
THE IMPACT OF WINTER STORAGE OF LIVING CARPS ON CONTENT OF DI-N-BUTYL PHTHALATE AND DI-2- ETHYLHEXYL PHTHALATE FROM FARMED SOUTH MORAVIA

Pušková L., Jarošová A., Mareš J.

Department of Food Technology, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno,
Zemědělská 1. 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xpuskaro@node.mendelu.cz

ABSTRACT

Our objective was to determine the content of di-n-butyl phthalate (DBP) and di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) in carps. The carps from South Moravia area were selected. First group of carp was fished in autumn and second group was located to the concrete tubs until the winter. Samples from muscles, hepatopancreas and fat were analyzed. Samples of fishes were lyophilized and extracted with solvent mixture (acetone:hexan = 1:1). The gel permeation chromatography with column Bio-Beads S-X3 to clean samples was used. The levels of DBP and DEHP were determined by high performance liquid chromatography with column Zorbax Eclipse C8 with UV detection. The average values of DBP and DEHP in the muscle samples ranged from 0.16–0.18 mg.kg⁻¹ and 0.14–0.16 mg.kg⁻¹ of original weight. In the hepatopancrease samples were found the DBP concentration in range from 0.04–0.12 mg.kg⁻¹ and DEHP concentration in range from 0.06–0.12 mg.kg⁻¹ of original weight. The highest concentrations of DBP (2.83–6.75 mg.kg⁻¹ of original weight) and DEHP (2.90–5.93 mg.kg⁻¹ of original weight) were observed in fat samples. In the hepatopancrease and fat samples phthalate contents decreased during the winter storage. In the muscle samples increasing tendency was observed, it could be in relation to the metabolic changes in fish tissues during the winter storage (without feed).

Key words: phthalates, di-n-butyl phthalate, di-2-ethylhexyl phthalate, fish

Acknowledgement: The study was supported by Internal Grant Agency IP 09/2011.

ÚVOD

Ftaláty sú estery kyseliny ftalovej (PAE) a predstavujú rozsiahlu skupinu chemických látok. Najväčšie použitie našli ako zmäkčovadlá (plastifikátory) umelých hmôt. Používajú sa ako prídavné látky do polymérov, plastov, gúm, celulózy (Cano ai., 2002) a sú tak prítomné v mnohých spotrebných výrobkoch, vrátane stavebných materiálov, nábytku, oblečenia, kozmetiky, liečiv, potravných doplnkov, zdravotníckych pomôcok, zubných protéz, detských hračiek, obalových materiálov potravín, čistiacich prostriedkov, insekticídov (Schettler, 2006). V týchto materiáloch sú nekovalentne viazané (Lottrup ai., 2006) a preto sa môžu vylúhovať, migrovať, odparovať do vnútorného prostredia, atmosféry (Heudorf ai., 2007) a do materiálu, s ktorým sú v kontakte (Velíšek, 2002).

Vďaka svojim výhodným vlastnostiam sú široko používané a dopyt po nich stále rastie. Ftaláty sa stávajú jednými z najviac vyrábaných chemikálií na svete. V súčasnej dobe sa ich ročne vyrobí až 6 miliónov ton (Mackintosh ai., 2006; Salima ai., 2010). Vzhľadom na rozsah ich použitia a uvoľňovanie z matric sú považované za všadeprítomné znečisťujúce látky životného prostredia (Kang ai., 2005).

Produkty obsahujúce ftaláty môžu viesť k expozícii človeka prostredníctvom priameho kontaktu a používania, vylúhovania do iných produktov, alebo prostredníctvom kontaminovaného životného prostredia. Strava je považovaná za hlavnú cestu expozície dnešnej populácie (Schettler, 2006). Preto je nutná i kontrola vstupov do potravinového reťazca a sledovanie obsahu ftalátov v krmivách a kŕmnych komponentoch. Potvrdenie kumulácie a distribúcie toxických ftalátov v tele hospodárskych zvierat po perorálnej aplikácii je významné z hľadiska zdravotnej nezávadnosti surovín a potravín živočíšneho pôvodu (Jarošová, 2010).

Ftaláty a ich metabolity sa ukázali ako potenciálne škodlivé pre človeka a životné prostredie. Sú embryotoxické, hepatotoxické, nefrotoxické, spermiotoxické, teratogénne a karcinogénne. I keď vykazujú nízku akútnu toxicitu, pri dlhodobej expozícii nízkymi dávkami boli preukázané závažné negatívne účinky (Matsumoto ai., 2008). Mladé vyvíjajúce sa organizmy sú voči expozícii ftalátom citlivejšie než organizmy dospelé. Mimoriadne citlivé sú z tohto hľadiska hlavne mužské pohlavné orgány vo fáze vývoja (feminizácia chlapcov) (Casas ai., 2011).

Vzhľadom na ich potenciálne riziká pre ľudské zdravie a životné prostredie bolo mnohými národnými a medzinárodnými regulačnými organizáciami zaradených niekoľko ftalátov medzi prioritné rizikové látky. Európska komisia zverejnila zoznam látok, ktoré môžu narušiť endokrinnú činnosť. Zoznam zahŕňa aj di-n-butyl ftalát (DBP), benzylbutyl ftalát (BBP) a di-2-ethylhexyl ftalát

(DEHP). DEHP ako najvyrábanejší a najpoužívanejší bol zahrnutý do zoznamu prioritných látok v oblasti vodnej politiky Európskej únie a Svetovej zdravotníckej organizácie. Limit bol stanovený na $8 \mu\text{g.l}^{-1}$ v čerstvej a pitnej vode (Rada EÚ, 2001; Svetová zdravotnícka organizácia, 2003).

