

РИСКОВЕ ЗА ЗДРАВЕТО, СВЪРЗАНИ С КОНСУМАЦИЯТА НА МОРСКИ ХРАНИ, СЪДЪРЖАЩИ БИОТОКСИНИ ОТ СЕВЕРНОТО БЪЛГАРСКО ЧЕРНОМОРИЕ

Златина Петева, Мона Станчева, Станислава Георгиева, Анелия Герасимова,
Любомир Македонски

Катедра „Химия“, Факултет „Фармация“, Медицински университет – Варна

HEALTH RISKS ASSOCIATED WITH CONSUMPTION OF MARINE BIOTOXIN-CONTAMINATED SEAFOOD FROM THE NORTH BULGARIAN BLACK SEA COAST

Zlatina Peteva, Mona Stancheva, Stanislava Georgieva, Anelia Gerasimova,
Lubomir Makedonski

Department of Chemistry, Faculty of Pharmacy, Medical University of Varna

РЕЗЮМЕ

Морските храни, включително риби, миди и др., са здравословен източник на протеини и дълговерижни омега-3 мастни киселини, важни например за ранното развитие, за състоянието на очите и сърцето на човека.

В България се увеличава консумацията на миди през последните години. Но изследванията показват, че морските дарове съдържат някои замърсители като метилживак, арсен, устойчиви органични замърсители (POPs) – ДДТ (DDTs), полихлорирани бифенили (PCBs) и морски биотоксини (фикотоксини). Всички те могат да повлияят неблагоприятно на човешкото здраве, ако се приемат, например с храната, над определени нива, при или без продължителна експозиция.

Целта на това изследване беше да се определят нивата на фикотоксини в миди, предназначени за консумация от човека, и да се оценят рисковете за здравето, свързани с тяхната консумация.

Проби миди (диви и култивирани) бяха осигурени от рибни пазари и магазини през 2016, 2017 и 2018 г. Анализът на риска за здравето беше извършен, както следва: 1) определяне на нивата на фитотоксини чрез течна хроматография с мас детекция (LC-MS); 2) сравнение на нивата на морските биотоксини с нормативните стойности за ЕС; 3) оценка на острата и хронична експозиция; 4) заключение за рисковете

ABSTRACT

Seafood, defined as marine and freshwater fish and shellfish, is recognized as a healthy food choice because it is a low-fat protein source that provides long-chain omega-3 fatty acids important for early development along with eye and heart health. In Bulgaria, the consumption of shellfish has been increasing recently. However, seafood is also known to contain certain contaminants, such as methylmercury, arsenic, persistent organic pollutants (POPs) – DDTs and PCBs and marine biotoxins (phycotoxins). They all may adversely affect human health if ingested over certain levels with or without prolonged exposure.

The aim of this research was to evaluate the phycotoxin levels in mussels intended for human consumption and to comment the health risks associated with their consumption.

Mussel (wild and farmed) samples were provided from seafood markets in 2016, 2017 and 2018. The health risk analysis has been conducted as follows: 1) determination of phycotoxin levels via LC-MS technique; 2) comparison the marine biotoxins levels with the EU legislative limit; 3) estimation of acute and chronic exposure; 4) conclusion about the health risks associated with consumption of investigated species. Results indicate the presence of domoic acid (DA), yessotoxins (YTXS), pectenotoxin-2 (PTX-2) and azaspiracids (AZAs) in the samples. The health risks that could be associated – amnesic shellfish and azaspiracid poisoning are due to availability of DA and AZAs, respectively. YTXs and PTX-2 have no proven effect on

за здравето, свързани с консумацията на изследваните миди.

Резултатите от изследванията показват наличие на домоена киселина (DA), йесотоксини (YTXs), пектентооксин-2 (PTX-2) и азаспирациди (AZAs) в пробите. Здравните рискове – амнезиево и азаспирацидно отравяне, се дължат съответно на наличието на DA и AZAs. YTXs и PTX-2 нямат доказан ефект върху човешкото здраве, но са силно токсични за мишки при *i.p.* инжектиране. Тъй като регистрираните нива на фитотоксини и изчислената остра и хронична експозиция бяха много по-ниски от референтната стойност, може да се направи заключение, че здравният риск, свързан с консумацията на изследваните миди, съдържащи морски биотоксини от северния бряг на Българското Черноморие, е нисък.

