebnosti živega srebra v ribi kot pri manjših ribah, kjer smo uporabili celotno ribjo mišičnino (Khansari in sod., 2003).

Namen naše naloge ni bil proučevati nihanja koncentracij živega srebra v določenih ribolovnih območjih, zato način vzorčenja ni bil najbolj primeren. Za primerjavo bi namreč morali vzorčiti večje število rib enake velikosti, da bi lahko ugotavljali sezonske razlike. Sklepamo lahko, da so te razlike zgolj naključne, vsekakor pa bi temu morali posvetiti več pozornosti pri nadaljnjem proučevanju.

4.1.2 Vsebnost živega srebra v svežih ribah z različnim načinom prehranjevanja

Preglednica 17: Vsebnost živega srebra v svežih ribah z različnim načinom prehranjevanja

Št. Vz.	Vrsta sveže ribe / kos	Vsebnost Hg (ng/g) — $\bar{x} \pm SO$	Način prehranjevanja / — $\bar{x} \pm SO$	
82	Oslič / file	35,7 ± 3,3	A 390,3 ± 25,2	
89		41,8 ± 3,9		
115		366 ± 5,9		
83	Lignji	46,5 ± 2,1		
87	Morska žaba / rep	71,2 ± 3,5		
106		668,0 ± 11,7		
120		125,0 ± 6,9		
118	Mečarica / file	1164,0 ± 120,0		
79	Tuna	438,0 ± 6,4		
103		1107,0 ± 86,8		
119		162,0 ± 17,0		
91	Trlja	504,0 ± 41,0		
129		249,0 ± 6,6		
84	Ugor	864,0 ± 60,9		
85	Hobotnica	12,0 ± 1,4		
80	Losos / file	34,2 ± 3,0		B 167,5 ± 9,8
112		101,5 ± 8,2		
94	Slanik	85,0 ± 5,3		
122		81,6 ± 5,2		
81	List / file	13,9 ± 1,7		
99		24,4 ± 2,3		
117		66,0 ± 0,1		
98	Brancin	223,3 ± 9,9		
125		137,4 ± 7,3		
102	Orada	302,0 ± 16,8		
113		261,5 ± 3,6		
104	Ovčica	142,0 ± 9,9		
128		210,0 ± 7,7		

Preglednica 17: Nadaljevanje tabele

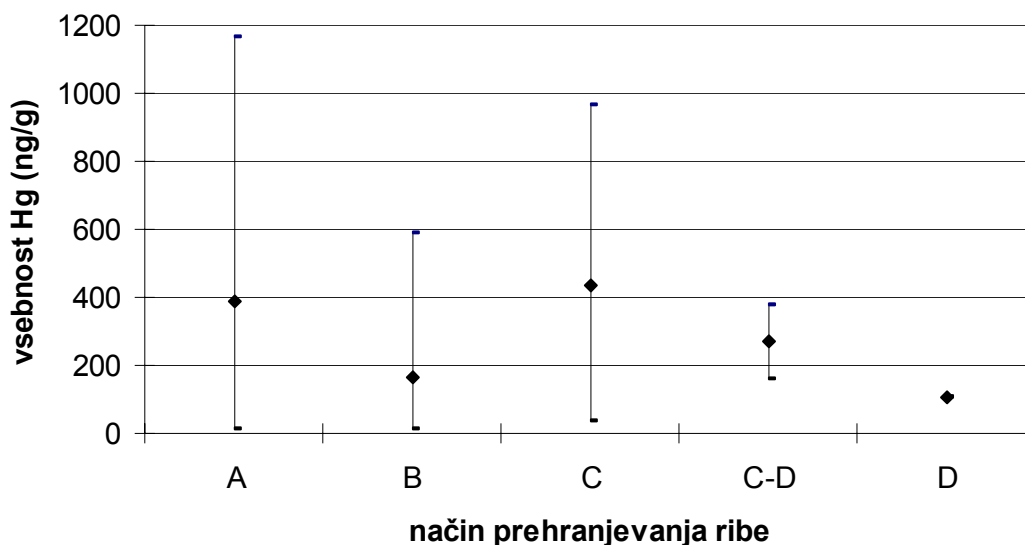
Št. Vz.	Vrsta sveže ribe / kos	Vsebnost Hg (ng/g) — $\bar{x} \pm SO$	Način prehranjevanja / — $\bar{x} \pm SO$	
88	Škarpena	231,0 ± 7,4		
127		371,0 ± 19,4		
95	Postrv / file	19,9 ± 3,3		
116		325,8 ± 12,8		
96	Ostriž / file	71,8 ± 22,1		
110		587,0 ± 35,9		
100	Zobatec / file	45,5 ± 1,9		
111		308,0 ± 28,3		
86	Romb	42,3 ± 2,5		
92	Ribon	38,0 ± 8,1		C 436,3 ± 16,9
121		964,0 ± 27,7		
93	Cipelj	173,0 ± 2,1		
109		570,0 ± 30,0		
108	Sardela	159,0 ± 6,6	C-D 268,5 ± 12,7	
114		378,0 ± 18,7		
97	Skuša	107,0 ± 3,9	D 107,0 ± 3,9	

Legenda:

SD = standardna deviacija

Način prehr. = kako se riba prehranjuje

- A = prehranjuje se z večjimi ribami, je predator
- B = prehranjuje se z ribicami, raki, školjkami, glavonožci
- C = prehranjuje se z rastlinsko hrano, je rastlinojed
- D = prehranjuje se s planktonom



Način prehranjevanja = kako se riba prehranjuje

- A = prehranjuje se z večjimi ribami, je predator
- B = prehranjuje se z ribicami, raki, školjkami, glavonožci
- C = prehranjuje se z rastlinsko hrano, je rastlinojed
- D = prehranjuje se s planktonom

Slika 6: Shematski prikaz vsebnosti živega srebra v svežih ribah, ki se prehranjujejo na različne načine

Na sliki 6 so prikazane vsebnosti živega srebra za skupino rib, glede na način prehranjevanja. Za vsako skupino je prikazana njena srednja vrednost in območje koncentracij te skupine.

Iz dobljenih rezultatov lahko opazimo nihanje v vsebnosti živega srebra med vrstami rib z različnim načinom prehranjevanja. Med ribe, ki so predatorji (skupina A) oziroma se prehranjujejo z večjimi ribami, spadajo lignji, morska žaba, mečarica, tuna in trlja, delno tudi ugor in hobotnica. Med temi predatorji imata najvišje vsebnosti živega srebra mečarica (1164 ± 120 ng Hg/g) in tuna ($1107 \pm 86,8$ ng Hg/g). Izstopa tudi ugor s $864 \pm 60,9$ ng Hg/g, saj ne spada čisto med predatorske ribe. Sledijo jim morska žaba, trlja in oslič, minimalne vsebnosti pa imajo lignji in hobotnica s 46 oziroma 12 ng Hg/g. Skupini B pripadajo ribe, ki se prehranjujejo z manjšimi ribicami, raki, školjkami in glavonožci. Sem spadajo losos, slanik, list, brancin, orada, ovčica, škarpna, postrv, ostrž, zobatec, oslič in romb, deloma tudi ribon. Med njimi imajo najvišje vsebnosti živega srebra ostrž, s $587 \pm 35,9$ ng Hg/g, škarpna, s $371 \pm 19,4$ ng Hg/g, in zobatec, s $308 \pm 28,3$ ng Hg/g. V skupino C, med rastlinojede ribe, spadata cipelj in sardela z razmeroma visokima vsebnostima živega srebra, in sicer cipelj s povprečno 372 ng Hg/g in sardela s povprečno 269 ng Hg/g. Ribon s $964 \pm 27,7$ ng Hg/g ima presenetljivo visoko vsebnost živega srebra, kar je mogoče razlagati, da je bila ta riba ulovljena v mesecu juniju, ko so višje vsebnosti živega srebra v ribah in da je bila po vsej verjetnosti to starejša riba, ki s

starostjo biokoncentrira višje vsebnosti živega srebra, kar navajajo tudi v literaturi (Andersen in Depledge, 1997). Večje vsebnosti Hg v ribah iz skupine C si je mogoče razlagati tudi glede na lokacijo ribe oziroma njenega porekla. Vse ribe iz te skupine so iz Hrvaške, Sredozemlje pa je znano po povišanih koncentracijah Hg zaradi povišanega ribolovnega ozadja in človeške delavnosti. Tu ima velik pomen Tržaški zaliv, ki je preko reke Idrijce onesnažen zaradi idrijskega rudnika. V skupino D, to so ribe, ki se prehranjujejo s planktonom, pa spada skuša s 78 – 107 ng Hg/g. Iz tega lahko sklepamo, da največje vsebnosti živega srebra pripadajo predatorskim ribam, kot sta mečarica in tuna, najmanjše vsebnosti pa lahko pripišemo ribam na najnižjem trofičnem nivoju, kot so losos, ovčica in skuša. Rezultati so primerljivi z literaturo, kjer navajajo, da imajo največje vsebnosti Hg mesojede ribe, kot so morski pes, mečarica in tuna, sledijo vrste na nižjem trofičnem nivoju, ki so omnivorne, in ne nazadnje še herbivorne vrste, ki se prehranjujejo samo z rastlinjem. Znano je, da tudi med istimi vrstami rib prihaja do nihanj v vsebnosti Hg, kot na primer pri tuni, pri kateri skipjack tuna vsebuje najmanjše vsebnosti Hg, največje vsebnosti pa tuna albacore (Andersen in Depledge, 1997). Razlike je mogoče iskati v dolžini življenjskega cikla ribe.

4.1.3 Vsebnost živega srebra v svežih gojenih in ulovljenih ribah

Preglednica 18: Vsebnost živega srebra v svežih gojenih in ulovljenih ribah

Št. Vzorca	Vrsta sveže ribe	Latinsko ime	Vsebnost Hg (ng/g)	SO	Skupna vsebnost Hg $\bar{x} \pm SO$	Ulov
79	Tuna	<i>Thunnus thynnus</i>	438	6,4	773 ± 47	Ulovljene na prostem
103			1107	86,8		
80	Losos, file	<i>Salmo salar</i>	34,2	3	34 ± 3	
82	Oslič, file	<i>Gadus morhua</i>	35,7	3,3	162 ± 6	
89			41,8	3,9		
90			242	6,4		
115			366	5,9		
123			125	12,7		
83	Lignji, mediteranski	<i>Lolligo vulgaris</i>	46,5	2,1	46 ± 2	
84	Ugor	<i>Conger conger</i>	864	60,9	864 ± 61	
85	Hobotnica, Mariva d.o.o.	<i>Octopus vulgaris</i>	12,0	1,40	12 ± 2	
86	Romb	<i>Psetta maxima</i>	42,3	2,50	42 ± 3	
87	Morska žaba, rep	<i>Lophius piscatorius</i>	71,2	3,5	288 ± 8	
106			668	11,7		
120			125	6,9		
88	Škarpena	<i>Scorpaena scrofa</i>	231	7,4	301 ± 13	
127			371	19,4		
91	Trlja, file	<i>Mullus barbatus</i>	504	41,0	377 ± 24	
129			249	6,6		
92	Ribon	<i>Pagellus erythinus</i>	38,0	8,10	501 ± 18	
121			964	27,7		
93	Cipelj	<i>Mugil chepalus</i>	173	2,1	743 ± 16	
109			570	30,0		
122	Slanik	<i>Clupea harenges</i>	81,6	5,20	83 ± 5,3	
94			85,0	5,3		
96	Ostriž, file	<i>Lates niloticus</i>	71,8	22,1	329 ± 29	
110			587	35,9		
97	Skuša	<i>Scomber scomber</i>	107	3,9	93 ± 3	
126			78,8	2,4		
99			24,4	2,3		
117	List, file	<i>Solea vulgaris</i>	66,0	0,1	45 ± 2	
100			45,5	1,9		
	Zobatec, file	<i>Dentex dentex</i>			177 ± 15	

Preglednica 18: Nadaljevanje tabele

Št. Vzorca	Vrsta sveže ribe	Latinsko ime	Vsebnost Hg (ng/g)	SO	Skupna vsebnost Hg $\bar{x} \pm SO$	Ulov
111	Zobatec, file	<i>Dentex dentex</i>	308	28,3		
104	Ovčica	<i>Lithognathus mormyrus</i>	142	9,9	176 ± 9	
128			210	7,7		
105	Kovač	<i>Zeus faber</i>	40,9	6,00	41 ± 6	
107	Orada	<i>Sparus aurata</i>	196	8,9	196 ± 9	
108	Sardela	<i>Clupea pilchardus</i>	159	6,6	269 ± 13	
114			378	18,7		
118	Mečarica, file	<i>Xiphias gladius</i>	1164	120	1164 ± 120	
40	Ameriška postrv, file	<i>Onchorhynchus mykiss</i>	44,9	1,8	45 ± 2	gojene
81	List panga, file	<i>Platichthys flesus</i>	13,9	1,7	14 ± 2	
95	Postrv, file	<i>Salmo trutta</i>	19,9	3,3	173 ± 8	
116			325,8	12,8		
98	Brancin	<i>Dicentrarchus labrax</i>	223,3	9,9	180 ± 9	
125			137,4	7,3		
101	Losos	<i>Salmo salar</i>	31,5	1,6	67 ± 5	
112			101,5	8,2		
102	Orada	<i>Sparus aurata</i>	302	16,8	288 ± 12	
113			261,5	3,6		
124			300,4	15,3		

V preglednici 18 o vsebnosti živega srebra v svežih gojenih in ulovljenih ribah je razvidno, da ulovljene ribe predstavljajo 80 % -ni delež z večjimi vsebnostmi živega srebra v primerjavi z gojenimi ribami.

Iz dobljenih rezultatov lahko sklepamo, da so v večini ribjih vrst večje vsebnosti živega srebra v ulovljenih ribah, v gojenih so manjše za faktor dva ali več, kar je vrstno specifično.

Direktna primerjava v splošnem ni možna, saj je število rib, ki so gojene, relativno majhno.