V Európskom spoločenstve nie sú stanovené limity ftalátov v potravinách. Európska komisia pre potraviny (*EEC Scientific Committee for Food*) stanovila tolerovateľný denný príjem (TDI) dibutyl ftalátu na $0,050 \text{ mg na kg živej hmotnosti}$ a u di-2-ethylhexyl ftalátu na $0,025 \text{ mg na kg živej hmotnosti}$. Stanovená hodnota tolerovateľného denného príjmu (TDI) pre DEHP je $50 \mu\text{g.kg}^{-1}$ telesnej hmotnosti, skutočný príjem ftalátov zo stravy sa odhaduje na $0,15\text{-}0,3 \text{ mg na osobu a deň}$, čo je medzná hodnota TDI (Velíšek, 2002).

Keďže sa ftaláty všeobecne vyskytujú vo vodnom prostredí je pravdepodobné, že ryby sú tiež vystavené ftalátom cez vodný slúpec, potravu a sediment (Peijnenburg a Struijs, 2006). V tejto práci bol sledovaný obsah najpoužívanejších ftalátov (di-n-butyl ftalátu a di-2-ethylhexyl ftalátu) v tele kapra obecného (*Cyprinus carpio*) z rybníkov Južnej Moravy po výlove a porovnaný s obsahom ftalátov sádkovaných kaprov. Vhľadom na lipofilný charakter ftalátov boli analyzované tkaniva o rozdielnom obsahu tuku.

MATERIÁL A METODIKA

Pre pokus boli vybrané vzorky rýb pochádzajúce z dvoch rybníkov Južnej Moravy. Spôsob hospodárenia bol na oboch rybníkoch obdobný, polykultúrna osádka s kaprom obecným (*Cyprinus carpio*) ako hlavnou chovanou rybou, s prikrmovaním obilninami. Výlov a sádkovanie rýb prebiehali v mesiacoch november-december 2010. Pri jesennom výlove bolo z oboch rybníkov (R1, R2) náhodným výberom odobraných 10 rýb na analýzu. Následne boli ryby umiestnené do sádk, teda prechodne uchovávané až do doby predaja (z rybníka R1 boli umiestnené do sádky S1, doba sádkovania bola 7 týždňov; z rybníka R2 do sádky S2, doba sádkovania 4 týždne). Ryby z jednotlivých rybníkov boli sádkované oddelene v rovnakých podmienkach (rovnaký objekt sádk). Po ukončení doby sádkovania bolo z oboch sádk náhodným výberom odobraných 10 rýb na analýzu. Celkový počet rýb použitých na analýzu bol 40.

Základné spracovanie rýb prebehlo v laboratóriu Ústavu zoologie, rybárství a hydrologie Mendelovy univerzity v Brně. Z tiel rýb bola po porážke a viscerácii odobraná svalovina s kožou z pravej polovice tela, hepatopankreas a vnútorný tuk. Vzorky boli skladované pri mraziarenských teplotách $-21 \text{ }^{\circ}\text{C}$ a analyzované na Ústavu technológie potravín Mendelovy univerzity v Brně. Pre analýzu boli použité overené metódy pre stanovenie DBP (di-butyl ftalát) a DEHP (di-2-ethylhexyl ftalát) v potravinách (Jarošová ai., 1999). DBP a DEHP boli stanovené u každej ryby individuálne. Odobraná svalovina (svalovina s kožou), hepatopankreas a vnútorný tuk boli zhomogenizované, zlyofilizované a následne boli PAE trikrát extrahované zmesou rozpúšťadiel acetón:hexán (1:1). Spojené zfiltrované extrakty sa zahustili na rotačnej vákuovej odparke. PAE boli od koextraktov

separované gélovou permeačnou chromatografiou (GPC) s kolónou Bio Beads S-X3, eluáty sa po GPC dočistili koncentrovanou kyselinou sírovou (65 %). Po vysušení dusíkom boli vzorky doplnené acetonitrilom na objem 1 ml. PAE boli stanovené metódou HPLC s UV detekciou pri vlnovej dĺžke 224 nm. Použitá bola kolóna Zorbax Eclipse C8 s veľkosťou častíc 5 µm a rozmermi 4,6 mm × 150 mm. Mobilnou fázou bol acetonitril. Výsledné koncentrácie boli vypočítané na základe kalibračnej krivky v softwari Agilent Chemstation for LC and LC/MS systems. Vzorky boli analyzované duplicitne. Celkový počet analyzovaných vzoriek bol 240.

Výsledky boli štatisticky spracované v programe STATISTIKA 9. Použitý bol t-test a Duncanov test.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Pre pokus boli vybrané dva rybníky Južnej Moravy s chovom kapra obecného (*Cyprinus carpio*). Vzorky boli odoberané pri jesennom výlove z rybníka (R1, R2) a po ich sádkovaní (S1, S2). Pri analýze vzoriek tkanív kapra obecného (svalovina, tuk, hepatopankreas) boli zisťované dva ftaláty, DBP a DEHP.

Koncentrácie ftalátov zistené vo vzorkách rýb z výlovu rybníka (R1) a po jeho sádkovaní (S1)

Analýze bolo podrobených 10 rýb z jesenného výlovu rybníka (R1) a 10 rýb po sádkovaní (S1). Z každej ryby bola analyzovaná svalovina (svalovina s kožou), hepatopankreas a tuk (vnútorný tuk). Počet analyzovaných vzoriek bol 120. Tab. 1 uvádza priemerné hodnoty zistené analýzou. Na Obr. 1–3 sú zobrazené priemerné koncentrácie DBP a DEHP po jesennom výlove rybníka a po sádkovaní.