Ключови думи: замърсители в морски храни, неблагоприятно въздействие върху здравето, миди, фикотоксини, амнезиево отравяне

ВЪВЕДЕНИЕ

Океаните и моретата са ценен източник на хранителни ресурси – риба, черупчести мекотели и др. (20). През последните години се налага мнението, че здравословният хранителен режим трябва да е богат на морски храни (4) поради високото съдържание на протеини, ненаситени мастни киселини, мастно разтворими витамини, есенциални елементи и ниско съдържание на холестерол (8,21). Изследванията показват, че черноморската мида *Mytilus galloprovincialis* съдържа високи концентрации на витамини А, Е и D3, както и п3 и п6 (омега 3 и 6) ненаситени мастни киселини (37,29,9). Високата хранителна стойност (6) и нарастващите нужди от храна в световен мащаб доведоха до повишен интерес към отглеждането на мидите като аквакултури и увеличаване улова на диви видове (30), включително и в България (40).

Отрицателен ефект върху развитието на аквакултурите и дивите видове миди може да има и т.нар. „цъфтеж на токсичен планктон“ (harmful algal bloom – HAV) (19) или „червен прилив“ (red tide). Обикновено цъфтежът на планктона благоприятства развитието на филтриращите го видове, но определени фитопланктонни видове (диатоми и динофлагелати) продуцират морски токсини (алготоксини, фикотоксини) (1).

human health but are acutely toxic to mice via i.p. injection. As the registered phycotoxin levels and the calculated acute and chronic exposure were much lower than the reference limit, in general, it could be concluded that the health risk associated with consumption of marine biotoxin-contaminated seafood from North Bulgaria would be low.

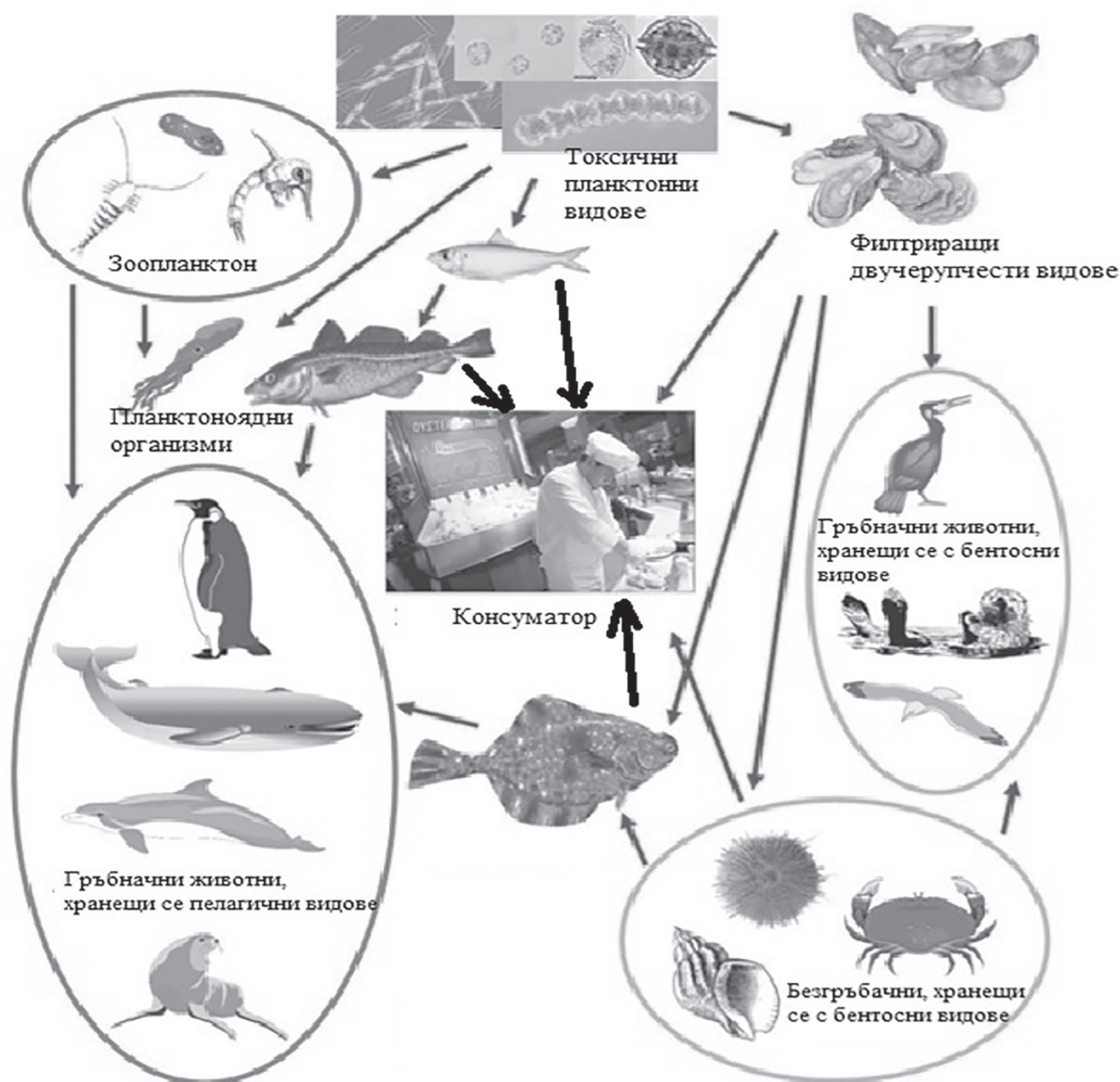
Keywords: seafood contaminants, adverse health effect, mussels, phycotoxins, amnesic shellfish poisoning