4.2 VSEBNOST ŽIVEGA SREBRA V RIBJIH IZDELKIH

4.2.1 Vsebnost živega srebra v konzerviranih ribah, ki se prehranjujejo na različen način

Preglednica 19: Vsebnost živega srebra v konzerviranih ribah z različnimi načini prehranjevanja

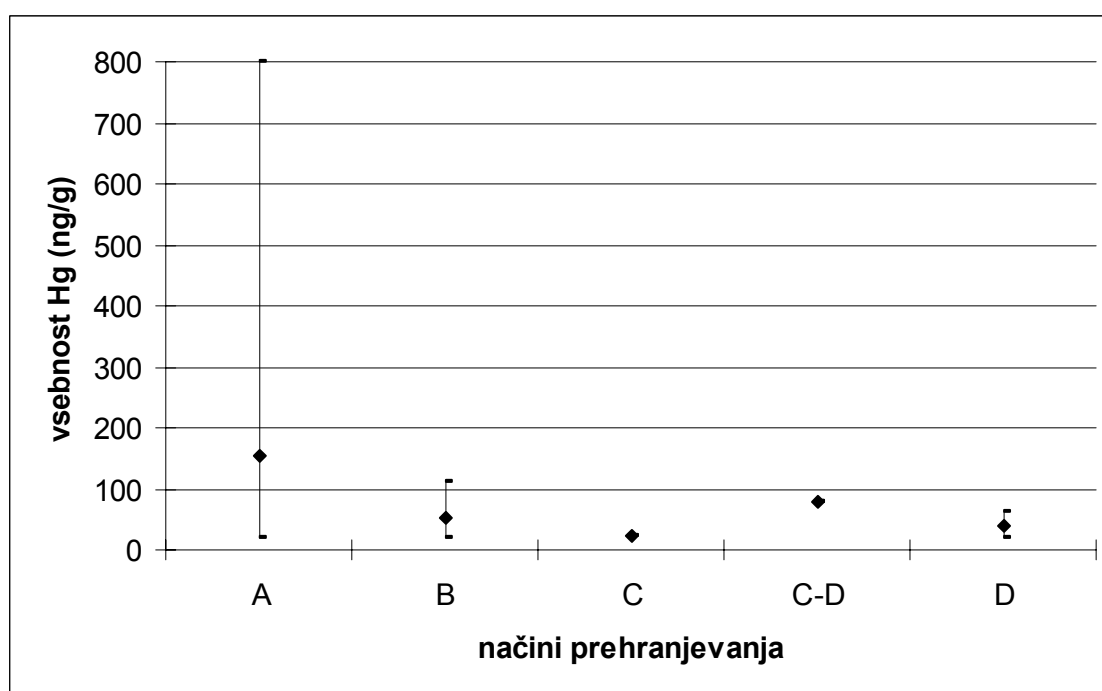
Št. vz.	Naziv izdelka	Hg-T (ng/g)	SO	Način prehr./ $\bar{x} \pm SO$
1	Tuna, kosi tunov v rastlinskem olju	155	4	A 153,4 ± 160,9
5	Rio mare, tunina v ekstra deviškem oljčnem olju	208	35	
6	Izbrana tunina, koščki tunine v rastlinskem olju	30,7	3,5	
7	Safcol tuna v paradižnikovi omaki po mediteransko	21,7	3,5	
8	Koščki tune v paradižnikovi omaki	62,8	3,4	
9	Koščki tune v sončničnem olju	105	3	
10	Eco+ koščki tunine v paradižnikovi omaki	54,6	3,1	
11	Tunina v sončničnem olju	180	7	
14	Golden princess, tuna v rastlinskem olju	54,9	4,3	
15	Tuna listao v naravnem soku	147	3	
16	Rio mare, tunina v naravnem soku	36,1	10,9	
17	Rio mare, tuna v olivnem olju	200	12	
19	Palmera, tunina v olivnem olju	262	20	
20	Blue mar, kosi tune v rastlinskem olju	75,9	15,7	
21	Vecchio molo, tunina v oljčnem olju	216	9	
23	Safcol, kosi tuna v lastnem soku	27,7	2,7	
24	Safcol, kosi tuna v oljčnem olju	21,9	1,5	
25	Tunina albacore v naravnem soku	266	11	
26	Eco+ mehiška solata s tunino	147	12	
27	Rio mare, tunina v oljčnem olju z origanom	800	21	
28	Rio mare, fileti tune v oljčnem olju	37,1	2,6	
29	Rio mare, tuna v olivnem olju z rožmarinom	220	13	
30	Rio mare, fižol s tunino	67,6	3,5	
31	Golden Queen, tuna v rastlinskem olju	19	1	
36	Peche Ocean, koščki tune v sončničnem olju	103	24	
37	Rio mare, koščki tune v olivnem olju	133	5	
39	Rio mare, kosi tunine v naravnem soku	158	8	
41	Calvo, sicilijanska solata	89,9	3,9	
42	Rio mare, koščki tune v oljčnem olju	230	7	
43	Rio mare, koščki tune v naravnem soku	238	31	
45	Janus, tunina v oljčnem olju	349	5	
46	Rio mare, tunina v oljčnem olju z inčuni in kaprami	858	19	
47	Gran Gusto, koščki tune v rastlinskem olju	113	10	

Preglednica 19: Nadaljevanje tabele

Št. vz.	Naziv izdelka	Hg-T (ng/g)	SO	Način prehr./ $\bar{x} \pm SO$
48	Mariva, fileti tune v oljčnem olju	111	6	A
52	Gran Gusto, tuna v paradiž. soku z zelenjavo	73	21	
59	Safcol, kosi tuna z mehiško omako	26,5	3,2	
60	Calvo, solata s tunino v jerebičji omaki	63,6	6,2	
61	Rio mare, grah s tunino	227	37	
62	Gran Gusto, kosi tune v rastlinskem olju	81,7	5,1	
63	Antipasto, zelenjava s tunom	121	8	
64	Tuna Pikantina, zelenjava s tuno v pikantni omaki	82,5	4,7	
65	Gran Gusto, koščki tune v lastnem soku	53,7	4,4	
66	Gran Gusto, kosi tune v lastnem soku	23,5	0,8	
67	Calvo, solata od tune	118	4	
68	Calvo, sredozemska solata s tunino	97,9	3,4	
69	Calvo, rumenoplavuti tun v olivnem olju	137	11	
70	Calvo, tunina v oljčnem olju s česnom	215	13	
71	Calvo, tunina v oljčnem olju, z manj soli	157	16	
73	Spar, tuna s čebulo, grahom in paradiž. omako	30,9	2,2	
74	Spar, kosi tune v rastlinskem olju	317	8	
75	Spar, kosi tune v rastlinskem olju	200	10	
33	Eva, oslič na lovski način	111	3	B 53,1± 40,6
38	Safcol, kosi lososa z zelenjavo	21	3	
58	Spar, rezani slanikovi fileti v paradižnikovi omaki	51,1	1,2	
72	Odysee, losos v lastnem soku	29,4	0,4	
12	Zviti slani fileti inčunov v rastlinskem olju	22,1	3,6	C 22,1± 3,6
13	Eva, sardine z limono v rastlinskem olju	128,8	3,5	C - D 77,3 ± 41,4
22	Peche ocean, sardine v rastlinskem olju	3,9	1,5	
32	Eva, sardine z zelenjavo	95	4	
34	Eva, sardine v rastlinskem olju	98,3	5,2	
49	Mirela, sardela s fižolom v paradižnikovi omaki	56,6	2,9	
50	Adria, sardine v zelenjavni omaki	47,3	6,9	
51	Adria, sardine v rastlinskem olju	120	6	
53	Gran Gusto, sardine v rastlinskem olju	114	8	
54	Spar, sardine v rastlinskem olju	88,8	4,5	
57	Evita, sardele v rastlinskem olju	94,1	3,1	
76	Coeur, sardine v semenskem olju	75,4	2,1	
77	Gran Gusto, sardine v paradižnikovi omaki	5,6	0,9	

Preglednica 19: Nadaljevanje tabele

Št. vz.	Naziv izdelka	Hg-T (ng/g)	SO	Način prehr./ $\bar{x} \pm SO$
2	Fileti skuše, lastni sok	45,7	3,1	D 40,0 ± 13,2
4	Eco+ skušini fileji s petimi aromati in belim vinom	42	4	
18	Fileti skuše v semenskem olju	62,7	3,1	
35	Simpex, fileti skuše v olivnem olju	41,6	3,2	
44	Provencale, zelenjava s skušo	29,5	2,6	
55	Picnic, zelenjava s skušo	20,8	1,7	
56	Izola Brand, skuša z zelenjavo	37,8	1,1	



Legenda:

Načini prehranjevanja = kako se riba prehranjuje

- A = prehranjuje se z večjimi ribami, je predator (tuna)
- B = prehranjuje se z ribicami, raki, školjkami, glavonožci (oslič, losos, slanik)
- C = prehranjuje se z rastlinsko hrano, je rastlinojed (inčuni)
- C – D = prehranjuje se z rastlinsko hrano in s planktonom (sardele)
- D = prehranjuje se s planktonom (skuša)

Slika 7: Shematski prikaz vsebnosti živega srebra v konzerviranih ribah glede na različne načine prehranjevanja

Iz preglednice 19 vidimo, da vsebnosti živega srebra v konzerviranih ribah nihajo glede na različne načine prehranjevanja. V skupino A (predatorji) spadata tuna in oslič. Vsebnosti živega srebra v konzervirani tuni nihajo od 22 do 979 ng Hg/g, v

konzerviranem osliču pa je vsebnost živega srebra $111 \pm 3,37$ ng Hg/g. Od konzervirane tune izstopajo trije izdelki, in sicer tuna z inčuni in kaprami, tuna z origanom ter tuna v sredozemski solati (vsi trije so italijanskega proizvajalca), ki imajo vsebnost živega srebra čez 800 ng/g. Od vseh vzorcev iz skupine A jih 15 % vsebuje višje koncentracije živega srebra od 250 ng/g. 48 % izmed vzorcev konzervirane tune ima vsebnost živega srebra od 100 do 250 ng/g. 37 % vzorcev konzervirane tune pa vsebuje manj kot 100 ng Hg/g.

V skupino B spadata losos in slanik. Konzervirani losos vsebuje 21–29 ng Hg/g, konzervirani slanikovi fileti pa 51 ng Hg/g.

V skupino C – D spadajo konzervirane sardine z različnimi dodatki (zelenjava, olje, lastni sok). Tu vsebnosti živega srebra nihajo od 4 do 129 ng Hg/g.

V skupino D spadajo konzervirane skuše in fileti inčunov, pri katerih vsebnosti živega srebra nihajo od 21 do 63 ng Hg/g.

Iz rezultatov je razvidno, da se vsebnosti Hg v konzerviranih vzorcih rib razlikujejo glede na način prehranjevanja ribe. Največje vsebnosti Hg vsebujejo predatorske ribe iz skupine A, najmanjše vsebnosti Hg pa imajo ribe iz skupine D, ki se prehranjujejo s planktonom. So tudi izjeme, kot na primer vzorec lososa iz B skupine vsebuje manj Hg kot pa vzorec skuše iz D skupine. To lahko razlagamo tako, da starejše in večje ribe lahko vsebujejo več živega srebra, kot pa jo imajo manjše in mlajše ribe, saj so starost, velikost in vsebnost Hg v ribi med seboj pozitivno povezane količine.

V skupni primerjavi svežih in konzerviranih rib glede na način prehranjevanja opazimo, da med njimi obstajajo pozitivne zakonitosti. Največje vsebnosti živega srebra imajo sveže in konzervirane ribe iz skupine A, torej tiste, ki so predatorji, kot je npr. tuna. Tu vsebnosti Hg nihajo od 42 do 1164 ng Hg/g v svežih in 19 do 858 ng Hg/g v konzerviranih ribah. Nižje vsebnosti živega srebra imajo ribe iz B skupine. V svežih ribah vsebnosti nihajo od 14 do 587 ng Hg/g, v konzerviranih ribah pa od 21 do 111 ng Hg/g. Vzorci iz C skupine so nekoliko primerljivi z B skupino, saj nismo imeli na voljo dovolj različnih vzorcev. Tako pri svežih ribah vsebnosti živega srebra nihajo od 38-964 ng Hg/g, v konzerviranih ribah pa smo izmerili vsebnost le v vzorcu inčunov, in sicer 22 ng Hg/g. Še manjši koncentracijski razpon smo ugotovili za skupino C-D, kjer v svežih sardelah vsebnosti živega srebra nihajo od 159 do 378 ng Hg/g, v konzerviranih sardelah pa od 4-129 ng Hg/g. Najmanjše povprečne vsebnosti živega srebra pripadajo skupini D, kjer je v sveži skuši 107 ng Hg/g, v konzerviranih skušah pa 40 ng Hg/g, v območju od 21 do 63 ng Hg/g.

4.2.2 Vsebnost živega srebra v ribjih izdelkih različnih lotov istega proizvajalca

V preglednici 20 in na sliki 6 je predstavljena vsebnost živega srebra v ribjih izdelkih različnih lotov, kar pomeni, da so bili izdelki izdelani v različnih časovnih obdobjih in imajo zato različen lot (serijsko številko izdelka). S primerjavo enakih izdelkov z različnimi loti smo želeli ugotoviti, kako niha vsebnost živega srebra v ribjih izdelkih istih proizvajalcev.

Preglednica 20: Vsebnost živega srebra v ribjih izdelkih istih proizvajalcev, a različnih lotov

Št. Vz.	Naziv izdelka	Vsebnost Hg (ng/g) $\bar{x} \pm SO$	Lot	Proizvajalec / država
3	Sardine v rastlinskem olju	96,2 ± 3,8	PA 1	Eva / Hrvaška
13		128,8 ± 3,5	3Z11 0205	
34		98,3 ± 5,2	Z09 0205	
	\bar{x} (interval) n = 3	108 (96 - 129)		
6	Koščki tune v rastlinskem olju	30,7 ± 3,5	352C0E 397H9	Golden Princess / Tajska
14		54,9 ± 4,3	352F0E 3D6C14	
	\bar{x} (interval) n = 2	43 (31 - 51)		
47	Kosi tune v rastlinskem olju	113,0 ± 9,9	MM22KGO F18BD	Gran Gusto / Tajska
62		81,7 ± 5,0	MNI AC00KA 6ML 1L	
	\bar{x} (interval) n = 2	97 (82 - 113)		
74	Kosi tune v rastlinskem olju	317 ± 7	L K351	.. / Španija
75		200 ± 10	L K349	
	\bar{x} (interval) n = 2	259 (200 - 317)		
1	Kosi tune v rastlinskem olju	155 ± 3	L-124-D-04	Bluemar/ Španija
20		75,9 ± 15,7	P0102AA 16C03	
	\bar{x} (interval) n = 2	115 (76 - 155)		
5	Tuna v olivnem olju	208 ± 35	L3127 B L3280 N L 4071 N	Rio mare/ Italija
17		200 ± 12	L4099 B L4030 B L4099 B	
28		37,1 ± 2,6	L 4087	
37		133 ± 5		
	\bar{x} (interval) n = 4	145 (37 - 208)		

Preglednica 20: Nadaljevanje tabele

Št. Vz.	Naziv izdelka	Vsebnost Hg (ng/g) $\bar{x} \pm SO$	Lot	Proizvajalec / država
9	Koščki tune v sončničnem olju	105 ± 3	A071208B TPM0P	Peche Ocean / Francija
11		180 ± 7	A070521B TPE0W	
	\bar{x} (interval) n = 2	143 (105 - 180)		
16	Tuna v naravnem soku	36,1 ± 10,9	B L4279N	Rio mare/ Italija
43		238 ± 31	C01675 11D	
	\bar{x} (interval) n = 2	137 (36 - 238)		
66	Koščki tune v naravnem soku	23,5 ± 0,8	MM 22KCW B2KCD	Gran Gusto / Tajska
65		53,7 ± 4,4	CNI ASBBKA 6DB1N	
	\bar{x} (interval) n = 2	39 (24 - 54)		
67	Sredozemska solata s tunino	118 ± 4	LK345	Calvo / Španija
68		979 ± 3	LK195	
	\bar{x} (interval) n = 2	549 (118 - 979)		
63	Tuna z zelenjavo	121 ± 8	L040827	Delamaris / Slovenija
64		82,5 ± 4,7	L041117	
	\bar{x} (interval) n = 2	102 (83 - 121)		
44	Skuša z zelenjavo	29,5 ± 2,6	L040730	Delamaris / Slovenija
55		20,8 ± 1,7	L050106	
56		37,8 ± 1,1	L041207	
	\bar{x} (interval) n = 3	29 (21 - 39)		