Tab. 1 Priemerné koncentrácie DBP, DEHP a ich sumy [$\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ pôv. hm.] zistené vo vzorkách tkanív rýb (svalovina, hepatopankreas, tuk) po jesennom výlove rybníka (R1) a po sádkovaní (S1)

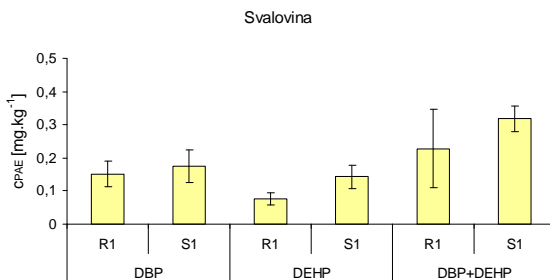
Tkanivo	SVALOVINA			HEPATOPANKREAS			TUK			
	C_{PAE} [$\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$]	DBP	DEHP	Σ DBP+DEHP	DBP	DEHP	Σ DBP+DEHP	DBP	DEHP	Σ DBP+DEHP
Rybník R1	priemer	0,15	0,08	0,23	0,22	0,10	0,31	42,43	21,00	63,43
	median	0,14	0,08	0,21	0,15	0,07	0,22	35,44	17,06	52,50
	S.D.	0,04	0,02	0,05	0,23	0,09	0,32	16,57	9,37	25,78
	min	0,10	0,05	0,15	0,08	0,04	0,12	26,06	12,54	39,39
	max	0,24	0,11	0,34	0,90	0,37	1,27	82,21	45,88	128,09
Sádkva S1	priemer	0,18	0,14	0,32	0,04	0,06	0,10	6,74	5,93	12,67
	median	0,17	0,14	0,32	0,02	0,04	0,05	6,80	5,97	12,59
	S.D.	0,05	0,04	0,08	0,05	0,04	0,08	1,24	1,01	2,05
	min	0,07	0,09	0,17	0	0,03	0,03	4,52	3,99	8,51
	max	0,25	0,20	0,45	0,15	0,15	0,30	8,76	8,20	16,03

(Medza stanoviteľnosti DBP a DEHP u tukových matric - 0,2 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, pre živočíšny materiál s nízkym obsahom tuku - 0,03 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$.)

Najnižšia priemerná koncentrácia DBP $0,04 \text{ mg.kg}^{-1}$ pôvodnej hmotnosti bola zistená vo vzorkách hepatopankreasu po sádkovaní (S1) a najvyššia $42,43 \text{ mg.kg}^{-1}$ pôvodnej hmotnosti vo vzorkách tuku po jesennom výlove rybníka (R1). Najnižšia priemerná koncentrácia DEHP $0,06 \text{ mg.kg}^{-1}$ pôvodnej hmotnosti bola zistená vo vzorkách hepatopankreasu po sádkovaní (S1) a najvyššia 21 mg.kg^{-1} pôvodnej hmotnosti vo vzorkách tuku po jesennom výlove rybníka (R1).

Vplyv sádkovania na obsah ftalátov v svalovine (R1, S1)

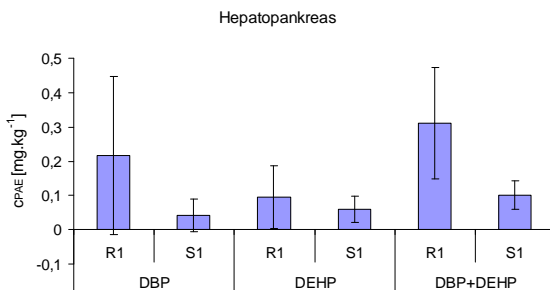
Priemerná koncentrácia sumy oboch ftalátov vo vzorkách svaloviny po jesennom výlove rybníka bola $0,23 \text{ mg.kg}^{-1}$ pôvodnej hmotnosti, po sádkovaní $0,32 \text{ mg.kg}^{-1}$ pôvodnej hmotnosti. Pri porovnaní priemernej koncentrácie DBP pred sádkovaním (R1 $c_{\text{DBP}} = 0,15 \text{ mg.kg}^{-1}$ pôv. hm.) a po sádkovaní (S1 $c_{\text{DBP}} = 0,18 \text{ mg.kg}^{-1}$ pôv. hm.) vo vzorkách svaloviny došlo k zvýšeniu priemerných koncentrácií ($p > 0,05$). Pri porovnaní priemernej koncentrácie DEHP pred sádkovaním (R1 $c_{\text{DEHP}} = 0,08 \text{ mg.kg}^{-1}$ pôv. hm.) a po sádkovaní (S1 $c_{\text{DEHP}} = 0,14 \text{ mg.kg}^{-1}$ pôv. hm.) došlo k zvýšeniu priemerných koncentrácií ($p < 0,01$) (Obr. 1).



Obr. 1 Koncentrácia DBP, DEHP a ich sumy [mg.kg^{-1} pôv. hm.] vo vzorkách svaloviny kapra obecného po jesennom výlove rybníka (R1) a po sádkovaní (S1)

Vplyv sádkovania na obsah ftalátov v hepatopankrease (R1, S1)

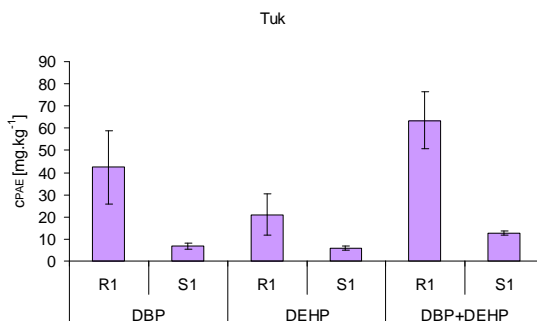
Priemerná koncentrácia sumy oboch ftalátov vo vzorkách hepatopankreasu po jesennom výlove rybníka bola $0,31 \text{ mg.kg}^{-1}$ pôvodnej hmotnosti, po sádkovaní $0,10 \text{ mg.kg}^{-1}$ pôvodnej hmotnosti. Pri porovnaní priemernej koncentrácie DBP pred sádkovaním (R1 $c_{\text{DBP}} = 0,22 \text{ mg.kg}^{-1}$ pôv. hm.) a po sádkovaní (S1 $c_{\text{DBP}} = 0,04 \text{ mg.kg}^{-1}$ pôv. hm.) došlo k zníženiu priemernej koncentrácie ($p < 0,05$). Pri porovnaní priemernej koncentrácie DEHP pred sádkovaním (R1 $c_{\text{DEHP}} = 0,10 \text{ mg.kg}^{-1}$ pôv. hm.) a po sádkovaní (S1 $c_{\text{DEHP}} = 0,06 \text{ mg.kg}^{-1}$ pov. hm.) došlo k zníženiu priemernej koncentrácie ($p > 0,05$) (Obr. 2).