Фикотоксините се акумулират в мидите, а по хранителната верига (Фиг. 1) достигат до човека. В мидите токсините се натрупват в хепатопанкреаса (храносмилателна жлеза), без да предизвикат каквато и да е външна промяна в мидата. Те са относително стабилни, не се разпадат, а дори значително повишават концентрацията си при кулинарна обработка (22,34). Откриването на токсини в морската храна не е лесно и нито производителите на миди, нито потребителите могат да определят по сензорните качества на мидите дали са безопасни за консумация или не (17).

Черната мида (*Mytilus galloprovincialis*) е единствен вид, обект на отглеждане в морската ни аквакултура. Съществуващите към настоящия момент ферми за черна морска мида са 35 с обща продукция за 2014 г. от 2474 тона (16).

През 2014 г. уловът на черноморска черна мида бележи сериозен скок като е с 51,5% повече в сравнение с 2013 г. и достига 16,23 тона/годишно (16).

Според изследване, проведено от Изпълнителната агенция по рибарство и аквакултури (ИАРА) (39), в което участват 2040 домакинства, черната мида е предпочитан като най-често консумиран вид от 2,8% от домакинствата в страната.



Фиг. 1. Морска хранителна мрежа, път на преноса на морски токсини през трофичните нива (модиф. www.cencoos.org)

Целта на това изследване беше да се определят нивата на фикотоксини в миди, предназначени за консумация от човека, и да се оценят рисковете за здравето, свързани с тяхната консумация.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

В изследването бяха включени общо 14 проби миди (Табл. 1). Пробите бяха взети от рибни пазари в градове от Северното Черноморие (Шабла, Каварна, Балчик, Варна) на случаен принцип.

Хепатопанкреас (храносмилателна жлеза) от около 1 kg проба (с черупки) се дисектира, хомогенизира и замразява. Приблизително 4 g хомогенизиран хепатопанкреас се екстрахира с метанол и се обезмаслява с хексан.