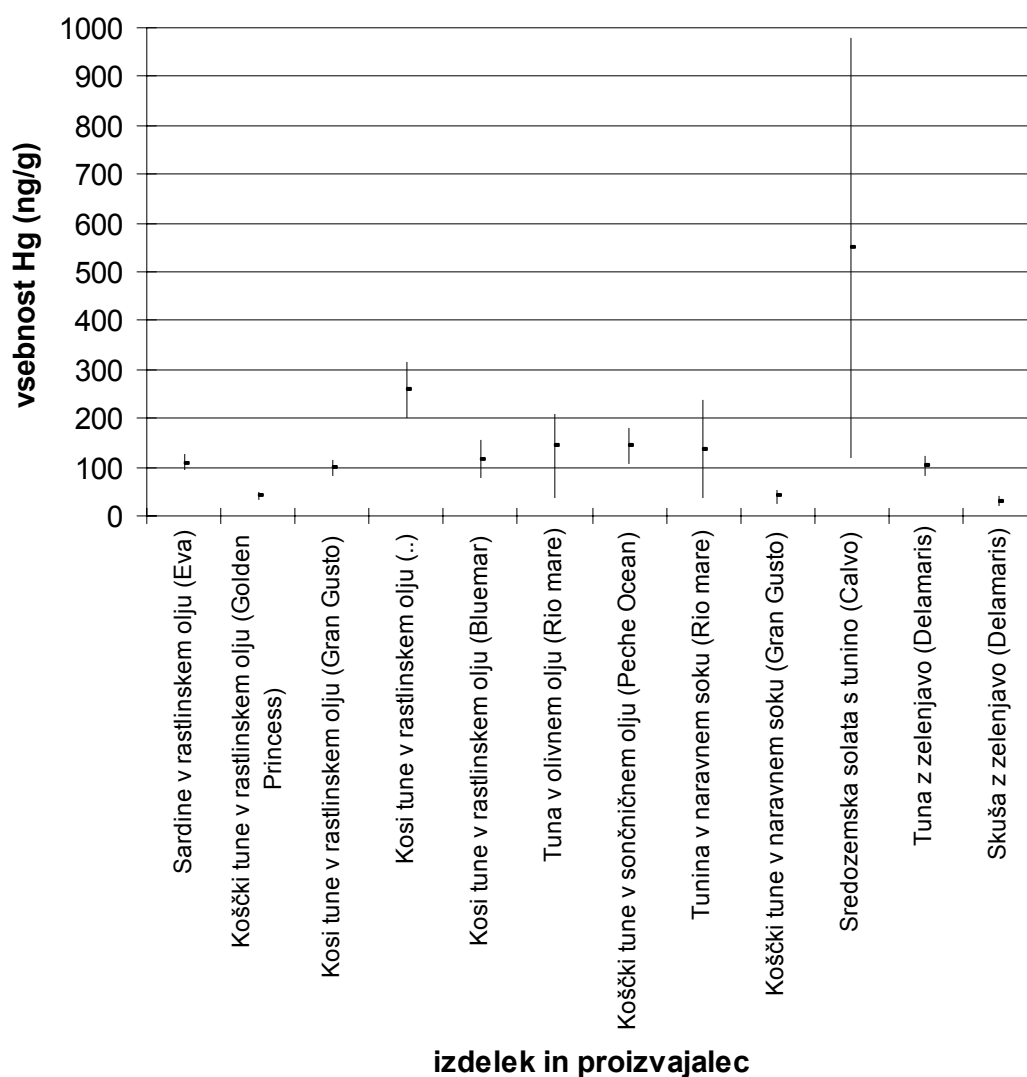
Iz dobljenih rezultatov opazimo nihanje v vsebnosti živega srebra med istimi ribjimi izdelki različnih lotov. Najmanjša nihanja v vsebnosti živega srebra so v ribjem izdelku skuša z zelenjavo proizvajalca Delamaris iz Slovenije. Vsebnosti nihajo od 20,8 do 37,8 ng Hg/g. Ponovljivi rezultati so tudi pri ribjih izdelkih proizvajalca Gran Gusto iz Tajske v izdelku koščki tune v naravnem soku, od 23,5 do 53,7 ng Hg/g. Prav tako tudi v izdelku koščki tune v rastlinskem olju proizvajalca Golden Princess iz Tajske, od 30,7 do 50,9 ng Hg/g, in v izdelku sardine v rastlinskem olju proizvajalca Eva iz Hrvaške.

Večja nihanja smo opazili v izdelku kosi tune v rastlinskem olju proizvajalca Gran Gusto iz Tajske (81,7 – 113 ng Hg/g), v izdelku kosi tune v rastlinskem olju nekega španskega proizvajalca (200 – 317 ng Hg/g), v istem izdelku proizvajalca Bluemar iz Španije (75,9 – 155 ng Hg/g), v izdelku koščki tune v sončničnem olju proizvajalca Peche Ocean iz Francije (105 – 180 ng Hg/g), v izdelku koščki tune v naravnem soku proizvajalca Gran Gusto iz Tajske (23,5 – 53,7 ng Hg/g) in v slovenskem izdelku proizvajalca Delamaris tuna z zelenjavo (82,5 – 121 ng Hg/g).

Največja nihanja v vsebnosti živega srebra pa smo opazili v izdelkih tuna v olivnem olju italijanskega proizvajalca Rio mare (37,1 – 208 ng Hg/g), tuna v naravnem soku (36,1 –

238 ng Hg/g) istega proizvajalca ter v izdelku sredozemska solata s tunino španskega proizvajalca Calvo (118 – 979 ng Hg/g).

Majhna nihanja v vsebnosti živega srebra so posledica nespremenljivega vodnega območja, majhnih migracij rib ter nespremenjenega metabolizma in nespremenjenih prehranskih navad (Fitzgerald in Mason, 1997). Večje nihanje v vsebnosti pa lahko kaže na to, da proizvajalci ribjih konzerv dobavljajo ribe iz različnih ribolovnih območij.



Slika 8: Shematski prikaz vsebnosti živega srebra v ribjih izdelkih različnih lotov

Vsebnosti živega srebra na sliki 8 so predstavljene s celotnim območjem koncentracij določenega vzorca in z njenimi povprečnimi vrednostmi.

4.2.3 Vsebnost živega srebra v ribjih izdelkih enake obdelave, a različnih proizvajalcev

Iz podatkov v preglednici 21 in na sliki 7 lahko vidimo, da vsebnost živega srebra niha v enakih ribjih izdelkih različnih proizvajalcev. Vsebnost živega srebra v petih vzorcih tune v rastlinskem olju niha od 19 do 317 ng Hg/g, s povprečno vrednostjo 121 ng Hg/g. V vzorcu tuna v olivnem olju vsebnosti Hg nihajo od 21,9 do 349 ng Hg/g, pri čemer najmanjšo vsebnost Hg najdemo pri tajskem proizvajalcu Safcol. V vzorcu tuna v naravnem soku vsebnosti prav tako nihajo od 27,7 do 266 ng Hg/g, prav tako tajskega proizvajalca Safcol. Tudi v naslednjem vzorcu tuna v paradižnikovi omaki so vsebnosti živega srebra najmanjše pri proizvajalcu Safcol iz Avstralije, vsebnosti pa nihajo od 21,7 do 72,6 ng Hg/g.

Najnižje vsebnosti Hg v sardinah v rastlinskem olju najdemo pri francoskem proizvajalcu Peche Ocean. V sardinah z zelenjavo hrvaškega proizvajalca so vsebnosti nekoliko višje, od 47,3 do 95 ng Hg/g. Nihajo tudi vsebnosti živega srebra v skušah z zelenjavo s povprečno vrednostjo 33 ± 9 ng Hg/g, z najvišjo vsebnostjo 49 ng Hg/g francoskega proizvajalca Eco+.

Vzorcev tune z dodatki med seboj ne moremo direktno primerjati, ker se razlikujejo po vrsti dodatkov, ki imajo skupno le to, da so rastlinskega izvora. Opazimo, da prisotnost različnih dodatkov različno vpliva na vsebnost živega srebra v vzorcih. Splošno lahko povemo, da prisotnost raznih začimbnih rastlin, kot so kapre in razne sredozemske začimbnice, ne vpliva na povečanje vsebnosti živega srebra v vzorcih, saj je Hg v začimbnih rastlinah prisoten v anorganski obliki in ga naš sistem analiznega postopka in detekcije ni zaznal. Povečane vsebnosti Hg so tako zaradi raznolikosti ribjih vrst. Visoko vsebnost živega srebra je najbolje opaziti v vzorcih tune z inčuni in kaprami italijanskega proizvajalca Rio mare, ki vsebujejo okrog $858 \pm 19,5$ ng Hg/g, tuna v naravnem soku istega proizvajalca pa le $36,1 \pm 10,9$ ng Hg/g. Največjo vsebnost živega srebra ima vzorec tune v sredozemski solati, ki vsebuje $979 \pm 3,41$ ng Hg/g, španskega proizvajalca Calvo, medtem ko tuna v olivnem olju istega proizvajalca Calvo vsebuje le $137 \pm 11,1$ ng Hg/g.

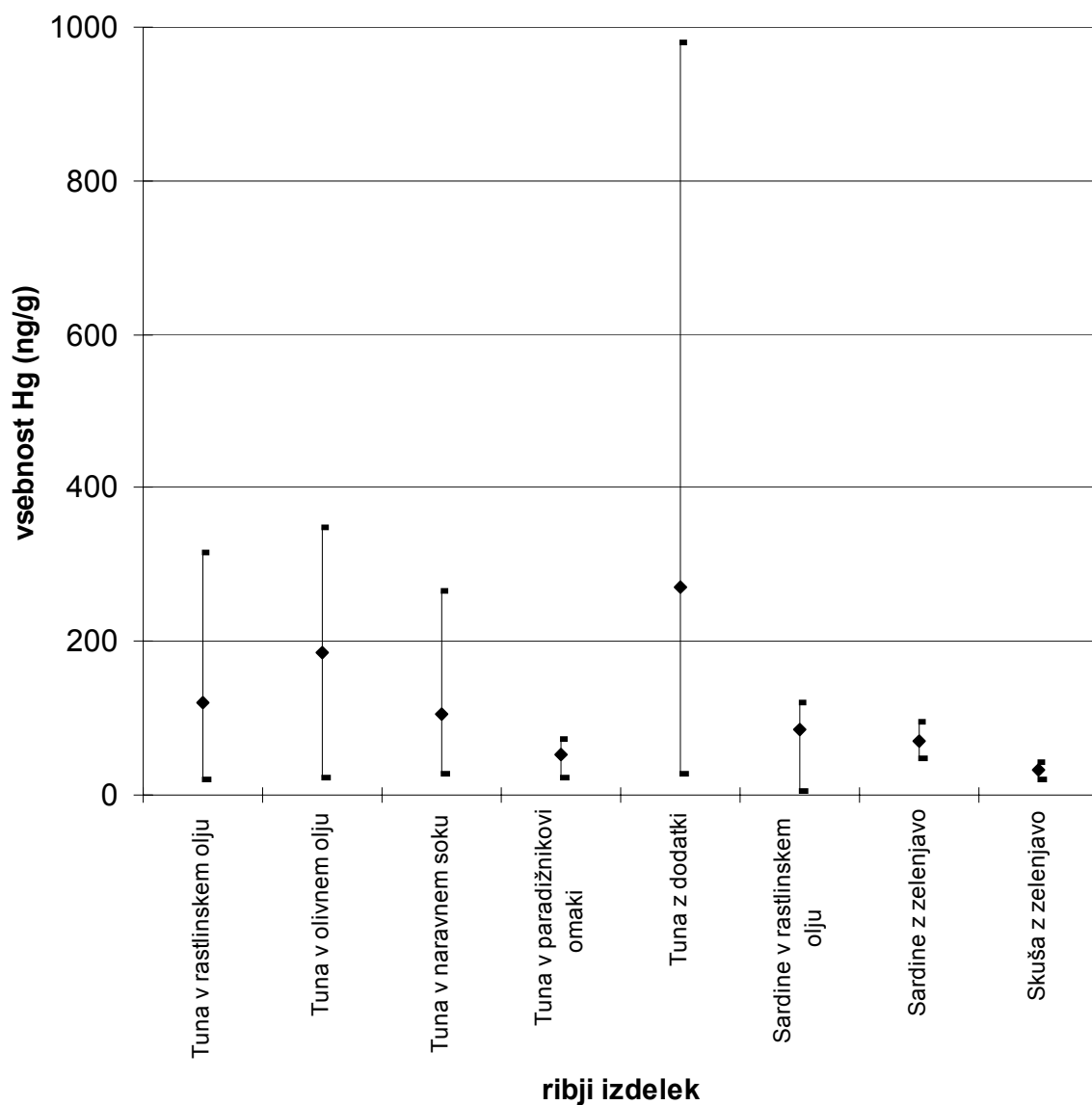
Preglednica 21: Vsebnost živega srebra v enakih ribjih izdelkih različnih proizvajalcev

Št. Vzorca	Naziv izdelka	Vsebnost Hg (ng/g)	Proizvajalec/ država
1	Tuna v rastlinskem olju	155 ± 4	Bluemar/ Španija
6		30,7 ± 3,5	Golden Princess/ Tajska
31		19,0 ± 0,5	Golden Queen/ Tajska
62		82 ± 5	Gran Gusto/ Tajska
74		317,1 ± 7,5	Gran Gusto/ Španija
	\bar{x} (interval) n = 5	121 (19 - 317) 5	
17	Tuna v olivnem olju	200 ± 12	Rio mare/ Italija
19		262 ± 20	Palmera/ Italija
21		216 ± 9	Vecchio molo/ Španija
24		21,9 ± 1,5	Safcol/ Tajska
45		349 ± 5	Janus/ Španija
48		111 ± 6	Mariva/ Italija
69		137 ± 11	Calvo/ Španija
	\bar{x} (interval) n = 7	185 (21,9 - 349) 7	
15	Tuna v naravnem soku	147 ± 3	Peche Ocean/ Francija
16		36 ± 11	Rio mare/ Italija
23		27,7 ± 2,7	Safcol/ Tajska
25		266 ± 11	Peche Ocean/ Francija
65		53,7 ± 4,4	Gran Gusto/ Tajska
	\bar{x} (interval) n = 5	106 (27,7 - 266) 5	
7	Tuna v paradižnikovi omaki	21,7 ± 3,5	Safcol/ Avstralija
8		62,8 ± 3,4	Peche Ocean/ Francija
10		54,6 ± 3,1	Eco+/ Francija
52		72,6 ± 2,1	Gran Gusto/ Francija
	\bar{x} (interval) n = 4	53 (21,7 - 72,6) 4	
26	Tuna z dodatki*	147 ± 12	Eco+/ Francija
30		67,6 ± 3,5	Rio mare/ Italija
46		858 ± 20	Rio mare/ Italija
59		26,5 ± 3,2	Safcol/ Avstralija
60		63,6 ± 6,2	Calvo/ Španija
61		227 ± 37	Rio mare/ Italija
64		82,5 ± 4,7	Delamaris/ Slovenija
68		979 ± 3	Calvo/ Španija
70		215 ± 13	Calvo/ Tajska
73		30,9 ± 2,2	Calvo/ Španija
	\bar{x} (interval) n = 10	270 (26,5 - 979) 10	
3	Sardine v rastlinskem olju	96,2 ± 3,8	EVA/ Hrvaška
22		3,9 ± 1,5	Peche Ocean/ Francija