Obr. 2 Koncentrácia DBP, DEHP a ich sumy [mg.kg^{-1} pôv. hm.] vo vzorkách hepatopankreasu kapra obecného po jesennom výlove rybníka (R1) a po sádkovaní (S1)

Vplyv sádkovania na obsah ftalátov v tuku (R1, S1)

Priemerná koncentrácia sumy oboch ftalátov vo vzorkách tuku po jesennom výlove rybníka bola $63,43 \text{ mg.kg}^{-1}$ pôvodnej hmotnosti, po sádkovaní $12,67 \text{ mg.kg}^{-1}$ pôvodnej hmotnosti. Pri porovnaní priemernej koncentrácie DBP pred sádkovaním (R1 $c_{\text{DBP}} = 42,43 \text{ mg.kg}^{-1}$ pôv. hm.) a po sádkovaní (S1 $c_{\text{DBP}} = 6,74 \text{ mg.kg}^{-1}$ pôv. hm.) došlo k zníženiu priemernej koncentrácie ($p < 0,01$). Pri porovnaní priemernej koncentrácie DEHP pred sádkovaním (R1 $c_{\text{DEHP}} = 21 \text{ mg.kg}^{-1}$ pôv. hm.) a po sádkovaní (S1 $c_{\text{DEHP}} = 5,93 \text{ mg.kg}^{-1}$ pôv. hm.) došlo k zníženiu priemernej koncentrácie ($p < 0,01$) (Obr. 3).



Obr. 3 Koncentrácia DBP, DEHP a ich sumy [mg.kg^{-1} pôv. hm.] vo vzorkách tuku kapra obecného po jesennom výlove rybníka (R1) a po sádkovaní (S1)

Koncentrácie ftalátov zistené vo vzorkách rýb z výlovu rybníka (R2) a po jeho sádkovaní (S2)

Analýze bolo podrobených 10 rýb z jesenného výlovu rybníka a 10 rýb (R2) po sádkovaní (S2). Z každej ryby bola analyzovaná svalovina (svalovina s kožou), hepatopankreas a tuk (vnútorný tuk). Počet analyzovaných vzoriek bol 120. Tab. 2 uvádza priemerné hodnoty zistené analýzou.

Na Obr. 4–6 sú zobrazené priemerné koncentrácie DBP a DEHP po jesennom výlove rybníka a po sádkovaní.

Tab. 2 Priemerné koncentrácie DBP, DEHP a ich sumy [mg.kg^{-1} pôv. hm.] zistené vo vzorkách tkanív rýb (svalovina, hepatopankreas, tuk) po jesennom výlove rybníka (R2) a po sádkovaní (S2)

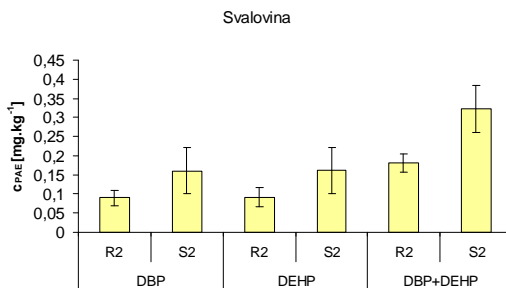
	Tkanivo	SVALOVINA			HEPATOPANKREAS			TUK		
		c_{PAE} [mg.kg^{-1}]	DBP	DEHP	Σ DBP+DEHP	DBP	DEHP	Σ DBP+DEHP	DBP	DEHP
Rybník R2	priemer	0,09	0,09	0,18	5,20	5,58	10,78	20,09	20,96	41,05
	median	0,10	0,10	0,20	5,36	5,47	10,70	18,09	18,37	36,62
	S.D.	0,02	0,03	0,05	0,75	0,95	1,66	9,31	8,97	17,80
	min	0,05	0,04	0,08	3,67	3,89	7,56	8,11	8,41	16,52
	max	0,12	0,12	0,24	6,35	6,92	13,27	40,55	40,77	81,32
Sádka S2	priemer	0,16	0,16	0,32	0,11	0,12	0,24	2,83	2,90	5,73
	median	0,15	0,15	0,30	0,12	0,13	0,25	2,52	2,47	4,99
	S.D.	0,06	0,06	0,12	0,04	0,05	0,10	1,25	1,31	2,56
	min	0,07	0,05	0,12	0,04	0,04	0,08	1,13	1,18	2,31
	max	0,28	0,28	0,55	0,19	0,21	0,40	5,06	5,08	10,14

(Medza stanoviteľnosti DBP a DEHP u tukových matric - $0,2 \text{ mg.kg}^{-1}$, pre živočíšny materiál s nízkym obsahom tuku - $0,03 \text{ mg.kg}^{-1}$.)

Najnižšia priemerná koncentrácia DBP $0,09 \text{ mg.kg}^{-1}$ pôvodnej hmotnosti bola zistená vo vzorkách svaloviny po jesennom výlove rybníka (R2) a najvyššia $20,9 \text{ mg.kg}^{-1}$ pôvodnej hmotnosti vo vzorkách tuku po jesennom výlove rybníka (R2). Najnižšia priemerná koncentrácia DEHP $0,09 \text{ mg.kg}^{-1}$ pôvodnej hmotnosti bola zistená vo vzorkách svaloviny po jesennom výlove rybníka (R2) a najvyššia $20,96 \text{ mg.kg}^{-1}$ pôvodnej hmotnosti vo vzorkách tuku po jesennom výlove rybníka (R2).