Табл. 1. Данни за периода на пробовземане, видове и брой проби

Период	Диви миди	Култивирани миди	Общо
2016	2	2	4
2017	2	5	7
2018	0	3	3

Домоената киселина (DA) и липофилните токсини (йесотоксини (YTXs), пектенотоксини (PTXs), азаспирациди (AZAs), акадаена киселина (OA) и динофизистоксини (DTXs)) бяха определени чрез течнохроматографски метод (LC-MS/MS) съгласно аналитична процедура, описана от Krock et al. (2008 г.) (27).

Нивата на токсините в храносмилателните жлези (pg/g) бяха преизчислени спрямо цяло мидено месо (shellfish meat (sm)) (mg/kg или µg/kg). Приема се, че количеството на токсините в 5g от храносмилателната жлеза е еквивалентно на количеството токсини в 25 g цяло мидено месо (European Commission, 2005). Това преизчисление, макар и да не отразява точно спецификата на анатомията на всички видове черупчести мекотели, се счита за добро приближение (13,15).

Концентрацията на AZA2 е представена като µg AZA1 eq/kg bw чрез прилагане на фактор на токсичност (toxic equivalency, TEF) – 1,8 към концентрацията на AZA2. Това е необходимо, защото референтната стойност за всички AZA-токсини се представя в цитираната единица (14).

Данни за средно телесно тегло на българското население бяха предоставени от Националния статистически институт (2016 г.).

Данни за консумацията на миди на българското население бяха използвани от доклад на ИАРА за годишното потребление на риба и аквакултури (39).

Данни за средния размер на порция миди бяха обобщени от независимо проучване, проведено от нашия изследователски екип в 35 местни ресторанта (непубл.).

Консумацията на миди беше изследвана през 2017 чрез индивидуални интервюта с местното население (независимо проучване).

Разликата в оценката на острата и хроничната експозиция се основава на консумационния параметър, който се използва. При острата експозиция се отчита размерът на порцията на даден вид черупчести видове, докато при хроничната – честотата на консумация на черупчести мекотели (35,34).

За изчисляване на дневна остра експозиция (daily acute exposure) беше използвана следната формула, предложена от Andjelkovic et al. (2012) (2):

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

където

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

m – тегло на порция миди (weight of portion) (kg) (0,327 kg, независимо проучване);

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

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

Хроничната експозиция (chronic exposure) е повтаряща се експозиция на ниски или много ниски дози за дълъг период от време. Оценката на хроничната експозиция съответства на нивото на експозиция при ежедневна консумация на черупчести мекотели. Изчислява се по следната формула, предложена от Andjelkovic et al. (2012) (2):

$$CE = \frac{\sum(w_t \times Cr \times P)}{BW}$$

CE – индивидуална хронична експозиция (individual chronic exposure) (mg/kg/day) на изследван фикотоксин;

C_r – честота на консумация (mean daily consumption rate) (kg/day), 0,004 kg/day за консуматори от България, ЕАФА; 0,073 kg/day за консуматори от местното население (гр. Варна и др.), независимо проучване;

P – средно процентно съотношение (proportion) на миденото ястие в диета на консуматора (безмерно) – 0,2, независимо проучване.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Поради увеличеното производството и консумацията на черупкови организми, вкл. миди, има нужда от осигуряване на защита на здравето на потребителите.

Двучерупчестите мекотели могат да бъдат сериозна заплаха за безопасността, когато се консумират сурови или варени, поради наличието на токсикологични рискове (23,25).

В настоящото изследване бяха анализирани всички липофилни токсини, които понастоящем се регулират в ЕС: OA, DTXs, PTXs, YTXs и AZAs, и хидрофилният токсин домоена киселина (11). В предишни публикации (31,32,33) бяха представени и обобщени данни за концентрациите на определените токсини в хепатопанкреас на миди – DA, PTXs, YTXs, AZAs. Концентрациите в хепатопанкреас бяха преизчислени за кг мидено месо (kg sm). Средните стойности на преизчислените концентрации са представени в Табл. 2. Всички определени концентрации бяха значително по-ниски от референтните стойности в ЕС. OA и производните ѝ DTXs не бяха установени в пробите.

Здравните рискове – амнезиево и азаспирацидно отравяне, се дължат съответно на наличието на DA и AZAs.