Preglednica 21: Nadaljevanje tabele

Št. Vzorca	Naziv izdelka	Vsebnost Hg (ng/g)	Proizvajalec/ država
51		120 ± 6	Adrija/ Hrvaška
53		114 ± 8	Gran Gusto/ Tajska
54		88,8 ± 4,5	Gran Gusto/ Hrvaška
57		94,1 ± 3,1	Evita/ Hrvaška
	\bar{x} (interval) n = 6	86 (3,99 - 120) 6	
32	Sardine z zelenjavo	95 ± 4	EVA/ Hrvaška
50		47,3 ± 6,9	Adrija/ Hrvaška
	\bar{x} (interval) n = 2	71 (47,3 - 95) 2	
4	Skuša z zelenjavo	42 ± 4	Eco+/ Francija
56		37,8 ± 1,1	Delamaris/ Slovenija
55		20,8 ± 1,7	Delamaris/ Slovenija
44		29,5 ± 2,6	Delamaris/ Slovenija
	\bar{x} (interval) n = 4	33 (20,8 - 42) 4	

* - dodatki v vzorcih št. 26: mehiška solata; 30: fižol; 46: inčuni, kapre; 59: mehiška omaka; 60: jerebičja omaka; 61: grah; 64: pikantna omaka; 68: sredozemska solata; 73: čebula, grah, paradižnikova omaka; 70: česen



Slika 9: Shematski prikaz vsebnosti živega srebra v enakih ribjih izdelkih različnih proizvajalcev

Za vsak vzorec je prikazana povprečna vrednost Hg in območje koncentracij, od minimalne do maksimalne vrednosti.

4.2.4 Vsebnost živega srebra v deklariranih in nedeklariranih ribjih izdelkih

Pri pregledu deklaracije analiziranih vzorcev ribjih izdelkov smo ugotovili, da je samo 10-im vzorcem od 56 znano poreklo rib oziroma imajo ustrezno deklaracijo na izdelku. Vsebnosti živega srebra z znanim poreklom rib nihajo od 22 do 180 ng Hg/g. Najmanjše vsebnosti pripadajo vzorcu kosi tune v paradižnikovi omaki, z $21,7 \pm 3,5$ ng Hg/g, tajskega proizvajalca Safcol s tajskim poreklom ribe. Največje vsebnosti živega srebra pa opazimo v vzorcu tunine v sončničnem olju, z $180 \pm 6,6$ ng Hg/g, francoskega proizvajalca Peche Ocean s poreklom rib iz Slonokoščene obale. Na splošno lahko ugotovimo, da najmanjše vsebnosti živega srebra pripadajo vzorcem s tajskim poreklom rib, ki nihajo od 21,7 do 54,9 ng Hg/g, sledijo jim ribe iz Slonokoščene obale s povprečno 129,3 ng Hg/g, največje vsebnosti živega srebra pa pripadajo ribam s španskim poreklom, 155 ± 4 ng Hg/g.

V vzorcih z neznanim poreklom rib vsebnosti živega srebra nihajo od 3,9 ng Hg/g, francoskega proizvajalca, do 979 ng Hg/g, hrvaškega proizvajalca. Vsebnosti živega srebra se med deklariranim in nedeklariranim vzorcem tune v lastnem soku tajskega proizvajalca ne razlikujejo veliko. V deklariranem vzorcu je vsebnost $27,7 \pm 2,7$ ng Hg/g, v nedeklariranem vzorcu pa $53,7 \pm 4,4$ ng Hg/g. Opazimo lahko, da edino ribji izdelki italijanskega proizvajalca Rio mare in španskega proizvajalca Calvo vsebujejo nad 200 ng Hg/g. Ravno pri teh dveh proizvajalcih opazimo tudi največjo vsebnost živega srebra, in sicer 800 ± 21 pri Rio mare in 979 ± 3 ng Hg/g pri Calvo. Najmanjše vsebnosti živega srebra v nedeklariranem vzorcu pa opazimo v sardinah v rastlinskem olju in v sardinah v paradižnikovi omaki, povprečno $4,8 \pm 0,9$ ng Hg/g.

Sklepamo lahko, da vzorci tune, ki imajo deklarirano poreklo rib, vsebujejo manjše vsebnosti živega srebra, kot pa vzorci tune z nedeklariranim poreklom rib.

4.3 PRIMERJAVA REZULTATOV Z LITERATURO

Iz preglednice 22 vidimo, da je večina naših rezultatov v istem območju kot podatki iz literature. Opazimo, da so vsebnosti živega srebra, določene v nekaterih vzorcih z našo raziskavo, večje v primerjavi z raziskavami drugih znanstvenikov. Najbolj primerljive so vsebnosti v vzorcih mečarice, tune, postrvi, konzervirane tune in konzervirane sardine. V naši raziskavi je vsebnost živega srebra v mečarici 1164 ± 120 ng Hg/g, po literaturi vsebnosti nihajo od 340 do 1218 ng Hg/g. V naših vzorcih tune vsebnosti nihajo od 162 do 1107 ng Hg/g, po literaturi pa so vsebnosti živega srebra v tuni od 144 – 660 ng Hg/g. Vsebnosti živega srebra v vzorcih postrvi naše raziskave nihajo od 20 – 326 ng Hg/g, po podatkih iz literature pa od 18 do 417 ng Hg/g. V vzorcih konzervirane tune naše raziskave so vsebnosti živega srebra nekoliko višje v primerjavi z literaturnimi podatki. Te vsebujejo tudi do 900 ng Hg/g, medtem ko drugi znanstveniki navajajo vsebnost živega srebra v konzervirani tuni do največ 505 ng Hg/g. V istem območju so tudi konzervirane sardine, v naši raziskavi s povprečno 82 ng Hg/g, po literaturnih podatkih s povprečno vsebnostjo 63 ng Hg/g.

Preglednica 22: Vsebnost živega srebra v ribah in ribjih izdelkih iz naše raziskave in po podatkih iz literature

Vrsta ribe/ ribjega izdelka	Naša raziskava	Literaturni podatki	
	Vsebnost Hg (ng/g)* ($\bar{x} \pm SO$)	Vsebnost Hg (ng/g)*	Vir
Losos	56 ± 4 (3) {31 - 102}	10	Figdor (2004)
Slanik	83 ± 10 (2) {82 - 85}	40	Figdor (2004)
		13	US EPA (1997)
Skuša	93 ± 3 (2) {79 - 107}	453 (3) {180 - 730}	Figdor (2004)
Hobotnica	12 ± 1 (1)	29	US EPA (1997)
		30 (2) {29 - 31}	US FDA (1997)
Mečarica	1164 ± 120 (1)	990	Figdor (2004)
		950	US EPA (1997)
		1218	US FDA (1997)
		340	US FDA (1994)
		930	Stern in sod.(1996)
Tuna	237 ± 36 (3) {162 - 1107}	380	Figdor (2004)
		170	Stern in sod.(1996)
		384 (4) {144 - 660}	US FDA (1997)
Postrv	130 ± 6 (3) {20 - 326}	178 (5) {30 - 300}	Figdor (2004)
		149	US EPA (1997)
		417	US FDA (1997)
		50	Stern in sod.(1996)
		18	US FDA (2003)
Sardela	269 ± 13 (2) {159 - 378}	30	Figdor (2004)
		75 (2) {50 - 100}	Stern in sod.(1996)
		20 (4) {13 - 30}	US FDA (2003)
Konzervirana tuna	172 ± 6 (31) (19 - 979)	235 (2) {120 - 350}	Figdor (2004)
		290 (6) {169 - 505}	US FDA (2003)
Konzervirane sardine	82 ± 8 (8) (4 - 120)	63 (4) {25 - 124}	US FDA (2003)

- - povprečna vrednost ± SO, (št. vzorcev), {interval}

Nekoliko večje vsebnosti živega srebra v naši raziskavi zasledimo v vzorcih lososa, slanika in hobotnice. V vzorcu lososa je povprečna vsebnost 56 ng Hg/g, po literaturnih podatkih le 10 ngHg/g. V vzorcu slanika vsebnosti nihajo od 82 do 85 ng Hg/g, po literaturnih podatkih od 13 do 40 ng Hg/g. Vsebnost živega srebra smo določili tudi v enem mehkužcu, in sicer v hobotnici, ter ji določili 12 ng Hg/g, po literaturnih podatkih pa vsebnosti nihajo od 29 – 31 ng Hg/g.

Manjše vsebnosti živega srebra v naši raziskavi v primerjavi z literaturnimi podatki pa smo določili v vzorcih skuše, povprečno 93 ± 3 ng Hg/g, po literaturnih podatkih vsebnosti živega srebra v skuši nihajo od 180 do 730 ng Hg/g.

Burger in Gochfeld (2004) pojasnjujeta, da so velika nihanja v vsebnosti živega srebra v ribah posledica ulova rib v različnih oceanih oziroma ribolovnih območjih, kot tudi posledica vrste in velikosti ribe.

4.4 PRIMERJAVA VSEBNOSTI ŽIVEGA SREBRA Z ZAKONSKO PREDPISANIMI VREDNOSTMI

Ribe prispevajo velik prehranski delež k prehrani človeka. Zaradi hranljivih snovi, ki jih ribe vsebujejo, svetovne zdravstvene organizacije predpisujejo uživanje rib in ribjih izdelkov vsaj dvakrat na teden. Ker pa ribe vsebujejo tudi onesnažila, EFSA (European Food Safety Authority) predpisuje vrednosti živega srebra, ki jih ribe in ribji izdelki ne smejo presegati. Prehranska priporočila in zakonsko določene vrednosti naj bi bile znane in dostopne vsem, še posebno občutljivim skupinam ljudi, kot so otroci, nosečnice in doječe matere (EFSA, 2004).

Evropsko združenje o varnosti živil, EFSA, zakonsko predpisuje vrednosti živega srebra v ribah in ribjih izdelkih, ki so namenjeni potrošnikom:

- ribe in ribji izdelki . . . 0,5 mg/kg,
- školjke . . . 0,5 mg/kg,
- raki . . . 0,5 mg/kg,
- predatorske ribe (mečarica, morski pes, tuna in druge) . . . 1 mg/kg.

V naslednji preglednici so prikazane vsebnosti Hg v ribjih izdelkih, ki presegajo zakonsko predpisane vrednosti (0,5 mg/kg).

Št. vzorca	Naziv izdelka	Vsebnost Hg (ng/g) $\bar{x} \pm \text{SO}$
27	Rio mare, tunina v oljčnem olju z origanom	800 ± 21
46	Rio mare, tunina v oljčnem olju z inčuni in kaprami	858 ± 19

V naslednji preglednici so prikazane vsebnosti Hg v svežih ribah, ki presegajo zakonsko predpisane vrednosti (1 mg/kg).

Št. vzorca	Vrsta ribe / kos	Vsebnost Hg (ng/g) $\bar{x} \pm SO$
118	Mečarica / file	1164,0 ± 120,0
103	Tuna / file	1107,0 ± 86,8

Iz zgornjih dveh preglednic lahko vidimo, da le dve vrsti rib, tuna in mečarica, presegata zakonsko predpisane vrednosti živega srebra. Obe ribi spadata v skupino predatorjev, zato je priporočljivo, da se občutljive skupine ljudi izogibajo uživanju predatorskih rib.

Večina rib ustreza zakonsko predpisanim vrednostim, vendar nam te vrednosti nič ne povedo o tem, koliko teh rib lahko zaužijemo.

4.5 OCENA VNOSA ŽIVEGA SREBRA Z RIBAMI IN RIBJIMI IZDELKI

Znanstveniki, nutricionisti in proizvajalci ribjih izdelkov s članki v strokovnih revijah in časopisih vedno bolj poudarjajo, kako pomembno je uživanje morske hrane, predvsem rib, saj z njimi naše telo dobi tako zelene omega maščobne kisline. Prav zato smo hoteli z našo raziskavo ugotoviti, koliko tako strupenega onesnažila, živega srebra, vsebujejo sveže ribe, ulovljene v različnih ribolovnih območjih, in ribji izdelki z različno vsebino in različnimi loti, ter oceniti dnevni vnos z ribami in ribjimi izdelki. Različne svetovne organizacije predpisujejo različne referenčne vrednosti živega srebra, ki jih privzamemo z ribami. Najbolj stroga so merila po EPA, ki dovoljuje maksimalno 0,1 µg Hg/kg tel. teže/dan oziroma 0,7 µg Hg/kg tel. teže/teden. Nekoliko drugačna so merila po FAO in WHO, ki dovoljuje 1,6 µg Hg/kg tel. teže/teden, znižana vrednost nekoč postavljene 3,3 µg Hg/kg tel. teže/ teden iz leta 1999.

V preglednici 23 smo prikazali delež vnosa živega srebra s 100 g sveže ribe glede na priporočila po EPA, in to za povprečno težkega (60 kg) človeka ter za 80 kg težkega človeka.

