

STRESZCZENIE

W wyniku działalności człowieka w ostatnich dziesięcioleciach uwolniono do środowiska wiele związków chemicznych, trwałych zanieczyszczeń organicznych (TZO), do których zaliczane są PCDD, PCDF i PCB. Związki te, choć występują w niskich stężeniach, są trwałe, wysoce toksyczne i podlegają biokumulacji w łańcuchach żywnościowych.

Ponieważ zagrożenie dla człowieka ze strony dioksyn, furanów i PCB, wynika głównie z ich biokumulacji w łańcuchu żywnościowym, hipoteza badawcza podjętych badań zakładała, że poziomy kongenerów PCDD, PCDF, dl-PCB oraz ndl-PCB w rybach są zróżnicowane i zależne od lokalizacji siedliska (tereny zurbanizowane lub rolnicze), stopnia zanieczyszczenia środowiska wodnego, w którym żyją a także od zawartości tłuszczu w tkankach ryb z powodu właściwości fizyko-chemicznych tych związków. Weryfikację powyższej hipotezy przeprowadzono w oparciu o następujące cele badawcze: ocenę poziomów zanieczyszczenia 35 kongenerami dioksyn i PCB ryb morskich (bałtyckich i dalekomorskich), ryb słodkowodnych (wolno żyjących i hodowlanych), charakterystykę profili dioksyn i PCB w mięśniach i osadach, określenie relacji między ich stężeniami i zawartością tłuszczu w mięśniach, poszukiwanie zależności między poziomem kongenerów w mięśniach a poziomem zanieczyszczenia w osadach, zbadanie biokumulacji badanych związków w wolno żyjących rybach słodkowodnych oraz oszacowanie narażenia na dioksyny i PCB konsumentów ryb.

Materiał do badań stanowiło 750 próbek mięśni 32 gatunków ryb bałtyckich, dalekomorskich, słodkowodnych hodowlanych oraz wolno żyjących, w których oznaczano zawartość 35 toksycznych kongenerów dioksyn i PCB oraz próbki osadów dennych. W badaniach zastosowano technikę rozcieńczeń izotopowych, a detekcję przeprowadzono, stosując wysokorozdzielczą spektrometrię mas z wysokorozdzielczą chromatografią gazową.

Stwierdzono, że stężenia dioksyn i PCB w mięśniach ryb różniły się w zależności od gatunku ryby, zanieczyszczenia i lokalizacji łowiska oraz zawartości tłuszczu w mięśniach ryb. Wśród gatunków ryb bałtyckich (łosoś, troć, śledź, szprot, flądra, gładzica, dorsz) występowały znaczne różnice stężeń, mimo żerowania w tych samych strefach Bałtyku (ICES 24,25,26). Biorąc pod uwagę rodzaj akwenów wodnych, najbardziej zanieczyszczone były ryby bałtyckie, wyłączając dorsza, który nie kumulował w mięśniach PCDD, PCDF, PCB. Najwyższe poziomy, przekraczające dopuszczalną zawartość w mięśniach ryb, stwierdzono w łososiach i trociach. W przeciwieństwie

do ryb bałtyckich, ryby dalekomorskie oraz słodkowodne zawierały znacznie mniej dioksyn i PCB. Niemniej jednak znaleziono akwenty lokalnie zanieczyszczone w większym stopniu niż pozostałe (rzeka Wisła w Krakowie). Leszcze z Wisły pobrane w obszarze Krakowa zawierały dioksyny i PCB w równie wysokich stężeniach, jak bałtyckie trocie i łososie (do 9,27 pg WHO-TEQ/g ś.m.). Świadczy to o wysokim zanieczyszczeniu rzeki Wisły w obszarze Krakowa, ale także może być efektem sposobu pobierania pokarmu przez ten gatunek ryby. Porównując ryby z łowisk na terenach rolniczych i zurbanizowanych generalnie stwierdzono, wyższe poziomy badanych związków w mięśniach ryb pochodzących z łowisk położonych na terenach zurbanizowanych.