DA причинява токсичен ефект в централната нервна система чрез свръх стимулиране на глутаматните рецептори (38). Добре известно е, че острата експозиция при високи дози причинява гърчове, загуба на памет, припадъци, а в някои случаи и смърт (28).

0.272 mg/kg sm, а PTX-2 – от 53.2 до 93.5 µg/kg sm (36). Определените концентрации в нашето изследване за YTX и PTX са значително по-ниски от цитираните.

Установената средна концентрация на AZA-2 е по-ниска от нивата на AZA-2 в двучерупчести

Табл. 2. Данни за броя положителни проби, средни нива на определените фикотоксини и референтни стойности

Определени фикотоксини	DA	YTX	PTX2	AZA2
Брой положителни проби	4	6	1	2
Средна положителна концентрация	0.0718 mg DA/kg sm	0.0008 mg YTX/kg sm	0.0002 mg PTX2/kg sm	0.0001 mg AZA1/kg sm
Референтна концентрация (10) (11)	20 mg DA/kg sm	3.75 mg YTX/kg sm	160 mg PTX2/kg sm	160 mg AZA1/kg sm

Ефектите от хроничната асимптоматична експозиция на ниски концентрации DA не са добре проучени, но са от особена важност за местното население по крайбрежията, включително редовни консуматори и събирачи на миди. Някои миди (razor clams) могат да задържат ниски нива DA в тъканите си една година след токсичен цъфтеж (28).

Консумацията на морски дарове, съдържащи AZA, предизвиква остро отравяне, характеризиращо се с гастроинтестинални симптоми, които се появяват в рамките на часове и включват гадеене, повръщане, тежка диария и стомашни спазми. Симптомите продължават 2–3 дни и досега няма отчетени дългосрочни ефекти (24).

YTXs и PTX-2 нямат доказан ефект върху човешкото здраве, но са силно токсични за мишки при i.p. инжектиране (3,26).

В периода 2008-2009 Bouchouicha-Smida et al. (2015) (7) са определили DA с близки стойности (0.13–0.86 µg DA/g тъкан) в миди *Mytilus galloprovincialis* от Северозападно Средиземно море, в близост до област Бизерте, Тунис.

В проби миди *M. galloprovincialis* от Централно Адриатическо море от периода 2015–2017 са установени концентрации на YTX от 0.076 до

от северния бряг на Иберийския полуостров в периода 2016–2017 – 5,4 µg AZA-1 eq/kg (5).

Експозиция към домоена киселина и йесотоксини

Изчислена беше експозицията към домоена киселина (Табл. 3 и Табл. 4) и йесотоксини (Табл. 5), тъй като тези алготоксини са открити в по-голям брой проби. Оценката на хроничната експозиция беше приложима само за DA, тъй като за YTX няма данни за хронични ефекти при животни и не е установен допустим дневен прием (TDI).

Резултатите показаха, че експозицията към двата токсина е значително по-ниска от нормативните стойности – остра референтна доза (acute reference dose (ARfD)) (за домоена киселина и йесотоксин) и допустим дневен прием (tolerable daily intake (TDI)) (за домоена киселина). Жените от местното население (поради ниското си телесно тегло – 64.3 кг) са изложени на по-висока експозиция към изследваните фикотоксини в сравнение с мъжете.

Изчислената остра експозиция към DA за България – 0.328µg/kg е приблизително два пъти по-ниска от тази на белгийското население (0.58µg/kg bw), а изчислената хронична експозиция

Табл. 3. Данни за острата експозиция на DA при мъже и жени и референтна стойност

	µg DA/kg bw България	µg DA/kg bw мъже, Варна	µg DA/kg bw жени, Варна
Изчислена остра експозиция	0,328	0,309	0,365
ARfD (15)	30 µg/kg bw		

Табл. 4. Данни на хроничната експозиция на DA и референтна стойност

	$\mu\text{g DA/kg bw/day}$ България	$\mu\text{g DA/kg bw/day}$ мъже, Варна	$\mu\text{g DA/kg bw/day}$ жени, Варна
Изчислена хронична експозиция	0,0008	0,0138	0,0163
TDI (15)	0.075 $\mu\text{g/kg bw/day}$		