Preglednica 23: Delež vnosa živega srebra s 100 g ribe glede na priporočeni dnevni vnos 0,1 µg/kg tel. teže/dan in 0,7 µg/kg tel. teže/teden (US EPA)

Vrsta sveže ribe / kos	Vsebnost Hg v ribjem mesu * (µg/100 g)	Delež vnosa Hg v 100 g ribe glede na priporočeni dnevni in tedenski vnos (%)			
		0,1 µg/ dan (EPA)		0,7 µg/ teden*** (prirejeno iz priporočil EPA)	
		60 kg**	80 kg**	60 kg	80 kg
losos / file	5,6 (3)	93	70	13	10
list / file	3,5 (3)	58	44	8	6
oslič / file	16,2 (5)	270	202	39	29
cipelj	37,2 (2)	620	465	89	66
postrv / file	13,0 (3)	217	163	31	23
brancin	18,0 (2)	300	225	43	32
zobatec / file	17,7 (2)	295	221	42	32
orada	26,5 (4)	442	331	63	47
hobotnica	12,0 (1)	200	150	29	21
romb	4,2 (1)	70	53	10	8
ostriž / file	32,9 (2)	548	411	78	59
škarpena	30,1 (2)	502	376	72	54
trlja	37,7 (2)	628	471	90	67
ribon	50,1 (2)	835	626	119	90
slanik	8,4 (2)	140	105	20	15
morska žaba / rep	37,0 (2)	617	463	88	66
skuša	9,3 (2)	155	116	22	17
tuna	56,9 (3)	948	711	136	102
ovčica	17,6 (2)	293	221	42	31
sardela	26,9 (2)	448	336	64	30
mečarica	116,4 (1)	1940	1455	277	208
lignji	4,7 (1)	78	59	11	8
ugor	86,4 (1)	1440	1080	206	154

* - povprečna vsebnost Hg v ribah, ulovljenih v različnem časovnem obdobju (število vzorcev)

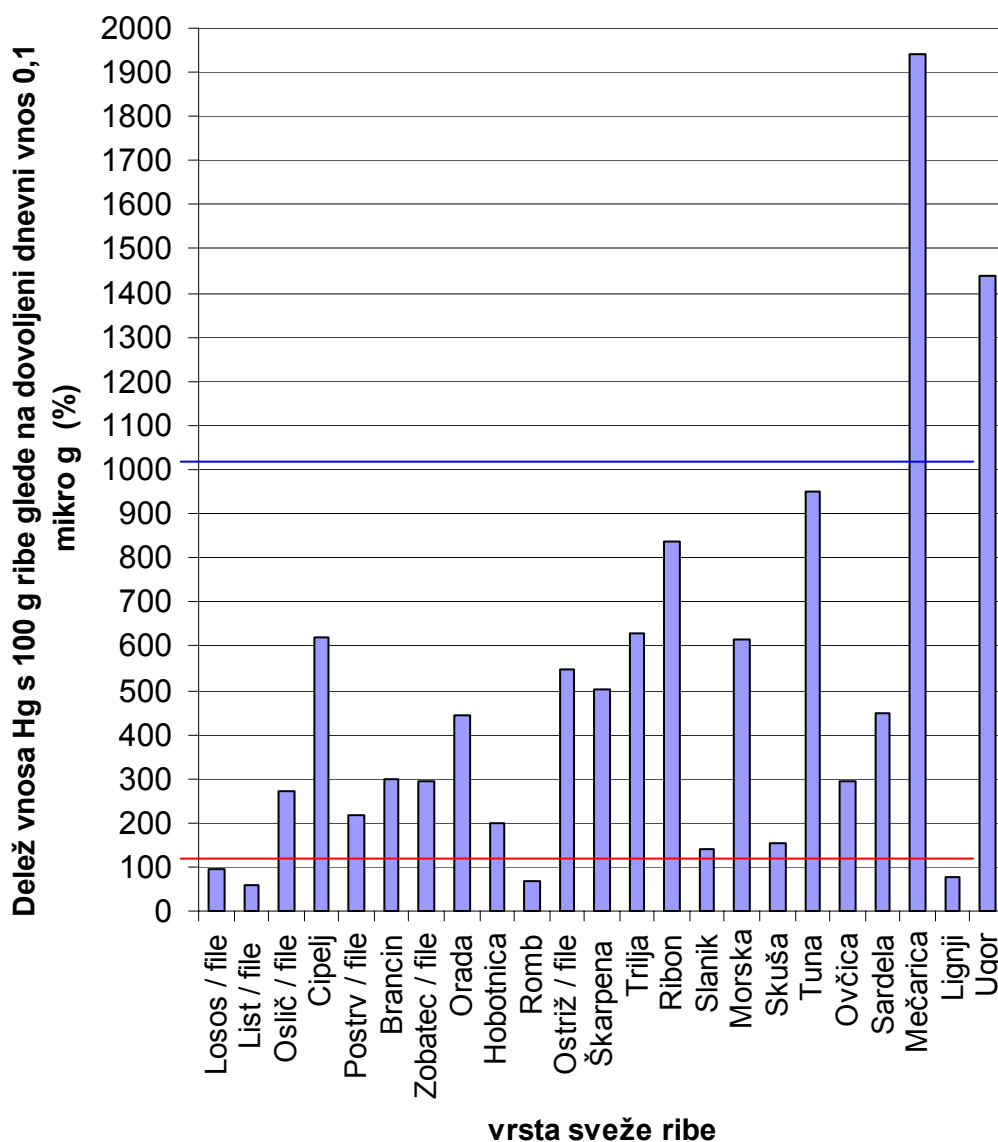
** - delež vnosa Hg v 100 g ribe glede na priporočeni dnevni oziroma tedenski vnos za 60 oziroma 80 kg človeka

*** - US EPA priporoča dnevno dozo na dan, medtem ko WHO/FAO priporoča vrednosti za tedenski vnos. Za informacijo smo US EPA priporočilo pretvorili v tedenski vnos

Priporočilo o dnevnem vnosu kaže na to, da bi pri večini rib presegli priporočila.

Naše mnenje je, da je priporočilo o tedenskem vnosu bistveno bolj smiselno kot priporočilo za dnevni vnos, saj večina ljudi, še zlasti v Sloveniji, ne uživa rib več kot enkrat tedensko. Torej priporočilo o dovoljenem dnevnem vnosu bi bilo smiselno predvsem za tiste ljudi, ki redno (to je skoraj enkrat dnevno) uživajo ribe. Priporočilo o

tedenskem vnosu pa je bistveno bolj realno, saj večina tistih, ki ribe sploh uživajo, zaužijejo eno porcijo, ki je navadno nekje okrog 200 g na teden (po naših predvidevanjih). Ob tej predpostavki bi bil tedenski vnos enkrat večji, kot je prikazan na zgornji tabeli. To pomeni, da bi bil tedenski vnos ob zaužitju 200 g ribe na teden prekoračen pri cipljih, oradi, sardelah, ugorju in zlasti pri mečarici, kjer je presežena priporočena vrednost že pri 100 g zaužite ribe na teden.

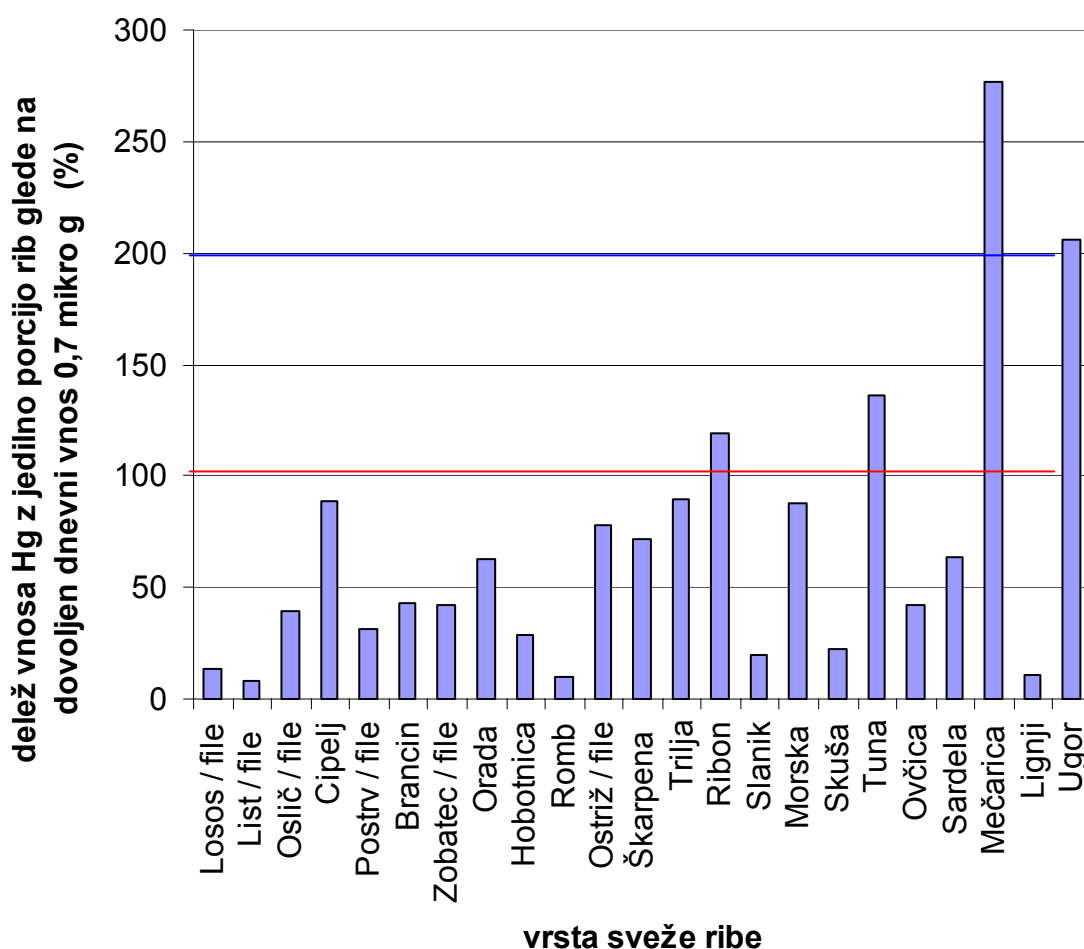


Slika 10: Pregled deleža vnosa živega srebra s 100 g ribe glede na dovoljeni dnevni vnos 0,1 µg (po priporočilih US EPA 2001)

- 100 % delež dovoljenega dnevnega vnosa Hg (0,1 µg po priporočilih EPA)
- 1000 % delež dnevnega vnosa Hg (0,1 µg po priporočilih EPA)

Opomba: Dovoljen dnevni vnos Hg po priporočilih EPA znaša $0,1\mu\text{g}/\text{kg}$ telesne teže na dan, kar predstavlja 100 % delež vnosa Hg. Deleže Hg v ribah smo izračunali za povprečno težkega človeka 60 kg.

Po preglednici 23 in sliki 10 vidimo, da je le malo rib, ki vsebujejo pod 100 % dovoljenega deleža dnevnega vnosa živega srebra $0,1\mu\text{g}/\text{kg}$ tel. teže/dan, kot zahteva EPA. Zahtevam ustrezajo le file lososa, lista, romb in lignji. Nekoliko (za 40 %) imata presežene vsebnosti slanik in skuša (za 55 %). Z ostalimi vrstami svežih rib, ki smo jih analizirali, lahko krepko presegamo dovoljene vrednosti. Med njimi sta najbolj kritična mečarica in ugor, saj z uživanjem teh dveh vrst rib za več kot 10 –krat prekoračimo dovoljene vrednosti živega srebra na dan.



Slika 11: Pregled deleža vnosa živega srebra s 100 g ribe, če bi priporočilo o dnevnem vnosu spremenili v tedenskega, tako kot to priporoča WHO/FAO.

- 100 % delež dovoljenega dnevnega vnosa Hg ($0,7\mu\text{g}$ po priporočilih US EPA)
- 200 % delež dnevnega vnosa Hg ($0,7\mu\text{g}$ po priporočilih US EPA)

Po priporočilih US EPA, ki dovoljuje 0,7 µg Hg/kg tel. teže/teden, vsebuje več vrst svežih rib dovoljeno količino živega srebra. S 100 g sveže ribe zaužijemo dovoljeni tedenski vnos živega srebra z naslednjimi ribami: file lososa (13 %), lista (8 %), osliča (39 %), cipelj (89 %), file postrvi (31 %), brancin (43 %), file zobatca (42 %), orada (63 %), hobotnica (29 %), romb (10 %), file ostriža (78 %), škarpna (72 %), trlja (90 %), slanik (20 %), rep morske žabe (88 %), skuša (22 %), ovčica (42 %), sardela (64 %) in lignji (11 %).

Preglednica 24: Vnos živega srebra v µg/teden z jedilno porcijo (160 g) rib

oznaka ribe	Vrsta ribe	µg Hg/ porcijo*	US EPA	WHO/FAO	WHO/FAO
			2001 (0,7)	2003 (1,6)	1999 (3,3)
			delež Hg v porciji ribe/teden (%)		
1	List / file	0,09	13	6	3
2	Romb	0,11	16	7	3
3	Lignji	0,13	18	8	4
4	Losos / file	0,15	21	10	5
5	Slanik	0,22	32	14	7
6	Skuša	0,25	35	16	8
7	Hobotnica	0,32	46	20	10
8	Postrv / file	0,35	50	22	11
9	Oslič / file	0,43	62	27	13
10	Ovčica	0,47	67	29	14
11	Zobatec / file	0,47	67	29	14
12	Brancin	0,48	69	30	15
13	Orada	0,71	101	44	21
14	Sardela	0,72	102	45	22
15	Škarpna	0,80	115	50	24
16	Ostriž / file	0,88	126	55	27
17	Morska žaba / rep	0,99	141	62	30
18	Cipelj	1,00	143	62	30
19	Trlja	1,01	144	63	31
20	Ribon	1,34	191	84	41
21	Tuna	1,52	217	95	46
22	Ugor	2,30	329	144	70
23	Mečarica	3,10	443	194	94

Legenda:

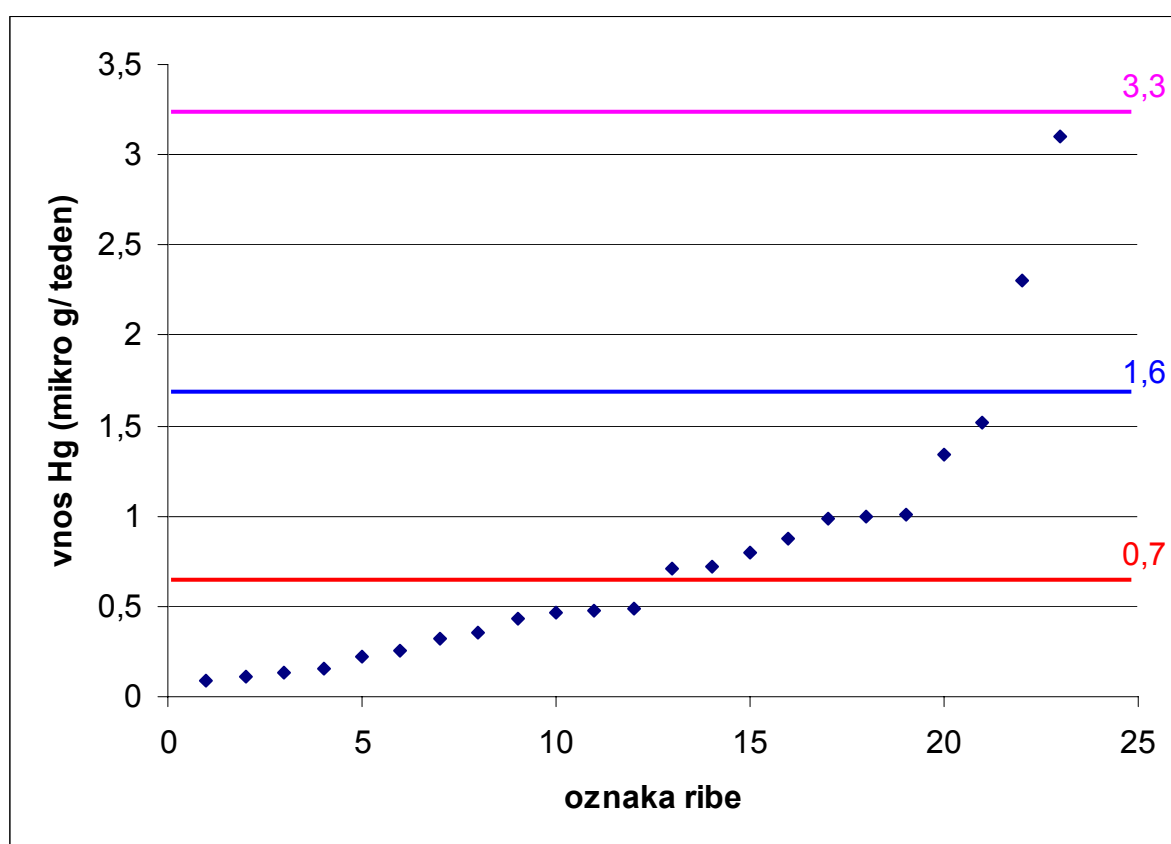
Porcija = 160 g ribe (poraba rib na leto je 7,6kg, kar je 160g na teden),

US EPA (2001) = dovoljuje 0,7 μg Hg/teden,

WHO/FAO (2003) = dovoljuje 1,6 μg Hg/teden ,

WHO/FAO (1999) = je dovoljevala 3,3 μg Hg/teden ,

*= Vse vsebnosti Hg so preračunane na povprečno težkega človeka (60 kg).