Vplyv sádkovania na obsah ftalátov v svalovine (R2, S2)

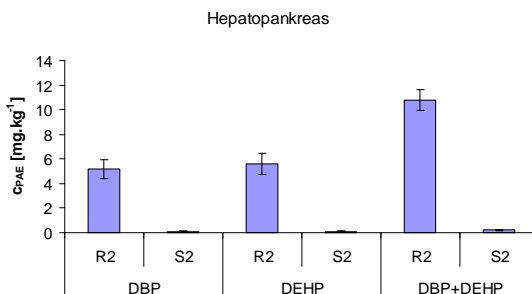
Priemerná koncentrácia sumy oboch ftalátov vo vzorkách svaloviny po jesennom výlove rybníka bola $0,18 \text{ mg.kg}^{-1}$ pôvodnej hmotnosti, po sádkovaní $0,32 \text{ mg.kg}^{-1}$ pôvodnej hmotnosti. Pri porovnaní priemernej koncentrácie DBP pred sádkovaním (R2 $c_{\text{DBP}} = 0,09 \text{ mg.kg}^{-1}$ pôv. hm.) a po sádkovaní (S2 $c_{\text{DBP}} = 0,16 \text{ mg.kg}^{-1}$ pôv. hm.) vo vzorkách svaloviny došlo k zvýšeniu priemernej koncentrácie ($p < 0,01$). Pri porovnaní priemernej koncentrácie DEHP pred sádkovaním (R2 $c_{\text{DEHP}} = 0,09 \text{ mg.kg}^{-1}$ pôv. hm.) a po sádkovaní (S2 $c_{\text{DEHP}} = 0,16 \text{ mg.kg}^{-1}$ pôv. hm.) došlo k zvýšeniu priemernej koncentrácie ($p < 0,01$) (Obr. 4).



Obr. 4 Koncentrácia DBP, DEHP a ich sumy [mg.kg⁻¹ pôv. hm.] vo vzorkách svaloviny kapra obecného po jesennom výlove rybníka (R2) a po sádkovaní (S2)

Vplyv sádkovania na obsah ftalátov v hepatopankrease (R2, S2)

Priemerná koncentrácia sumy oboch ftalátov vo vzorkách hepatopankreasu po jesennom výlove rybníka bola 10,78 mg.kg⁻¹ pôvodnej hmotnosti, po sádkovaní 0,24 mg.kg⁻¹ pôvodnej hmotnosti. Pri porovnaní priemernej koncentrácie DBP pred sádkovaním (R2 $c_{DBP} = 5,20$ mg.kg⁻¹ pôv. hm.) a po sádkovaní (S2 $c_{DBP} = 0,11$ mg.kg⁻¹ pôv. hm.) došlo k zníženiu priemernej koncentrácie ($p < 0,01$). Pri porovnaní priemernej koncentrácie DEHP pred sádkovaním (R2 $c_{DEHP} = 5,58$ mg.kg⁻¹ pôv. hm.) a po sádkovaní (S2 $c_{DEHP} = 0,12$ mg.kg⁻¹ pôv. hm.) došlo k zníženiu priemernej koncentrácie ($p < 0,01$) (Obr. 5).

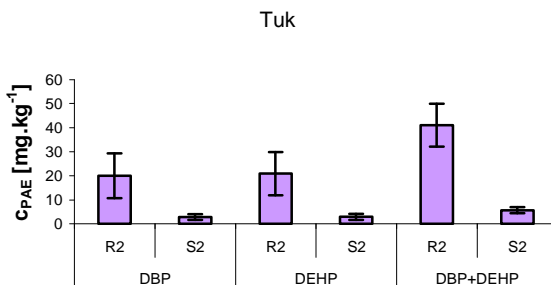


Obr. 5 Koncentrácia DBP, DEHP a ich sumy [mg.kg⁻¹ pôv. hm.] vo vzorkách hepatopankreasu kapra obecného po jesennom výlove rybníka (R2) a po sádkovaní (S2)

Vplyv sádkovania na obsah ftalátov v tuku (R2, S2)

Priemerná koncentrácia sumy oboch ftalátov vo vzorkách tuku po jesennom výlove rybníka bola 41,05 mg.kg⁻¹ pôvodnej hmotnosti, po sádkovaní 5,73 mg.kg⁻¹ pôvodnej hmotnosti. Pri porovnaní priemernej koncentrácie DBP pred sádkovaním (R2 $c_{DBP} = 20,09$ mg.kg⁻¹ pôv. hm.) a po sádkovaní (S2 $c_{DBP} = 2,83$ mg.kg⁻¹ pôv. hm.) došlo k zníženiu priemernej koncentrácie ($p < 0,01$). Pri porovnaní

priemernej koncentrácii DEHP pred sádkovaním (R2 $c_{\text{DEHP}} = 20,96 \text{ mg.kg}^{-1}$ pôv. hm.) a po sádkovaní (S2 $c_{\text{DEHP}} = 2,90 \text{ mg.kg}^{-1}$ pôv. hm.) došlo k zníženiu priemernej koncentrácie ($p < 0,01$) (Obr. 6).



Obr. 6 Koncentrácia DBP, DEHP a ich sumy [mg.kg^{-1} pôv. hm.] vo vzorkách tuku kapra obecného po jesennom výlove rybníka (R2) a po sádkovaní (S2)

Ducanovým testom bol pozorovaný rozdiel koncentrácie DBP a DEHP medzi jednotlivými tkanivami (svalovina, hepatopankreas, tuk) v rámci každej skupiny (R1, S1, R2, S2). Testom bolo zistené, že vo všetkých skupinách sa priemery koncentrácií fталátov svaloviny a hepatopankreasu významne nelíšili ($p > 0,05$), narozdiel od tuku, kde sa štatisticky významne líšili ($p < 0,05$). Iba u vzoriek z jesenného výlovu rybníka (R2) sa priemery koncentrácie DEHP medzi všetkými tkanivami významne nelíšili ($p > 0,05$).