Porównując stężenia dioksyn i PCB w mięśniach ryb, związków różniących się pochodzeniem stwierdzono, że wszystkie gatunki ryb morskich i słodkowodnych w wyższym stopniu kumulowały dl-PCB niż PCDD/PCDF. Wkład dl-PCB do sumarycznej toksyczności w rybach z Bałtyku był zależny od gatunku ryby (od 47% w śledziach do 70% w dorszach). Różnice dotyczyły również gatunków słodkowodnych w obrębie tego samego siedliska np. w płociach ze Zbiornika Rybnickiego dl-PCB stanowiły 49% sumarycznej toksyczności, a w leszczach o 10% mniej. Kongenerem, który dominował w sumarycznej toksyczności próbek mięśni ryb, był PCB 126 (25–68%).

Profil kongenerów PCDD i PCDF we wszystkich badanych gatunkach bałtyckich był zdominowany przez dwa furany: 2,3,7,8-TCDF i 2,3,4,7,8-PeCDF. Inne profile dioksyn stwierdzano w dalekomorskich tuńczykach, mintajach i morszczukach, w których dominował kongener OCDD. Inny profil dioksyn występował również w rybach słodkowodnych z najbardziej zanieczyszczonych łowisk Wisły w obszarze Krakowa (Łączany i Dąbie). Tu dominowała heksachlorodibenzo-furan (1,2,3,4,7,8-HxCDF). W mięśniach hodowlanego węgorza najwyższe stężenia osiągał furan 2,3,4,7,8-PeCDF i dwa kongenery dioksyn 1,2,3,7,8,9-HxCDD i 1,2,3,7,8-PeCDD. Obserwowane różnice mogą być efektem wpływu zanieczyszczonego środowiska, ale także wynikiem cech gatunkowych ryby. Stwierdzono również, że profile kongenerów zarówno dl-PCB, jak i ndl-PCB były jednakowe we wszystkich gatunkach ryb morskich i słodkowodnych niezależnie od środowiska, w którym żyły. Wśród dl-PCB dominowały kongenery PCB 118 i 105, a wśród ndl-PCB kongenery PCB 153 i 138. Tak, więc różnice dotyczące kumulacji badanych związków dotyczyły tylko dioksyn i furanów.

Wykazano, że wraz ze wzrostem zawartości tłuszczu w mięśniach ryb zarówno morskich jak i słodkowodnych wzrasta poziom wszystkich badanych grup związków. Zastosowane

współczynniki korelacji Spearmana wskazały na istnienie korelacji dodatniej. Wynosiły od 0,64 do 0,72 (ryby bałtyckie) od 0,74 do 0,88 (ryby dalekomorskie), od 0,69 do 0,83 (ryby wolno żyjące słodkowodne) oraz od 0,54 do 0,61 (ryby hodowlane) i były statystycznie istotne dla $p < 0,05$. Potwierdza to lipofilny charakter badanych związków i znaczenie zawartości tłuszczu w mięśniach na kumulację dioksyn i PCB w mięśniach ryb.

Osady dennie z krajowych rzek i jezior zawierały niskie stężenie PCDD, PCDF, dl-PCB i ndl-PCB, za wyjątkiem osadów z najbardziej zanieczyszczonych łowisk rzeki Wisły w obszarze Krakowa (8,73 pg WHO-TEQ/g s.m. dla PCDD/PCDF/dl-PCB). Obserwowano różnice w profilach kongenerów PCDD/PCDF pomiędzy osadami i mięśniami ryb. Dominujące w osadach dennych kongenery OCDD i HpCDD nie podlegały kumulacji w mięśniach ryb. Natomiast profile kongenerów dl-PCB i ndl-PCB w osadach dennych i mięśniach ryb były analogiczne, co wskazuje na istotny wpływ środowiska. Statystycznie istotny wpływ poziomu zanieczyszczenia osadów na poziomy w mięśniach ustalono dla leszczy i płoci. Biokumulacja kongenerów dl-PCB z osadów dennych była nawet kilkadziesiąt razy większa w stosunku do dioksyn i furanów.

Analizując narażenie ludzi wynikające z konsumpcji ryb zawierających wysoką zawartość dioksyn i dl-PCB stwierdzono, że istnieje ryzyko przekroczenia obowiązujących od 2001 r. tolerowanych tygodniowych i miesięcznych dawek referencyjnych (TWI_{2001 r.} i PTMI). Dla przykładu, już po spożyciu 154 g troci przez dorosłego konsumenta i 50 g przez dziecka zostaje osiągnięta dawka TWI_{2001 r.} wynosząca 14 pg WHO-TEQ/kg mc. Biorąc pod uwagę fakt, że dioksyny są pobierane przez ludzi również wraz z innymi rodzajami żywności zawierającymi dioksyny, powyższe dane wskazują, że konsumpcja ryb może być istotnym źródłem narażenia na dioksyny i PCB.