Legenda:

oznaka ribe = kot v preglednici 24,

0,7 = PTWI v μg / teden po US EPA 2001,

1,6 = PTWI v μg / teden po WHO/FAO 2003,

3,3 = PTWI v μg / teden po WHO/FAO 1999.

Slika 12: Shematski prikaz vnosa Hg v μg /teden, za človeka težkega 60kg, z ribjo porcijo (160 g) rib, glede na PTWI priporočila; US EPA 2001, WHO/FAO 2003 in WHO/FAO 1999

Analize ribjih izdelkov so pokazale nekoliko manjše vsebnosti živega srebra, manjše kot v svežih ribah. Rezultate o vsebnosti živega srebra, z odstranjenim dodatkom, in delež pokritosti dovoljenih vrednosti živega srebra na dan in teden z zaužitjem ribje konzerve, namenjene za en obrok za eno osebo, prikazujemo v preglednici 25.

Preglednica 25: Delež vnosa Hg (v %) z ribjo konzervo glede na dovoljen dnevni vnos 0,1 µg in tedenski vnos 0,7 µg po US EPA 2001

Št. vz.	Naziv izdelka	Neto masa (g)	Masa mesa (g)	Vsebnost Hg v izdelku* (µg)	Delež vnosa Hg glede na dovoljen dnevni/ tedenski vnos US EPA 2001 (%)	
					0,1 µg**	0,7 µg**
1	Tuna, kosi tunov v rastlinskem olju/ Bluemar	80	58,29	9,03	151	22
2	Fileti skuše, lastni sok	125	80,35	3,67	61	9
3	Sardine v rastlinskem olju/ Eva	115	85,49	8,22	137	20
4	Eco+ Skušini fileti s petimi aromati in belim vinom	176	98,49	4,14	69	10
5	Rio mare, tunina v ekstra deviškem oljčnem olju	160	123,13	25,60	427	61
6	Izbrana tunina, koščki tunine v rastlinskem olju	185	150,92	4,63	77	10
7	Safcol, kosi tuna v paradižnikovi omaki po mediteransko	185	149,48	3,24	54	8
8	Koščki tune v paradižnikovi omaki	80	80	5,02	84	12
9	Koščki tune v sončničnem olju	80	52,8	5,54	92	13
10	Eco+ koščki tunine v paradižnikovi omaki	160	160	8,74	146	21
11	Tunina v sončničnem olju	80	60,15	10,83	181	26
12	Zviti slani fileti inčunov v rastlinskem olju	50	31,94	0,71	12	2
13	Eva, sardine z limono v rastlinskem olju	115	94,32	12,15	202	29
14	Golden princess, koščki tune v rastlinskem olju	185	150,57	8,27	138	20
15	Tuna listao v naravnem soku	185	134,09	19,71	329	47
16	Rio mare, tunina v naravnem soku	160	102,75	3,71	62	9
17	Rio mare, tuna v olivnem olju	160	114,7	22,94	382	55

Preglednica 25: Nadaljevanje tabele

Št. vz.	Naziv izdelka	Neto masa (g)	Masa mesa (g)	Vsebnost Hg v izdelku* (µg)	Delež vnosa Hg glede na dovoljen dnevni/ tedenski vnos US EPA 2001 (%)	
					0,1 µg**	0,7 µg**
18	Fileti skuše v semenskem olju	125	91,83	5,76	96	14
19	Palmera, tunina v olivnem olju	160	117,98	30,91	515	74
20	Blue mar, kosi tune v rastlinskem olju	80	56,9	4,32	72	10
21	Vecchio molo, tunina v oljčnem olju	80	66,07	14,27	245	34
22	Peche ocean, sardine v rastlinskem olju	69	49,62	0,20	3	0,5
23	Safcol, kosi tuna v lastnem soku	95	68,01	1,88	31	4,5
24	Safcol, kosi tuna v oljčnem olju	185	142,79	3,13	52	7,5
25	Tunina albacore v naravnem soku	139	84,79	22,55	376	54
26	Eco+ mehiška solata s tunino	280	80,33	11,81	197	28
27	Rio mare, tunina v oljčnem olju z origanom	160	110,47	88,38	1473	210
28	Rio mare, fileti tune v oljčnem olju	200	149,71	5,55	79	13
29	Rio mare, tuna v olivnem olju z rožmarinom	160	109,57	24,11	36	57
30	Rio mare, fižol s tunino	160	80,61	5,45	91	13
31	Golden Queen, tuna v rastlinskem olju	185	131,4	2,49	42	6
32	Eva, sardine z zelenjavo	115	73,85	7,02	117	17
33	Eva, oslič na lovski način	115	110,94	12,31	205	29
34	Eva, sardine v rastlinskem olju	115	89,51	8,80	147	21
35	Simpex, fileti skuše v olivnem olju	125	96,76	4,03	67	10
36	Peche Ocean, koščki tune v sončničnem olju	160	117,93	12,15	208	30
37	Rio mare, koščki tune v olivnem olju	80	72,07	9,59	160	23
38	Safcol, kosi lososa z zelenjavo	100	73,19	1,54	26	4
39	Rio mare, kosi tunine v naravnem soku	80	69,51	10,98	183	26

Preglednica 25: Nadaljevanje tabele

Št. vz.	Naziv izdelka	Neto masa (g)	Masa mesa (g)	Vsebnost Hg v izdelku* (µg)	Delež vnosa Hg glede na dovoljen dnevni/ tedenski vnos US EPA 2001 (%)	
					0,1 µg**	0,7 µg**
41	Calvo, sicilijanska solata	180	165,01	14,83	247	35
42	Rio mare, koščki tune v oljčnem olju	160	115,48	26,56	443	63
43	Rio mare, koščki tune v naravnem soku	160	111,61	26,56	443	63
44	Provencale, zelenjava s skušo	125	125	3,69	62	9
45	Janus, tunina v oljčnem olju	160	109,77	38,31	638	91
46	Rio mare, tunina v oljčnem olju z inčuni in kaprami	160	108,81	93,36	1556	222
47	Gran Gusto, koščki tune v rastlinskem olju	185	136,65	15,44	257	37
48	Mariva, fileti tune v oljčnem olju	200	132,39	14,70	245	35
49	Mirela s fižolom v pikantni paradižnikovi omaki	125	76,65	4,34	72	10
50	Adria, sardine v zelenjavni omaki	115	85,35	4,04	67	10
51	Adria, sardine v rastlinskem olju	115	83,34	10,00	166	24
52	Gran Gusto, tuna v paradižnikovem soku z zelenjavo	185	132,46	9,62	160	23
53	Gran Gusto, sardine v rastlinskem olju	125	71,92	8,20	137	20
54	Spar, sardine v rastlinskem olju	125	94,08	8,35	139	20
55	Picnic, zelenjava s skušo	125	56,01	1,17	19	3
56	Izola Brand, skuša z zelenjavo	125	73,64	2,78	46	7
57	Evita, sardele v rastlinskem olju	125	86,46	8,14	136	19
58	Spar, rezani slanikovi fileti v paradižnikovi omaki	200	107,23	5,48	91	13
59	Safcol, kosi tuna z mehiško omako	185	126,95	3,36	56	8
60	Calvo, solata s tunino v jerebičji omaki	150	93,53	5,95	99	14
61	Rio mare, grah s tunino	160	71,43	16,21	270	39
62	Gran Gusto, kosi tune v rastlinskem olju	185	132,17	10,80	180	26

Preglednica 25: Nadaljevanje tabele

Št. vz.	Naziv izdelka	Neto masa (g)	Masa mesa (g)	Vsebnost Hg v izdelku* (µg)	Delež vnosa Hg glede na dovoljen dnevni/tedenski vnos US EPA 2001 (%)	
					0,1 µg**	0,7 µg**
63	Antipasto, zelenjava s tunom	150	78,79	9,53	159	23
64	Tuna Pikantina, zelenjava s tunom v pikantni omaki	150	67,33	5,55	92	13
65	Gran Gusto, koščki tune v lastnem soku	185	112,05	6,02	100	14
66	Gran Gusto, kosi tune v lastnem soku	170	99,24	2,33	39	6
67	Calvo, solata od tune	150	112,27	13,25	221	32
68	Calvo, sredozemska solata s tunino	150	100,83	9,87	165	24
69	Calvo, rumenoplavuti tun v olivnem olju	80	49,38	6,77	113	16
70	Calvo, tunina v oljčnem olju, sredozemski okus s česnom	80	51,09	10,98	183	26
71	Calvo, tunina v oljčnem olju, z manj soli	80	49,54	7,78	130	19
72	Odysee, losos v lastnem soku	170	126,85	3,73	61	9
73	Spar, koščki tune s čebulo, grahom in paradižnikovo omako	185	126,22	3,90	65	9
74	Spar, kosi tune v rastlinskem olju	80	48,08	15,24	254	36
75	Spar, kosi tune v rastlinskem olju	160	98,57	19,71	329	47
76	Coeur, sardine v semenskem olju	125	93,77	7,07	118	17
77	Gran Gusto, sardine v paradižnikovi omaki	125	80,92	0,45	7	1

* - ribje meso z odstranjenim dodatkom

** - dovoljeni dnevni/tedenski vnos Hg (0,1 µg in 0,7 µg po US EPA 2001) za povprečno težkega človeka s 60 kg smo vzeli za maksimalno (100 %) dovoljeno dnevno/tedensko količino Hg.

Po priporočilih EPA, ki dovoljuje 0,1 µg Hg/kg tel. teže/dan, je 43 % ribjih izdelkov, ki ustrezajo priporočilom o vnosu živega srebra z eno konzervo. Ostalih 57 % pa je takih, ki vsebujejo več kot 6 µg Hg v mesni masi ene konzerve.

Po priporočilih US EPA, ki dovoljuje 0,7 µg Hg/ kg tel. teže/teden, je 97 % ribjih izdelkov, ki ustrezajo dovoljenemu vnosu živega srebra z eno konzervo. Ostalih 3 % pa je takšnih, ki vsebujejo več kot 42 µg Hg v mesni masi ene konzerve.

Preglednica 26: Vnos Hg v µg/teden z ribjim izdelkom (ena konzerva), glede na PTWI priporočila; US EPA 2001, WHO/FAO 2003 in WHO/FAO 1999

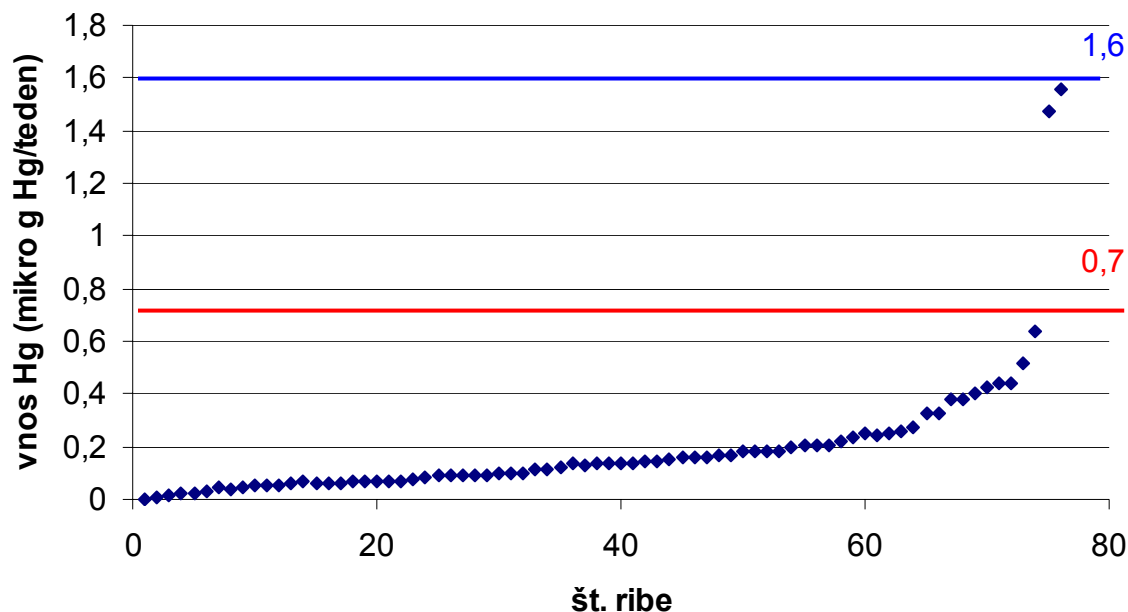
Št. vzorec/riba	Naziv izdelka	µg Hg/konz.*	Delež vnosa Hg / konz. (%)			
			EPA 2001 (0,7µg)	WHO 2003 (1,6µg)	WHO 1999 (3,3µg)	
22	1	Peche ocean, sardine v rastlinskem olju	0,003	0,5	0,2	0,2
77	2	Gran Gusto, sardine v paradižnikovi omaki	0,008	1	0,5	0,2
12	3	Zviti slani fileti inčunov v rastlinskem olju	0,012	2	1	0,4
55	4	Picnic, zelenjava s skušo	0,019	3	1	1
38	5	Safcol, kosi lososa z zelenjavo	0,026	4	1	1
23	6	Safcol, kosi tuna v lastnem soku	0,031	4,5	1	1
31	7	Golden Queen, tuna v rastlinskem olju	0,042	6	2	1
66	8	Gran Gusto, kosi tune v lastnem soku	0,039	6	2	1
56	9	Izola Brand, skuša z zelenjavo	0,046	7	2	1
24	10	Safcol, kosi tuna v oljčnem olju	0,052	7,5	3	2
7	11	Safcol, kosi tuna v paradižnikovi omaki po mediteransko	0,054	8	3	2
59	12	Safcol, kosi tuna z mehiško omako	0,056	8	3	2
72	13	Odyssee, losos v lastnem soku	0,062	9	4	2
73	14	Spar, koščki tune s čebulo, grahom in paradižnikovo omako	0,065	9	4	2
2	15	Fileti skuše, lastni sok	0,061	9	4	2
16	16	Rio mare, tunina v naravnem soku	0,062	9	4	2
44	17	Provencale, zelenjava s skušo	0,062	9	4	2
4	18	Eco+ skušini fileji s petimi aromati in belim vinom	0,069	10	4	2
35	19	Simpex, fileti skuše v olivnem olju	0,067	10	4	2
50	20	Adria, sardine v zelenjavni omaki	0,067	10	4	2
49	21	Mirela s fižolom v pikantni paradižnikovi omaki	0,072	10	4	2
20	22	Blue mar, kosi tune v rastlinskem olju	0,072	10	4	2
6	23	Izbrana tunina, koščki tunine v rastlinskem olju	0,077	10	5	2