Vzhľadom na všeobecný výskyt fталátov vo vodnom prostredí je pravdepodobné, že ryby sú tiež vystavené fталátom cez vodný stĺpec, potravu a sediment. Preto bolo našou snahou zistiť obsahy fталátov u hospodársky najvýznamnejšej ryby v Českej republike, t.j. v požívateľných tkanivách kapra obecného (*Cyprinus carpio*), a tiež zistiť zmenu obsahu fталátov po ich krátkodobom umiestnení v sádkach. Predpoklad obsahu fталátov u rýb bol skúmaný u voľne žijúcich rýb v Holandsku, kde sa namerané priemerné koncentrácie DEHP a DBP pohybovali v rozmedzí $1,7\text{--}1,0 \mu\text{g.kg}^{-1}$ pôv. hm. (Peijnenburg a Struijs, 2006). Nami zistené hodnoty fталátov v analyzovaných požívateľných tkanivách boli však vyššie. Priemerné hodnoty DBP v svalovine rýb určených pre spotrebiteľa boli $0,16\text{--}0,18 \text{ mg.kg}^{-1}$ pôv. hm., DEHP $0,14\text{--}0,16 \text{ mg.kg}^{-1}$ pôv. hm., v hepatopankreasu boli hodnoty DBP $0,04\text{--}0,11 \text{ mg.kg}^{-1}$ pôv. hm. a DEHP $0,06\text{--}0,12 \text{ mg.kg}^{-1}$ pôv. hm., vo vzorkách tuku boli hodnoty DBP $2,83\text{--}6,74 \text{ mg.kg}^{-1}$ pôv. hm. a DEHP $2,90\text{--}5,93 \text{ mg.kg}^{-1}$ pôv. hm.

Značný prevod týchto znečisťujúcich látok zo sedimentu na ryby môže predstavovať neočakávanú expozíciu človeka. Avšak k dispozícii je málo informácií o biologickej dostupnosti fталátov pre ryby v riekach. Pre získanie nových informácií práve v tejto oblasti bola uskutočnená štúdia, ktorej cieľom bolo stanoviť koncentrácie fталátov v sedimente a v rybách, vyhodnotiť ich vzťah ku kvalite

vody a posúdiť bioakumulačný faktor falátov. Hodnotených bolo 64 vzoriek sedimentu zo 17 hlavných riek na Taiwane. Priemerná úroveň DEHP v sedimente bola 4,1 (<0,05–46,5) mg.kg⁻¹ sušiny v období s pomalým prúdením, čo je štyrikrát vyššie ako v období s rýchlym prúdením. DEHP dosahoval najvyššie koncentrácie vo väčšine vzoriek sedimentu, čo bolo 20 až 30 násobne viac ako priemerné hodnoty BBP a DBP. Najvyššia úroveň DEHP bola nájdená v rieke Erren, ktorá je vážne kontaminovaná poľnohospodárstvom a priemyslom (Huang ai., 2008). Vo východnom Nemecku boli nájdené hodnoty DEHP v sedimente 0,2–8,44 mg.kg⁻¹ sušiny (Fromme ai., 2002). Uvažovali sme aj s predpokladom výskytu ftalátov v rybníčkovej vode a v sedimente, ako aj vo vode v sádkach. Aj keď ftaláty majú nízku rozpustnosť v čistej vode, môžu prenikať cez skládku humínové kyseliny a adsorbovať sa na častice, ktoré sa ukladajú v sedimente (Bauer a Herrmann, 1997; Bauer ai., 1998). Sediment môže teda zohrať úlohu pri priebežnej konverzii ftalátov zo životného prostredia na organizmy vo vodnom prostredí (Mackintosh ai., 2004). Vzorky rybníčkovej vody, sedimentu a vody so sádok sú odobrané, uchovávané pri mraziarskych teplotách a budú analyzované. Následne bude posúdený predpoklad kontaminácie rýb z prostredia rybníka, resp. sádky.

V ďalšej štúdií bol v všetkých vzoriek rýb prevládajúcim ftalátom DEHP, nasledoval BBP a DBP. Najvyššia priemerná úroveň DEHP bola 61,8 (1,7–253,9) mg.kg⁻¹ sušiny pre *L. subviridis*, nasledoval 33,6 (1,4–129,5) mg.kg⁻¹ sušiny pre *O. niloticus niloticus* u jednotlivých vzoriek rýb. U zmiesnych vzoriek rýb to bolo 70,3 mg.kg⁻¹ sušiny pre *A. schlegeli*, nasledovalo 32,9 (1,5–92,7) mg.kg⁻¹ sušiny pre *Z. platypus* (Huang ai., 2008). Ftaláty v sedimente môžu ovplyvniť ich bioakumuláciu v rybách. Iba menej ako 6 % DEHP v jemných časticiach sedimentu je ľahko dostupných pre mikrobiálny rozklad (Marttinen ai., 2003; Burkhard ai., 2004). Nájdenie vyšších úrovní DEHP v *L. subviridis* a *O. niloticus niloticus* je možné kvôli tráveniu hrubých častíc obsahujúcich DEHP. Je tiež možné, že primárne zdroje potravy *L. subviridis* a *O. niloticus niloticus* sú získavané z dna, teda z blízkosti sedimentu, zatiaľ čo u *Z. platypus* je to skôr planktón (Huang ai., 2008). Fyzikálne a chemické vlastnosti organických látok v životnom prostredí môžu mať vplyv na vstrebávanie a elimináciu týchto látok v rybách (Burkhard, 2003). Kapor obecný je všežravec, v chove bol prikrmovaný obilninami. Vhodné by bolo analyzovať i krmivá používané v chove, pretože potrava je predpokladaným hlavným vstupom ftalátov do tela rýb, tie však neboli k analýze poskytnuté.