Sytuacja staje się bardziej krytyczna po uwzględnieniu nowej dawki TWI podanej przez EFSA w 2018 (2 pg WHO-TEQ/kg m.c.). Po spożyciu przez osobę dorosłą 200 g ryby, o niskim stężeniu np. 0,7 pg WHO-TEQ/g s.m. zostaje osiągnięte 100% TWI_{2018 r.} W przypadku dziecka spożycie 200 g ryby zawierającej np. 0,23 pg WHO-TEQ/g s.m. zostaje osiągnięta dawka TWI_{2018 r.} Te przykładowe stężenia są 9 i 28 razy niższe niż dopuszczalna aktualna zawartość sumy dioksyn i dl-PCB w rybach (Rozp. 1259/2011/UE). W związku z nowa wartości TWI_{2018 r.}, należy stwierdzić, że aktualnie na rynku krajowym dostępne są ryby, które pomimo spełnienia wymagań dotyczących dopuszczalnych limitów tj. wspomnianego rozporządzenia KE, stanowią poważne źródło dioksyn, furanów i PCB w diecie człowieka i zagrożenie jego zdrowia.

SUMMARY

As a result of human activity in recent decades, many compounds from the group of persistent organic pollutants (POPs) including PCDDs, PCDFs, and PCBs have been released into the environment. Although they are present in low concentrations, they are persistent, highly toxic and bioaccumulate in the food chain.

Because the threat to humans from dioxins, furans and PCBs is mainly due to their bioaccumulation in the food chain, the research hypothesis assumed that their accumulation in fish varied and depends on the location of the habitat (urbanized or agricultural areas), pollution of the aquatic environment and fat content in fish muscles. Verification of the hypothesis was based on the following research objectives: assessment of marine fish (Baltic and deep-sea) and freshwater fish (free-living and aquaculture) pollution by 35 dioxin and PCB congeners, characteristics of dioxins and PCBs profiles in muscles and sediments, determination of the relationship between dioxins and PCBs concentration and fat content in muscles, verification of the relationship between the levels in muscles and the level of sediments pollution, the bioaccumulation of analyzed compounds in free-living freshwater fish and the exposure estimation of fish consumers to dioxins and PCBs.

The research material consisted of 750 muscle samples of 32 species of Baltic Seas, deep-sea, freshwater and free-living fish, in which the content of 35 toxic dioxins and PCB congeners were estimated, as well as samples of bottom sediments. Isotope dilution technique with high-resolution gas chromatography coupled with high-resolution mass spectrometry was used.

It was found that the concentrations of dioxins and PCBs in fish muscles varied depending on the fish species, contamination and location of the fishery as well as fat content in fish muscles. Among Baltic fish species (salmon, sea trout, herring, sprat, flounder, plaice, cod) there were significant differences in concentrations, despite feeding in the same Baltic Sea zones (ICES 24, 25, 26). Considering the type of water reservoirs, Baltic fish were the most contaminated, excluding cod, which did not accumulate PCDDs, PCDFs, and PCBs in muscles. The highest levels, exceeding the acceptable limits were found in salmon and trout. In contrast to the Baltic fish, freshwater ones were less polluted, but there was one local hot-spot. Breams from the Vistula river (Cracow) contained dioxins and PCBs at the same high levels as the Baltic trout or salmon (up to 9,27 pg WHO-TEQ/g wet weight (w.w), exceeding the acceptable limits. This indicates the high pollution of the Vistula River in the area of Cracow, but it may also be a result of the fish feeding way. Higher

levels of the studied compounds were generally found in fish muscles from fisheries in urbanized areas.

Comparing the concentrations of dioxins and PCBs in fish muscle, compounds of different origin, it was found that all marine and freshwater fish species accumulated DL-PCBs more than PCDDs/PCDFs. The contribution of DL-PCB to the total toxicity in fish from the Baltic Sea depended on the fish species (from 47% in herring to 70% in cod). Differences were also related to freshwater species within the same habitat, e.g. in fencas from Rybnik dl-PCB Reservoir accounted for 49% of total toxicity, and in breams 10% less. The congener, which predominated in the total toxicity of fish muscle samples, was PCB 126 (25-68%).