Preglednica 26: Nadaljevanje tabele

Št. vzorec/riba	Naziv izdelka	µg Hg/konz.*	Delež vnosa Hg / konz. (%)			
			EPA 2001 (0,7µg)	WHO 2003 (1,6µg)	WHO 1999 (3,3µg)	
8	24	Koščki tune v paradižnikovi omaki	0,134	12	5	3
28	25	Rio mare, fileti tune v oljčnem olju	0,093	13	5	3
64	26	Tuna Pikantina, zelenjava s tunom v pikantni omaki	0,093	13	5	3
9	27	Koščki tune v sončničnem olju	0,092	13	6	3
30	28	Rio mare, fižol s tunino	0,091	13	6	3
58	29	Spar, rezani slanikovi fileti v paradižnikovi omaki	0,091	13	6	3
65	30	Gran Gusto, koščki tune v lastnem soku	0,100	14	6	3
18	31	Fileti skuše v semenskem olju	0,096	14	6	3
60	32	Calvo, solata s tunino v jerebičji omaki	0,099	14	6	3
69	33	Calvo, rumenoplavuti tun v olivnem olju	0,113	16	6	3
32	34	Eva, sardine z zelenjavo	0,117	17	7	4
76	35	Coeur, sardine v semenskem olju	0,118	17	7	4
57	36	Evita, sardele v rastlinskem olju	0,136	19	7	4
71	37	Calvo, tunina v oljčnem olju, z manj soli	0,129	19	8	4
54	38	Spar, sardine v rastlinskem olju	0,139	20	8	4
3	39	Sardine v rastlinskem olju/ Eva	0,137	20	9	4
14	40	Golden princess, koščki tune v rastlinskem olju	0,138	20	9	4
53	41	Gran Gusto, sardine v rastlinskem olju	0,137	20	9	4
34	42	Eva, sardine v rastlinskem olju	0,147	21	9	4
10	43	Eco+ koščki tunine v paradižnikovi omaki	0,146	21	9	4
1	44	Tuna, kosi tunov v rastlinskem olju/ Bluemar	0,151	22	9	5
52	45	Gran Gusto, tuna v paradižnikovem soku z zelenjavo	0,160	23	9	5
63	46	Antipasto, zelenjava s tunom	0,159	23	9	5
37	47	Rio mare, koščki tune v olivnem olju	0,159	23	10	5
51	48	Adria, sardine v rastlinskem olju	0,167	24	10	5
68	49	Calvo, sredozemska solata s tunino	0,165	24	10	5
11	50	Tunina v sončničnem olju	0,181	26	11	5
62	51	Gran Gusto, kosi tune v rastlinskem olju	0,180	26	11	5
39	52	Rio mare, kosi tunine v naravnem soku	0,183	26	11	6

Preglednica 26: Nadaljevanje tabele

Št. vzorec/riba	Naziv izdelka	µg Hg/konz.*	Delež vnosa Hg / konz. (%)		
			EPA 2001 (0,7µg)	WHO 2003 (1,6µg)	WHO 1999 (3,3µg)
70	53	0,183	26	11	6
26	54	0,197	28	12	6
13	55	0,203	29	13	6
33	56	0,205	29	13	6
36	57	0,203	30	13	6
67	58	0,221	32	14	7
21	59	0,238	34	15	7
41	60	0,247	35	15	7
48	61	0,245	35	15	7
74	62	0,254	36	16	8
47	63	0,257	37	16	8
61	64	0,270	39	17	8
75	65	0,329	47	21	9
15	66	0,329	47	21	10
25	67	0,376	54	23	11
17	68	0,382	55	23	12
29	69	0,402	57	25	12
5	70	0,427	61	28	13
42	71	0,443	63	28	13
43	72	0,443	63	32	13
19	73	0,515	74	39	16
45	74	0,639	91	60	19
27	75	1,473	210	92	45
46	76	1,556	222	97	47



Legenda:

št. ribe = zaporedna številka ribjega izdelka v preglednici 26,

0,7 = PTWI v $\mu\text{g}/\text{kg}$ tel. teže/ teden po US EPA 2001,

1,6 = PTWI v $\mu\text{g}/\text{kg}$ tel. teže/ teden po WHO/FAO 2003,

3,3 = PTWI v $\mu\text{g}/\text{kg}$ tel. teže/ teden po WHO/FAO 1999 (ne pride v poštev na tej sliki),

PTWI = Provisional Tolerable Weekly Intake,

* = vnos Hg za 60 kg človega.

Slika 13: Shematski prikaz vnosa Hg v $\mu\text{g}/\text{teden}$ z ribjim izdelkom (ena konzerva)

Zaužitje ene konzerve na teden je varno skoraj pri vseh preiskovanih konzerviranih ribah, razen pri tuni, in sicer pri izdelkih: Rio mare, tunina v oljčnem olju z origanom in Rio mare, tunina v oljčnem olju z inčuni in kaprami, pri katerima z zaužitjem že ene same konzerve presežemo dovoljeni tedenski vnos za več kot 1,5 -krat. Sicer pa lahko pri večini ribjih izdelkov zaužijemo celo dve konzervi ali več na teden. Vsi podatki, ki so prikazani v preglednici 26, veljajo za povprečno težkega človeka, torej 60 kg. Popolnoma drugačni so rezultati za otroke, ki imajo bistveno manjšo težo. Torej za otroka, ki ima pod 35 kg velja, da bi morali upoštevati dejstvo, da lahko zaužije vsaj enkrat manj rib s povprečno vrednostjo, ki so navedene v zgornji preglednici.

V preglednici 27 so prikazane sveže ribe, ki jih odrasli in otroci lahko zaužijejo kot enkratno ali večkratno porcijo, da ne presežejo priporočenega tedenskega vnosa po priporočilih US EPA ($0,7\mu\text{g}$ Hg/kg tel. teže/teden) in po priporočilih FAO/WHO iz leta 2003 ($1,6\mu\text{g}$ Hg/kg tel. teže/teden).

Preglednica 27: Vnos Hg (μg Hg/kg tel. teže/teden) in število porcij na teden z različnimi vrstami rib, po priporočilih US EPA in FAO/WHO za odrasle in otroke

Vrsta ribe	μg Hg/ porcijo	US EPA 2001 (0,7 μg)	Dovoljene porcije/teden po US EPA (odrasel / otrok)	FAO/WHO 2003 (1,6 μg)	Dovoljene porcije/teden po FAO/WHO (odrasel / otrok)
List / file	5,6	0,13	5,4p / 2,7p	0,06	26,6p / 13,3p
Romb	6,7	0,16	4,4p / 2,2p	0,07	22,8p / 11,4p
Lignji	7,5	0,18	4p / 2p	0,08	20p / 10p
Losos / file	8,9	0,21	3p / 1,7p	0,1	16p / 8p
Slanik	13,4	0,32	2p / 1p	0,14	11,4p / 5,7p
Skuša	14,9	0,35	2p / 1p	0,16	10p / 5p
Hobotnica	19,2	0,46	1,5p / 0	0,2	8p / 4p
Postrv / file	20,8	0,5	1,5p / 0	0,22	7,3p / 3,6p
Oslič / file	25,9	0,62	1p / 0	0,27	5,9p / 2,9p
Ovčica	28,2	0,67	1p / 0	0,29	5,5p / 2,7p
Zobatec / file	28,3	0,67	1p / 0	0,29	5,5p / 2,7p
Brancin	28,8	0,69	1p / 0	0,3	5,3p / 2,6p
Orada	42,4	1,01	0	0,44	3,6p / 1,8p
Sardela	43	1,02	0	0,45	3,5p / 1,7p
Škarpena	48,2	1,15	0	0,5	3,2p / 1,6p
Ostriž / file	52,6	1,26	0	0,55	2,9p / 1,4p
Morska žaba / rep	59,2	1,41	0	0,62	2,5p / 1,3p
Cipelj	59,5	1,43	0	0,62	2,5p / 1,3p
Trlja	60,3	1,44	0	0,63	2,5p / 1,3p
Ribon	80,2	1,91	0	0,84	1,9p / 0,9p
Tuna	91,1	2,17	0	0,95	1,6p / 0,8p
Ugor	138,2	3,29	0	1,44	1,1p / 0,5p
Mečarica	186,2	4,43	0	1,94	0,8p / 0,4p

5 SKLEPI

Na podlagi dobljenih rezultatov lahko oblikujemo naslednje sklepe:

- Razkroj vzorcev s HNO_3 , HClO_4 in H_2SO_4 je primeren za določanje živega srebra v ribah in ribjih izdelkih z metodo AAS – HP.
 - Pravilnost metode smo preverjali z uporabo ustreznih standardnih referenčnih materialov in dobili dobro ujemanje s certificiranimi vrednostmi.
 - Določitev živega srebra z metodo AAS–HP je enostavna, hitra, pravilna, občutljiva, natančna in relativno poceni metoda ter primerna za uporabo v prehranskih in okoljskih študijah.

Z opravljeno biološko raziskavo o vsebnosti živega srebra v mišičnem tkivu svežih rib in v konzerviranih ribah lahko potrdimo zastavljene hipoteze.

- Ribe, ki so na višji stopnji prehranjevalne verige, vsebujejo višje koncentracije živega srebra. Tuna in mečarica, ki sta na najvišji stopnji prehranjevalne verige, vsebujeta tudi čez 1100 ng Hg/g. Ribe, ki spadajo v nižjo stopnjo prehranjevalne verige, kot so losos, postrv, škarpena, ostriž, vsebujejo manj živega srebra, in sicer v postrvi maksimalno 13 ng Hg/g, do 590 ng Hg/g pa v ostrižu. Najmanj živega srebra vsebujejo ribe, ki spadajo v najnižjo stopnjo prehranjevalne verige. To sta sardela in skuša, z vsebnostima živega srebra od 3 ng/g v sardeli, do 146 ng Hg/g pa v skuši.
- Koncentracija živega srebra v ribah je odvisna od geografskega porekla rib. Mečarica in ugor, oba sta hrvaškega porekla, imata od 864 do 1164 ng Hg/g. Oslič, ki je prav tako predatorska riba, pa vsebuje od 36 ng Hg/g, če je riba holandskega porekla, do 366 ng Hg/g pa riba danskega porekla. Razlike v vsebnosti živega srebra so tudi v sardeli in slaniku. Sardela slovenskega porekla vsebuje 159 do 378 ng Hg/g, slanik danskega porekla pa vsebuje od 81 do 85 ng Hg/g. Obe ribi sicer spadata med ribe, ki so na nižji stopnji prehranjevalne verige.
- Ljudje, ki pogosto uživajo ribe, večinoma presegajo priporočene vrednosti, ki jih predpisujejo mednarodne organizacije. Združenje EPA predpisuje 0,1 μg Hg/kg telesne teže/dan oziroma 0,7 μg Hg/kg tel. teže/teden. Po teh priporočilih bi, z vnosom ene porcije (160 g) sveže ribe na teden, ustrezalo 52 % različnih vrst svežih rib. Po priporočilih EPA, ki dovoljuje 0,7 μg Hg/kg telesne teže/teden, strogo ni priporočljivo uživati tune, ugorja in mečarice, saj tuna presega tedensko dovoljeno količino živega srebra za trikrat, ugor za petkrat in mečarica za več kot šestkrat. Po novih priporočilih FAO/WHO iz leta 2003, ki predpisuje 1,6 μg Hg/kg telesne teže/teden, kar 96 % različnih vrst svežih rib ustreza predpisu. Ne ustreza le mečarica s svojimi 1,94 μg /teden. Po starih priporočilih FAO/WHO iz

leta 1999 bi vse vrste svežih rib ustrezale predpisu, ki je dovoljeval 3,3 μg Hg/kg tel. teže/teden.

Med konzerviranimi ribami kar 95 % izdelkov ustreza priporočilom EPA. Med njimi pa je nekaj takšnih izdelkov, s katerimi tudi 1,5 -krat presežemo dovoljeno količino živega srebra na teden. Med takšne spadata Rio mare, tunina v oljčnem olju z origanom in Rio mare, tunina v oljčnem olju z inčuni in kaprami.

- Nosečnice, ženske v rodni dobi in otroci naj bi še posebno pazili pri uživanju rib, ki vsebujejo več živega srebra. Ribe, ki jih ta skupina ljudi lahko varno uživa na teden, po priporočilih US EPA, so: skuša (1 porcijo), slanik (1 porcijo), losos (1,7 porcije), lignji (2 porciji), romb (2,2 porcije), list (2,7 porcije), če je ena porcija približno 160 g ribe. Poleg naštetih vrst rib, ki jih odrasli lahko zaužijejo v še enkrat večji količini posamezne ribe na teden, lahko varno zaužijejo po eno porcijo tudi naslednje ribe: brancin, zobatec, ovčica, oslič, postrv in hobotnica.

6 POVZETEK

Živo srebro je kovina, ki je v povišanih koncentracijah strupena za organizme. Pretvorba in kroženje živega srebra v okolju sta zelo zapletena in v veliki meri odvisna od lokalnih razmer. Njegov primarni vir je morska hrana, zato je pomembno, da spremljamo njegovo vsebnost v ribah in ribjih izdelkih. Vsebnosti živega srebra so lahko majhne, od nekaj $\mu\text{g/g}$, presegajo pa tudi vsebnosti čez 1 ng/g živila.

Najbolj toksična je metilirana oblika živega srebra. Je zelo stabilna spojina, ki ima sposobnost vezeve na proteine z $-\text{SH}$ skupinami, kar ji omogoči bioakumulacijo v organizmih. Druga lastnost metil živega srebra je biomagnifikacija, kjer se njegove koncentracije višajo z višjim položajem v prehranski verigi. Tako imajo predatorske ribe najvišje vsebnosti živega srebra.

Določanje živega srebra v živilih, kljub razvitim in upeljanim metodam, še vedno povzroča težave. Vzorci živil zaradi svoje sestave, ki je kombinacija organskih in anorganskih komponent, zahtevajo kompleksen proces razgradnje. Organski del vzorca se razkroji z uporabo mešanic kislin. Za detekcijo živega srebra se uporabi atomska absorpcijska spektrometrija hladnih par (AAS-HP).

V tem delu smo analizirali le celokupno koncentracijo Hg, pri tem smo upoštevali vse podatke v literaturi, da je delež Hg v metilirani obliki nad 90%. Vsekakor pa bi bilo koristno v teh vzorcih analizirati tudi MeHg, da bi to hipotezo potrdili. Različni načini konzerviranja lahko vplivajo tudi na mobilizacijo Hg iz mišičnega tkiva, zato bi bilo priporočljivo določiti vsebnost Hg v tekočini (olje, naravni sok) konzerv. Tudi dodatki, kot so začimbe (origano, rožmarin), prav tako lahko vsebujejo živo srebro, zato je priporočljivo v ribah analizirati MeHg.