Významné poznatky týkajúce sa problematiky esterov kyseliny ftalovej boli získané na Výskumném ústavu veterinárneho lékařství v Brně a na Ústavu technologie potravin Mendelovy univerzity v Brně. V priebehu rokov 1992 až 2009 bol sledovaný obsah ftalátov (DBP a DEHP) v obalových materiáloch a plastoch, v zdravotníckych materiáloch, krmných zmesiach pre hospodárske zvieratá, v tkanivách a orgánoch hospodárskych zvierat, v potravinách a rôznych typoch obalov, u prasiat a hydiny v modelových pokusoch a v svalovine rýb (Jarošová, 2010). Pokusným prasatám a kuracím brojlerom boli perorálne aplikované dávky DEHP a DBP (prasatám 5 g na kus a deň, brojlerom 100 mg na kus a deň) po dobu 14 dní. Za 14 dní od ukončenia aplikácie sa hladina DEHP znížila o 50 % v svalovine a tukových tkanivách prasiat. Za 14 dní po ukončení aplikácie dávok PAE brojlerom došlo k poklesu DEHP vo všetkých sledovaných

tkanivách. Pri výkrme hospodárskych zvierat sú považované krmiva za hlavný zdroj kontaminácie ftalátmi (Jarošová ai., 1999). Sledovanie obsahu ftalátov v krmivách a krmných komponentoch v priebehu troch rokov ukázalo, že je nutná ich kontrola vstupov do potravného reťazca. Potvrdenie kumulácie a distribúcie toxických ftalátov v tele hospodárskych zvierat po perorálnej aplikácii je významné z hľadiska zdravotnej nezávadnosti surovín a potravín živočíšneho pôvodu (Jarošová, 2010). Experimentom bolo zistené, že obsah PAE vo vzorkách kapra obecného získaných z troch rybníkov Južnej Moravy sa pri jesennom výlove pohyboval v rozmezí 0,29-1,93 mg.kg⁻¹ pôvodnej hmoty a po sádkovaní 0,22-2,10 mg.kg⁻¹ pôvodnej hmoty (Jarošová ai., 2009). Predpoklad, že sa obsah PAE v tkanive rýb po sádkovaní, kedy už ryby neprijímajú potravu, zníži, sa potvrdil u dvoch rybníkov. U jedného rybníka bola situácia opačná (Jarošová, 2010). V našom experimente došlo v oboch prípadoch k nepatrnému zvýšeniu koncentrácie ftalátov vo vzorkách svaloviny, vo vzorkách hepatopankreasu a tuku však došlo k zníženiu obsahu ftalátov, čo bolo aj štatisticky preverené. Teda vo vzorkách hepatopankreasu a tuku došlo k predpokladanému zníženiu počas doby, kedy ryby potravu neprijímali. Vo vzorkách svaloviny došlo k zvýšeniu, čo môže byť dôsledkom metabolizmu ryby v dobe sádkovania (neprijímania potravy). Aby sme vedeli s určitosťou poukázať na príčinu zvýšenia koncentrácie ftalátov v svalovine, je potrebné analyzovať i vodu sádkov, materiál sádkov ako i uskutočniť nové pokusy.

Príjem z kontaminovaných potravín je pravdepodobne najväčším zdrojom expozície ftalátov v populácii. Ich obsahy v potravinách sú však veľmi variabilné a nemusia odrážať skutočnú úroveň expozície. Maximálny denný príjem je odhadovaný na 0,48 µg.kg⁻¹.deň⁻¹ pre di-n-butyl ftalát, 4,9–18 µg.kg⁻¹.deň⁻¹ pre di-2-ethylhexyl ftalát 0,11–0,29 µg.kg⁻¹.deň⁻¹ pre butyl benzyl ftalát (Schettler, 2006).

ZÁVER

V tomto experimente bol sledovaný obsah ftalátov (DBP a DEHP) v tkanivách rýb (svalovina, hepatopankreas, tuk) po výlove z dvoch rybníkov (R1 a R2) zmena ich obsahu po sádkovaní (S1 a S2). Priemerné hodnoty DBP v svalovine rýb určených pre spotrebiteľa boli 0,16–0,18 mg.kg⁻¹ pôv. hm., DEHP 0,14–0,16 mg.kg⁻¹ pôv. hm., v hepatopankrease boli hodnoty DBP 0,04–0,12 mg.kg⁻¹ pôv. hm. a DEHP 0,06–0,124 mg.kg⁻¹ pôv. hm., vo vzorkách tuku boli hodnoty DBP 2,83–6,75 mg.kg⁻¹ pôv. hm. a DEHP 2,90–5,93 mg.kg⁻¹ pôv. hm. V našom experimente došlo k nepatrnému zvýšeniu koncentrácie ftalátov vo vzorkách svaloviny. U S1 stúpla hodnota DBP v svalovine oproti R1 o 0,03 mg.kg⁻¹ pôv. hm., t.j. 1,2 krát, hodnota DEHP o 0,06 mg.kg⁻¹ pôv. hm., t.j. 1,8 krát, u S2 stúpla hodnota DBP oproti R2 o 0,07 mg.kg⁻¹ pôv. hm., t.j. 1,8 krát, hodnota DEHP o 0,07 mg.kg⁻¹ pôv. hm., t.j. 1,8 krát. Vo vzorkách hepatopankreasu a tuku však došlo k zníženiu obsahu ftalátov, čo bolo aj štatisticky preverené. V hepatopankrease klesla hodnota DBP u S1 oproti R1 o 0,18 mg.kg⁻¹ pôv. hm., t.j. 5,5 krát, hodnota DEHP o 0,04 mg.kg⁻¹ pôv. hm., t.j. 1,7 krát, v tuku klesla hodnota DBP o 35,69 mg.kg⁻¹ pôv. hm., t.j. 6,3 krát, hodnota DEHP o 15,07 mg.kg⁻¹ pôv. hm., t.j. 3,5 krát. U S2 oproti R2 klesla hodnota DBP v hepatopankrease o 5,09 mg.kg⁻¹ pôv. hm., t.j. 47,3 krát, hodnota DEHP o 5,46 mg.kg⁻¹ pôv. hm., t.j. 46,5 krát, v tuku klesla hodnota DBP o 17,26 mg.kg⁻¹ pôv. hm., t.j. 7,1 krát, hodnota DEHP o 18,06 mg.kg⁻¹ pôv. hm., t.j. 7,2 krát. Teda

vo vzorkách hepatopankreasu a tuku došlo k predpokladanému zníženiu počas doby, kedy ryby potravu neprijímali. Nepatrné zvýšenie hodnôt v svalovine mohlo byť spôsobené metabolizmom rýb v dobe sádkovania, poprípade kontamináciou vody sádok. Práve kontaminácia prostredia môže byť dôležitým zdrojom pre vstup ftalátov do tela rýb. Vzorky sedimentu, rybničnej vody a vody sádok boli odobrané, budú analyzované a následne porovnané s obsahmi ftalátov v rybách. Za hlavný zdroj kontaminácie rýb ftalátmi je považovaná potrava. Predpoklad zníženia obsahu ftalátov v dobe sádkovania, kedy ryby potravu neprijímajú, bol potvrdený u vzoriek hepatopankreasu a tuku.