The profile of PCDD and PCDF congeners in all studied Baltic species was dominated by two furans: 2,3,7,8-TCDF and 2,3,4,7,8-PCDF. Other profiles of dioxins were found in deep-sea tuna, pollock, and hake, in which the OCDD congener predominated. Another profile of dioxins was also found in freshwater fish from the most contaminated Vistula fisheries in the area of Cracow (Łączany and Dąbie), in which hexachlorodibenzofuran (1,2,3,4,7,8-HxCDF) predominated. In the aquaculture eel muscles, the highest concentrations reached 2,3,4,7,8-PeCDF, and two dioxins 1,2,3,7,8,9-HxCDD and 1,2,3,7,8-PeCDD. The observed differences may be a result of individual features or the impact of environmental pollution. The congener profiles, both DL-PCB and NDL-PCB, were identical in all fish species regardless of the environment which in they lived. Among DI-PCBs, PCB 118 and 105 and Ndl-PCB, PCB 153 and 138 were dominant. The differences in the accumulation of the tested compounds concerned only dioxins and furans.

It has been shown that with the increase of fat content in the muscles of both marine and freshwater fish, the level of all tested groups of compounds increases (PCDD, PCDF, DL--PCB and NDL-PCB). The Spearman correlation coefficients applied indicated the existence of a positive correlation. They ranged from 0.64 to 0.72 (Baltic fish) from 0.74 to 0.88 (deep-sea fish), from 0.69 to 0.83 (slow-moving freshwater fish) and from 0.54 to 0.61 (farmed fish) and were statistically significant for $p < 0.05$. This confirms the lipophilic character of the tested compounds and the importance of fat content in muscles on the accumulation of dioxins and PCBs in fish muscles.

Bottom sediments from domestic rivers and lakes contained a low concentration of PCDD, PCDF, DL-PCB, and NDL-PCB, except for sediments from the most contaminated Vistula river fishery in the area of Cracow (8.73 pg WHO-TEQ/ g f.w. for PCDD/PCDF/ DL-PCBs). Differences were observed in PCDD/PCDFs congener profiles between sediments and fish muscles. The OCDD

and HpCDD congeners dominating in bottom sediments were not accumulated in fish muscles. However, the profiles of DL-PCB and NDL-PCB congeners in bottom sediments and fish muscles were analogous, which indicates a significant environmental impact. A statistically significant effect of sediment pollution on muscle levels was established for bream and roach. Bioaccumulation of dl-PCB congeners from bottom sediments was even several dozen times higher in relation to dioxins and furans.

Analyzing the human exposure resulting from the consumption of fish containing a high content of dioxins and dl-PCBs it was found that there is a risk of exceeding the tolerated weekly and monthly reference doses (TWI 2001 and PTMI) in force since 2001. For example, after the consumption of 154 g trout by an adult consumer and 50 g by a child, a dose of TWI_{2001r} of 14 pg WHO-TEQ/kg b.w. is reached. Considering the fact that dioxins are also taken by humans along with other foods containing dioxins, the above data indicate that fish consumption can be an important source of exposure to dioxins and PCBs.

The situation becomes critical after taking into account the new TWI dose given by EFSA in 2018 (2 pg WHO-TEQ / kg m.c.). After ingestion by an adult 200 g of fish, low concentration, e.g. 0.7 pg WHO-TEQ/ g f.w. 100% TWI₂₀₁₈ is achieved. In the case of a child, the intake of 200 g fish containing, for example, 0.23 pg WHO-TEQ/g dm, the dose TWI₂₀₁₈ is reached. These exemplary concentrations are 9 and 28 times lower than the permissible current total content dioxins and DL-PCBs in fish (Reg. 1259/2011/EU). In view of the new value of TWI₂₀₁₈, it has to be concluded that currently on the domestic market there are fish, which despite meeting the requirements on the limit of dioxins and PCBs, i.e. the mentioned EC Regulation, maybe a serious source of dioxins, furans and PCBs in the diet and may pose a threat to the health of consumers.