Namen našega dela je bil uporabiti hiter in enostaven postopek za določanje celotne vsebnosti živega srebra v ribah in ribjih izdelkih z metodo AAS-HP. Na podlagi dobljenih rezultatov pa oceniti dnevni vnos živega srebra z ribami in ribjimi izdelki. Za razkroj vzorcev smo uporabili razkrojno mešanico kislin $\text{HNO}_3\text{-HClO}_4\text{-H}_2\text{SO}_4$. Pravilnost metode smo preverjali z uporabo standardnih referenčnih materialov (IAEA 350, Tuna muscle in DORM 2, Dogfish muscle), ki sta po naravi vzorca, najbližja našim vzorcem.

Določili smo vsebnost živega srebra v vzorcih svežih rib in ribjih izdelkov, kupljenih na slovenskem tržišču. Vsebnosti živega srebra v dvainpetdesetih vzorcih svežih rib so bile v območju od $3,5$ do $116,4 \mu\text{g}/100\text{g}$, v šestinsedemdesetih vzorcih ribjih izdelkov pa v območju od $0,4$ do $80 \mu\text{g}/100 \text{ g}$ živila. Ocenili smo, da z jedilno porcijo (100 g) svežih rib vnesemo od 58 do 1940% dovoljene dnevne količine živega srebra po priporočilih EPA, kar velja za povprečno težkega človeka. Po priporočilih FAO/WHO pa vnesemo od 8 do 277% dovoljene dnevne količine živega srebra. Z jedilno porcijo ribjih izdelkov (ena konzerva) vnesemo od 3 do 1556% po priporočilih EPA in $0,5$ do 222% živega srebra po priporočilih FAO/WHO. Ugotovili smo, da nekatere vrste rib, kot so mečarica, tuna, škarpena, močno presegajo priporočene količine živega srebra po priporočilih US EPA.

Zato jih ne priporočamo za uživanje več kot enkrat na teden. Medtem ko druge vrste rib, kot so file lososa, file lista, lignji, sardele, ustrezajo prehranskim priporočilom za tedensko uživanje rib tudi dvakrat na teden. Po priporočilih FAO/WHO lahko varno uživamo vse vrste rib v enkratnih ali večkratnih porcijah na teden, razen mečarice, s katero presežemo dovoljeno količino živega srebra že z eno porcijo na teden. Seveda pa morajo pri uživanju posameznih vrst rib paziti predvsem nosečnice ter otroci, pri katerih so varne doze živega srebra oziroma zaužite ribe še enkrat manjše od tistih, ki veljajo za odraslega človeka.

7 VIRI

CITIRANI VIRI

Ackman R. G. 1994. Seafood lipids. V: *Seafoods: Chemistry, processing, technology and quality*. Shahidi F., Botta J. R. (eds.). London, Blackie Academic and Professional: 34–46

Akagi H., Nishimura H. 1991. Speciation of mercury in the environment. V: *Advances in mercury toxicology*. Suzuki T. (ed.). New York, Plenum Press: 53–60

Andersen J. L., Depledge M. H. 1996. A survey of total mercury and methylmercury in edible fish and invertebrates from Azoren waters. *Marine Environmental Research*, 44: 331–350

Barbone F., Valent F., Pisa F., Horvat M., Daris F., Fajon V., Gibičar D., Logar M. 2004. Risks and benefits of fish consumption in an Italian population moderately exposed to methylmercury. *RMZ-Materials and geoenvironment, periodical for mining, metallurgy and geology = RMZ-materiali in geokolje, revija za rudarstvo, metalurgijo in geologijo*, 51: 344–345

Barkay T. 2000. Mercury cycle. V: *Encyclopedia of microbiology*. Vol. 3. 2nd ed. Lederberg J. (ed.). San Diego, Academic Press: 65-74

Belzile N., Chen Y., Tong J., Gunn J. M., Alarie Y., Wu G., Appanna V. 2004. The antagonistic role of selenium in mercury bioassimilation by living organisms. *RMZ-Materials and geoenvironment, periodical for mining, metallurgy and geology = RMZ-materiali in geokolje, revija za rudarstvo, metalurgijo in geologijo*, 51: 803-806

Boudou A., Riebeyre F. 1997. Mercury in the food web: accumulation and transfer mechanisms. V: *Metal ions in biological systems*. Vol. 34. Mercury and its effects on environment and biology. Sigel A., Sigel H. (eds.). New York, Basel, Hong Kong, Marcel Dekker: 289-314

Cabanero A. I., Carvalho C., Madrid Y., Batoreu C., Camara C. 2004. Quantification and speciation of mercury and selenium in fish samples of high consumption in Spain and Portugal. *Biological Trace Element Research*, 103: 17-33

Cleckner L. B., Garrison P. J., Hurley J. P., Olson M. L., Krabbenhoft D. P. 1998. Trophic transfer of methylmercury in the northern Florida Everglades. *Biogeochemistry*, 40: 347-361

Čepin S. 1997. Trendi prireje in porabe mesa v svetu in pri nas. V: *Meso v prehrani in zdravje*. Radenci, 1997. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 37-39

Dael P. 2001. Trace element speciation in food: A tool to assure food safety and nutrition quality. V: Trace element speciation for environment, food and health. Ebden L., Pitts L., Cornelis L., Crews H., Donard O. F. X., Quevauviller P. (eds.). Cambridge, The Royal Society of Chemistry: 232-238

Drasch G., Horvat M., Stoeppler M. 2005. Mercury. V: Elements and their compounds in the environment: occurrence, analysis and biological relevance. Vol. 2. 2nd ed. Merian E. (ed.). Weinheim, Wiley: 931-981

EFSA. 2004. Background note on EFSA risk assessment related to mercury and methylmercury in food. Parma, European Food Safety Authority.
www.efsa.eu.int (15.9.2006): 14 str.

FAOSTAT. 2005. Fishery in Europe. New York, Food and Agriculture Organization of the United Nations
<http://faostat.fao.org/default.aspx> (11.5.2005): 2 str.

FDA. 2004. What you need to know about mercury in fish and shellfish: EPA and FDA advice for: Women who might become pregnant, women who are pregnant, nursing mothers and young children. Rockville, U.S. Food and Drug Administration.
<http://www.cfsan.fda.gov/~dms/admehg3.html> (22.4.2005): 3 str.

FDA. 2005. Overview of the draft FDA/EPA methylmercury (MeHg) consumer advisory: presented at the Dec. 10-11 FAC meeting. 2005. Rockville, U.S. Food and Drug Administration.
<http://epa.gov/ost/fish> (12.5.2005): 3 str.

Figdor E. 2004. Reel danger: Power plant mercury pollution and the fish we eat. Washington, US. PIRG Education Fund: 1-13

Fish, levels of mercury and omega-3 fatty acids. 2005. Dallas, American Heart Association
<http://www.americanheart.org/presenter.jhtml?identifier=3013797> (11.4.2005): 3 str.

Fitzgerald W. F., Mason R. P. 1997. Biogeochemical cycling of mercury in the marine environment. *Metal Ions in Biological Systems*, 34: 53-111

Gibičar D., Jereb V., Jačimovič R., Dizdarevič T., Paiva E. C., Melamed R., Sobral L. G. S., Špirić Z., Horvat M. 2004. Optimisation of cold vapor atomic absorption spectrometry for determination of high levels of total mercury in activated carbon, *RMZ-Materials and Geoenvironment, Periodical for Mining, Metallurgy and Geology = RMZ-materiali in geokolje, revija za rudarstvo, metalurgijo in geologijo*, 51: 1921-1925

Grubišić F. 1990. Ribe, rakovi i školjke Jadrana. Zagreb, Hro Naprijed: 1-239

Grum D., Arnerič N., Kobal A., Horvat M., Ženko B., Džeroski S., Osredkar J. 2004. Can occupational exposure to elementary mercury increase the risk of suicide? *RMZ-Materials and Geoenvironment, Periodical for Mining, Metallurgy and Geology = RMZ-materiali in geokolje, revija za rudarstvo, metalurgijo in geologijo*, 51: 452-456

Horvat M. Mercury - Do we know enough?. V: *Trace element speciation for environment, food and health*. Ebden L., Pitts L., Cornelis L., Crews H., Donard O. F. X., Quevauviller P. (eds.). Cambridge, The Royal Society of Chemistry: 127-141

Horvat M. 1996. Mercury analysis and speciation in environmental samples. V: *Global and regional mercury cycles: sources, fluxes and mass balances*. Baeyens W., Leemakers M., Quevauviller P. (eds.). London, Kluwer Academic Publishers: 1-31

Horvat M., Kotnik J., Logar M., Fajon V., Zvonarić T., Pirrone N. 2002. Speciation of mercury in surface and deep-sea waters in the Mediterranean Sea. Ljubljana, Inštitut Jožef Stefan.

http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6VH3-4908N9N-6&...
(15.4.2005): 4 str.

Horvat M., Gibičar D. 2005. Speciation of mercury: Environment, food, chemical and occupational health. V: *Handbook of elemental speciation 2: Species in the environment, food, medicine and occupational health*. Cornelis R. (ed.). West Sussex, John Wiley & Sons, Ltd: 281-301

Houck A., Cech J. J. 2003. Effects of dietary methylmercury in juvenile Sacramento of blackfish bioenergetics. California, Center for Aquatic Biology and Aquaculture.

http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6T4G-4CTCXGS-1&...
(14.4.2005): 3 str.

IPCS/WHO. Inorganic mercury. Environmental health criteria 118.1991. Geneva, World Health Organization: 5 str.

Kure V. 2006. Vsebnost maščobnih kislin v svežih in konzerviranih morskih ribah. Diplomsko delo, Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 71 str.

Khansari F. E., Ghazi-Khansari M., Abdollahi M. 2003. Heavy metals content of canned tuna fish. *Food Chemistry*, 93: 293-296

Leermakers M., Baeyens W., Quevauviller P., Horvat M. 2005. Mercury in the environmental samples: Speciation, artifacts and validation. *Trends in Analytical Chemistry*, 24: 383-391

Lima A. P. S., Sarkis J. E. S., Shihomatsu H. M., Muller R. C. S. 2003. Mercury and selenium concentrations in fish samples from Cachoeira do Piria Municipality, ParaState, Brazil. *Environmental Research*, 97: 236-244

Magos L. 1997. Physiology and toxicology of mercury. V: Metal ions in biological systems. Vol. 34. Mercury and its effects on environment and biology. Sigel A., Sigel H. (eds.). New York, Basel, Hong Kong, Marcel Dekker: 321-350

Mahaffey K. R., Rice G. E., Schoen R. 1997. Mercury Study Report to Congress, Vol. 4: An Assessment of Exposure to Mercury in the United States, December 1997. Washington, D. C., EPA-452/R-97-006: 4-1 – 4-89

Mahaffey K. R. 2004. Fish and shellfish as dietary sources of methylmercury and the omega-3 fatty acids, eicosahexaenoic acid and docosahexaenoic acid: risks and benefits. Environmental Research, 95: 414-428

Marin M. 2005. Vpliv sezone ulova na lipidno sestavo in senzorično kakovost jadranske sardele (*Sardinia pilchardus*). Magistrsko delo. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 3-8

Naglič M. 2005. Kopičenje živega srebra v tkivih izbranih ribjih vrst v reki Idrijci. Diplomsko delo. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 2-2

MTS. 2005. Mercury Cycle. Texas, Mercury Technology Services
<http://www.hgtech.com/Information/Global%20Hg%20Cycle.htm> (15.9.2006): 1 str.

Nguyen T. H., Boman J., Leermakers M. 1997. Mercury analysis in environmental samples by EDXRF and CV-AAS. Analytical Chemistry, 360: 199-204

Odžak N., Matić M., Kljaković-Gaspić Z., Zvonarić T., Barić A. 2004. Bioavailability of mercury in saline waters; field experiment. RMZ-Materials and Geoenvironment, Periodical for Mining, Metallurgy and Geology = RMZ-materiali in geokolje, revija za rudarstvo, metalurgijo in geologijo, 51: 1275-1278

Osredkar J., Jerin A., Krsnik M., Horvat M., Kobal A. 2004. 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine in urine as a marker of oxidative DNA damage in ex miners of Idrija mercury mine. RMZ-Materials and Geoenvironment, Periodical for Mining, Metallurgy and Geology = RMZ-materiali in geokolje, revija za rudarstvo, metalurgijo in geologijo, 51: 490

Pirrone N. 2001. Ambient air pollution by mercury (Hg). Position paper. Luxembourg, Office for Official Publications of the European Communities, Working Group On Mercury.
<http://europa.eu.int/comm/environment/air/background.htm#mercury> : 142-145

Plestenjak A., Golob T. 2000. Sestava in prehranska kakovost animalnih maščob. V: Meso in mesnine za kakovostno prehrano. 2. posvet o vlogi in pomenu mesa v normalni – zdravi in dietni prehrani, Portorož, 10. in 11. feb. 2000. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 39-47

Polak T. 2000. Specifična problematika zmanjšanja maščob in holesterola v predelavi mesa klavnih živali, perutnine in rib. V: Meso in mesnine za kakovostno prehrano. 2. posvet o vlogi in pomenu mesa v normalni – zdravi in dietni prehrani, Portorož, 10. in 11. feb. 2000. Žlender B., Gašperlin L. (ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 49-87

Railey M. 1996. Trace elements in human nutrition and health. Geneva, World Health Organization: 206-209

Rajar R., Žagar D., Četina M., Akagi H., Yano S., Tomiyasu T., Horvat M. 2004. Application of three-dimensional mercury cycling model to costal seas. Ecological Modelling, 171: 139-155

Sket B., Povž M. 1990. Naše sladkovodne ribe. Ljubljana, Mladinska knjiga: 180-250

Treer T., Safner R., Aničić I., Lovrinov M. 1995. Kvaliteta, prerada i uporaba ribljeg mesa. V: Ribarstvo. Habeković D. (ur.). Zagreb, Globus: 426-427

Voegborlo R. B., Akagi H. 2004. Determination of mercury in fish from the Atlantic coast of Ghana by cold vapour atomic absorption spectrometry using an automatic mercury analyser. RMZ-Materials and Geoenvironment, Periodical for Mining, Metallurgy and Geology = RMZ-materiali in geokolje, revija za rudarstvo, metalurgijo in geologijo, 51: 2051-2055

Volk S. 2006. Določanje selena v ribah in ribjih izdelkih na slovenskem tržišču. Diplomsko delo, Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 72 str.

Zhang P., Chen C., Zhao J., Li B., Xing L., Qu L., Chai Z. 2004. Correlations of mercury, selenium and other elements in fish tissues from region at different mercury-exposure levels. RMZ-Materials and Geoenvironment, Periodical for Mining, Metallurgy and Geology = RMZ-materiali in geokolje, revija za rudarstvo, metalurgijo in geologijo, 51: 1457-1460

Žižek S. 2004. Bioakumulacija živega srebra v bentoških združbah tekočih voda. Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo: 41-42