Табл. 5. Данни на острата експозиция на YTX при мъже и жени и референтна стойност

	$\mu\text{g YTX/kg bw}$ България	$\mu\text{g YTX/kg bw}$ мъже, Варна	$\mu\text{g YTX/kg bw}$ жени, Варна
Изчислена остра експозиция	0,004	0,003	0,004
ARfD (12)	25 $\mu\text{g/kg bw per day}$		

позиция на DA за България – 0.0008 $\mu\text{g/kg bw/day}$ е приблизително сто пъти по-ниска от тази на белгийското население (0.07 $\mu\text{g/kg bw/day}$) (2) и приблизително десет пъти по-ниска от изчислената хронична експозиция в наше изследване на проби (диви и култивирани миди), съответно осигурени от събирачи на миди или събрани директно от установките за отглеждане в мидените ферми от пролетта на 2017 (0.0076 $\mu\text{g/kg bw/day}$) (18). От друга страна изчислената остра експозиция на YTX за България за пролет 2017 в цитираното изследване (18) – 0.0005 $\mu\text{g/kg}$ е около 10 пъти по-ниска от установената тук – 0.004 $\mu\text{g/kg}$, докато изчислената остра експозиция на YTX за България за лято 2017 – 0.0031 е приблизително равна на установената в настоящото изследване. Прави впечатление, че хроничната експозиция към DA за местното население (мъже и жени), съотв. 0.0138 и 0.0163 $\mu\text{g/kg bw/day}$, е значително по-висока от тази за България – 0.0008 $\mu\text{g/kg bw/day}$. Това се дължи на редовното консумиране на по-голяма порция миди (0.073 kg/day) (независимо изследване) от местното население. Тази значителна разлика в изчислените експозиции показва, че безопасността на този вид морски дарове може да бъде гарантирана главно чрез превантивни мерки и прилагане на подходящи процедури като обхващане на повече места за търговия, включително фермите на производство, програми за мониторинг на качеството на водите, подходящи методи за анализ и хигиенен контрол (11).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В изследваните проби миди бяха определени концентрации на DA, YTX, PTX2 и AZA2 много по-ниски от определените в Европейския съюз референтни стойности. Изчислени бяха остра и хронична експозиция на населението по отношение на DA и остра експозиция на YTX, които по-

казаха, че няма значим риск от отравяне с морски токсини при консумация на миди. За превенцията на този вид отравяния и хронична експозиция е необходимо да се провежда периодичен мониторинг като се проследяват нивата на токсините в черноморските миди, които биха застрашили здравето на хората.

Декларация

Настоящото изследване е осъществено със средства за финансиране на проект по договор НИИ-9/5.12.2016, осигурени от Фонд Наука, Медицински университет „Проф. д-р П. Стоянов“ - Варна.

ЛИТЕРАТУРА

1. Anderson DM, Dixon SFE. Harmful Algal Blooms (HABs) and Desalination: A Guide to Impacts, Monitoring and Management In: Boerlage MB (Eds). IOC Manuals and Guides No.78. Paris: Intergovernmental Oceanographic Commission: 2017, p. 53-88
2. Andjelkovic M, Vandevijvere S, Van Klaveren J, Van Oyen H, Van Loco J. Exposure to domoic acid through shellfish consumption in Belgium. Environment International. 2012; 49: 115-119.
3. Aune T, dela Rosa L, Vieytes MR, Yasumoto T, Botana LM. Yessotoxin, a novel phytotoxin, activates phosphodiesterase. Biochem. Pharmacol. 2003; 65: 193-208.
4. Bilandzin N, Sedak M, Calopek B, Zrncic S, Oraic D. Element differences and evaluation of dietary intake from farmed oysters and mussels collected at different sites along the Croatian coast of the Adriatic Sea. Journal of Food Composition and Analysis. 2016; 45: 39-49.