LITERATÚRA

- Bauer M. J., Herrmann R. (1997): Estimation of the environmental contamination by phthalic acid esters leaching from household wastes. *Sci. Total Environ.* 208: 49–57.
- Bauer M. J., Herrmann R., Martin A., Zellmann H. (1998): Chemodynamics, transport behaviour and treatment of phthalic acid esters in municipal landfill leachates. *Water Sci. Technol.* 38: 185–192.
- Burkhard L. P. (2003): Factors influencing the design of bioaccumulation factor and biota-sediment accumulation factor field studies. *Environ. Toxicol. Chem.* 22: 351–360.
- Burkhard L. P., Cook P. M., Lukasewycz M. T. (2004): Biota-sediment accumulation factors for polychlorinated biphenyls, dibenzo-p-dioxins, and dibenzofurans in southern lake Michigan Lake trout (*Salvelinus namaycush*). *Environ. Sci. Technol.* 38: 5297–5305.
- Cano J. M., Marín M. L., Sánchez A., Hernandis V. (2002): Determination of adipate plasticizers in poly(vinyl chloride) by microwave-assisted extraction. *Journal of Chromatography A*, 963m: 401–409.
- Casas L., Fernández M. F., Llop S., Guxens M., Ballester F., Olea N., Irurzun M. B., Rodríguez L. S. M., Riaño I., Tardón A., Vrijheid M., Calafat A. M., Sunyer J. (2011): Urinary concentrations of phthalates and phenols in a population of Spanish pregnant women and children. *Environment International*, 37 (5): 858–866.
- Fromme H., Küchler T., Otto T., Pilz K., Müller J., Wenzel A. (2002): Occurrence of phthalates and bisphenol A and F in the environment. *Water Res.* 36: 1429–1438.
- Heudorf U., Mersch-Sundermann V., Angerer J. (2007): Phthalates: Toxicology and exposure. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 210 (5): 623–634.
- Huang P., Tien Ch., Sun Y., Hsieh Ch., Lee Ch. (2008): Occurrence of phthalates in sediment and biota: Relationship to aquatic factors and the biota-sediment accumulation factor. *Chemosphere*, 73: 539–544.
- Jarošová A., Gajdušková V., Raszyk J., Ševela K. (1999): Di-2-ethylhexyl phthalate and di-n-butyl phthalate in the tissues of pigs and broiler chicks after their oral administration. *Veterinární Medicína*, 44 (3): 61–70.

Jarošová A., Stancová V., Zorníková G. (2009): Di-2-ethylhexyl ftalát a di-n-butyl ftalát ve tkáních kapra obecného. In XXXIX. Lenfeldovy a Höcklovy dny, Konference s mezinárodní účastí o hygieně a technologii potravin. Brno: VFU: 13-16.

Jarošová, A. (2010): Výskyt ftalátů v potravním řetězci. Sborník XXXVI. Semináře o jakosti potravin a potravinových surovin – „Ingrový dny“, Brno: 11–19.

Kang Y., Den W., Bai H., Ko F. H. (2005): Direct quantitative analysis of phthalate esters as micro-contaminants in cleanroom air and wafer surfaces by auto-thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1070: 137-145.

Lottrup G., Andersson A. M., Leffers H., Mortensen G. K., Toppari J., Skakkebaek N. E., Main K. M. (2006): Possible impact of phthalates on infant reproductive health. *International Journal of Andrology*, 29 (1): 172–180.

Mackintosh C. E., Maldonado J. A., Ikonomidou M. G., Gobas F. A. P. C. (2006): Sorption of phthalate esters and PCBs in a marine ecosystem. *Environ. Sci. Technol.* 40: 3481–3488.

Mackintosh C. E., Maldonado J., Hongwu J., Hoover N., Chong A., Ikonomidou M. G., Gobas F. A. P. C. (2004): Distribution of phthalate esters in a marine aquatic food web: comparison to polychlorinated biphenyls. *Environ. Sci. Technol.* 38: 2001–2020.

Martinen S. K., Kettunen R. H., Rintala J. A. (2003): Occurrence and removal of organic pollutants in sewages and landfill leachates. *Sci. Total Environ.* 301: 1–12.

Matsumoto M., Hirata-Koizumi M., Ema M. (2008): Potential adverse effects of phthalic acid esters on human health: A review of recent studies on reproduction. *Regulatory Toxicology Pharmacology* 50 (1): 37–49.

Peijnenburg W. J. G. M., Struijs J. (2006): Occurrence of phthalate esters in the environment of the Netherlands. *Ecotoxicol. Environ. Safe.* 63: 204–215.

Salima C. J., Liua S. H., Kennedy J. F. (2010): Comparative study of the adsorption on chitosan beads of phthalate esters and their degradation products, *Carbohydr. Polym.* 81: 640–644.

Schettler T. (2006): Human exposure to phthalates via consumer products. *Int. J. Androl.*, 290: 134-139.

Velíšek J. (2002): *Chemie potravin 3. Tábor OSSIS, vydání 2. upravené*: 343.

World Health Organization (2003): Chapter 8: Chemical Aspects, *Guidelines for Drinking Water Quality*, third ed. World Health Organization, Geneva (Draft).