5. Blanco, J, Arévalo F, Moroño A, Correa J, Muñiz S, Mariño C, Martín H. Presence of azaspiracids in bivalve molluscs from Northern Spain. *Toxicon*. 2017; 137: 135-143.
6. Bongiorno T, Iacumin L, Tubaro F. Seasonal changes in technological and nutritional quality of *Mytilus galloprovincialis* from suspended culture in the Gulf of Trieste (North Adriatic Sea). *Food Chem*. 2015; 173: 355-362.
7. Bouchouicha-Smida D, Lundholm N, Sahraoui I, Lambert C, Mabrouk HH, Hlaili AS. Detection of domoic acid in *Mytilus galloprovincialis* and *Ostrea edulis* linked to the presence of *Nitzschia bizertensis* in Bizerte Lagoon (SW Mediterranean). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. 2015; 165: 270-278.
8. Bragigand V, Berthet B, Amiard JC. Estimates of trace metal bioavailability ingesting contaminated oysters. *Food Chem. Toxicol*. 2004; 42: 1893-1902.
9. Dobрева DA, Merdzhanova AV, Stancheva MD, Terziyski DI, Panayotova VZ. Black Sea fish and shellfish as essential source of vitamin B12. *International Journal of Scientific Reports*. 2018; 4(8): 199-203.
10. EC. Commission Regulation (EU) No 786/2013 amending Annex III to Regulation (EC) No 853/2004 of the European Parliament and of the Council as regards the permitted limits of yessotoxins in live bivalve molluscs. 2013.
11. EC. Regulation (EC) No 853/2004 of the European parliament of the council laying down the specific hygiene rules for the hygiene of foodstuffs. 2004.
12. EFSA. Marine biotoxins in shellfish – Yessotoxin group. *The EFSA Journal*. 2008; 907: 1-62.
13. EFSA. Marine biotoxins in shellfish -okadaic acid and analogues. *The EFSA Journal* 2008; 589: 1-62.
14. EFSA. Marine biotoxins in shellfish- Azaspiracid group. *The EFSA Journal*. 2008; 723: 1-52
15. EFSA. Marine biotoxins in shellfish -domoic acid. *The EFSA Journal*. 2009; 1181: 1-61.
16. EXACTA. 2015. Доклад систематизиране на данни за сектор „Рибарство“. <http://oprsr.government.bg>.
17. Ferrante M, Sciacca S, Fallico R, Fiore M, Conti GO, Ledda C. Harmful Algal Blooms in the Mediterranean Sea: Effects on Human Health. *Open Access Scientific Reports* 2013; 2 (1): 587.
18. Georgieva St, Peteva Z, Krock B, Gerasimova A, Stancheva M. One-year study on exposure assessment to marine biotoxins via consumption of shellfish from the Black Sea, Bulgaria: Poster. Abstractbook from 10th Congress of Toxicology in Developing Countries. 2018; Belgrade: April 18-21.
19. Hallengraef, GM. Ocean climate change, phytoplankton community responses, and harmful algal blooms: a formidable predictive challenge. *Journal of Phycology*. 2010; 46: 220-235.
20. Hamed I, Öyogul F, Öyogul Ö, Ragenstein JM. Marine bioactive compounds and their health benefits: a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food safety*. 2015; 14: 446-465.
21. Heidari B, Bakhtiari AR, Shirneshan G. Concentration of Cd, Cu, Pb and Zn in soft tissue of oyster (*Saccostera cucullata*) collected from the Lengeh Port coast, Persian Gulf, Iran: a comparison with the permissible limits for public health. *Food Chem*. 2013; 141: 3014-3019.
22. Hess P, Nguyen L, Aasen A, Keogh M. Tissue distribution, effects of cooking and parameters affecting the extraction of azaspiracids from mussels, prior to analysis by liquid chromatography coupled to mass spectrometry. *Toxicon*. 2005; 46: 62-71.
23. Huss HH, Ababouch L, Gram L. Assessment and management of seafood safety and quality. *FAO Fisheries Technical Paper*. 2003; 444: 19-84.
24. James KJ, Lehane M, Moroney C, Fernandez-Puente P. Azaspiracid shellfish poisoning: unusual toxin dynamics in shellfish and the increased risk of acute human intoxications. *Food Addit. Contam.* 2002; 19: 555–561.
25. James KJ, Carey B, O’Halloran J, van Pelt FNAM, Škrabáková Z. Shellfish toxicity:

- Human health implications of marine algal toxins. *Epidemiol Infect.* 2010; 138: 927-940.
26. Jung JH, Sim CJ, Lee CO. Cytotoxic compounds from a two-sponge association. *J. Nat. Prod.* 1995; 58: 1722-1726.
27. Krock B, Tillmann U, John U, Cembella AD. LC-MS-MS aboard ship: tandem mass spectrometry in the search for phycotoxins and novel toxigenic plankton from the North Sea. *Anal. Bioanal. Chem.* 2008; 392 (5): 797-803.
28. Lefebvre KA, Robertson A. Domoic acid and human exposures: A review. *Toxicol.* 2010; 56: 218-230.
29. Merdzhanova A, Dobрева D, Georgieva S. Nutritional evaluation of aquaculture mussels (*M. galloprovincialis*) from the Black Sea, Bulgaria. *Ovidius University Annals of Chemistry.* 2016; 27 (1): 1-7.
30. Nielsen P. Future challenges and possibilities for the Danish long-line production of blue mussels, *Mytilus edulis* (L). *PhD Thesis.* 2014.
31. Peteva Z, Krock B, Georgieva St, Gerasimova A, Stancheva M, Makedonski L. Exposure to yessotoxins and health risk assessment via consumption of shellfish from the Black Sea, Bulgaria: Poster. Sofia: Abstract book of 10th Scientific Conference of the Bulgarian Focal Point of EFSA. 2017, Sofia
32. Peteva Z, Georgieva St, Krock B, Stancheva M. Selected contaminants in fish and shellfish from Bulgarian Black Sea. CBU International Conference proceeding 2018: Innovations in Science and Education. (In press)
33. Peteva Z, Georgieva St, Stancheva M, Makedonski L. Recreational angler exposure to domoic acid via consumption of contaminated shellfish from the Black Sea, Bulgaria: a preliminary study. *Archives of Balkan Medical Union.* 2017; 52 (3): 292-297.
34. Picot C, Limon G, Durand G, Wesolek N, Parent-Massin D, Roudot AC. Domoic Acid, Okadaic Acid and Spirolides: Inter-Species Variability in Contamination and Cooking Effects. *Food and Public Health.* 2012; 2 (2): 50-57.
35. Picot C, Limon G, Parent-Masin G, Durand D, Roudot A-C. Probabilistic dietary exposure to phycotoxins in a recreational shellfish harvester subpopulation (France). *Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology.* 2013; 23: 435-441.
36. Schirone M, Berti M, Visciano P, Chiumiento F. Determination of Lipophilic Marine Biotoxins in Mussels Harvested from the Adriatic Sea by LC-MS/MS. *Front. Microbiol.* 2018;9.
37. Stancheva M, Merdzhanova A, Dobрева DA. Fat soluble vitamins, cholesterol and fatty acid composition of wild and farmed black mussel (*Mytilus galloprovincialis*) consumed in Bulgaria. *Journal of Aquatic Food Product Technology.* 2017; 26 (2): 181-191.
38. Stewart GR, Zorumski CF, Price MT, Olney JW. Domoic acid: a dementia-inducing excitotoxic food poison with kainic acid receptor specificity. *Experimental neurology.* 1990; 110 (1): 127-38.
39. ИАРА. 2013. Доклад за годишна консумация на риба и аквакултури от домакинствата и тяхното производство в България. <http://oprsr.government.bg>.
40. Министерство на земеделието и храните. Годишен доклад за състоянието и развитието на земеделието. 2016. София.

Адрес за кореспонденция:
Златина Петева
Факултет „Фармация“
бул. „Цар Освободител“ 84
Медицински университет – Варна
Варна 9000
e-mail: zlatina.peteva@tu-varna.bg