

SLEDOVÁNÍ FTALÁTŮ VE TKÁNÍCH KUŘAT V ZÁVISLOSTI NA JEJICH OBSAHU V KRMIVU

A. Jarošová

Došlo: 25. ledna 2010

Abstract

JAROŠOVÁ, A.: *Monitoring phthalates in the tissues of broiler chicks with feedstuffs different phthalate contents.* Acta univ. agric. et silvic. Mendel. Brun., 2010, LVIII, No. 4, pp. 65–72

For the monitoring of distribution and accumulation of phthalic acid esters (PAE) in animal tissues, samples of muscle, mesenteric fat (fat), skin and liver from broiler chicks ROSS 308 were used. The chicks were divided into 4 groups (50 chicks each). All the chicks were given commercial diets (complete feed, KKS) for broiler chicks (starter – BR1; grower – BR2 and finisher – BR3). The experimental diets were supplemented with vegetable oil (RO) with low (group N) or high (group V) phthalate contents, or animal fat with a high phthalate content (group Z). Neither the control diets (K), nor the grower (BR1) diets contained vegetable oils or animal fat. The N chicks were given the grower (BR2) and finisher (BR3) diets supplemented with 5% and 3% vegetable oil, respectively. The V chicks were given BR2 and BR3 diets with 5% and 3% vegetable oil, respectively. The Z chicks were given BR2 and BR3 diets with 5% and 3% animal fat, respectively.

Di-n-butyl phthalate (DBP) and di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) were found in the tissues of chicks in all the experimental groups. The DBP content in the muscle ranged from 0.03 to 0.55 mg.kg⁻¹, in the adipose tissue from < 0.20 to 2.56 mg.kg⁻¹, in the skin from < 0.20 to 1.49 mg.kg⁻¹, and in the liver from 0.03 to 0.13 mg.kg⁻¹. The content of DEHP in the muscle ranged from 0.03 to 1.15 mg.kg⁻¹, in the adipose tissue from 0.25 to 9.85 mg.kg⁻¹, in the skin from < 0.20 to 4.68 mg.kg⁻¹, and in the liver from 0.16 to 0.24 mg.kg⁻¹. The highest concentrations of DBP of 1.28 ± 1.00 mg.kg⁻¹ of fresh sample (an average value from 8 chicks) was determined in the adipose tissue of V chicks. The highest concentration of DEHP of 3.27 ± 2.87 mg.kg⁻¹ of fresh sample (mean of 8 chicks) was also determined in the V group. The accumulation of DEHP was 3.2; 2.6 and 2.9 times higher than that of DBP in the muscle, adipose tissue and skin, respectively.

DBP, DEHP, analysis, contamination, feed

Estery kyseliny ftalové jsou látky, které se používají jako změkčovadla plastických hmot a to především PVC (Petersen a Breindahl, 2000). Protože v polymerech nejsou ftaláty pevně vázány, mohou difundovat do prostředí a být tak zdrojem potenciální kontaminace potravního řetězce (Krauskopf, 2003).

Mezi nejčastěji se vyskytující ftaláty patří di-(2-ethylhexyl) ftalát (DEHP) a di-n-butyl ftalát (DBP). DEHP a DBP vykazují teratogenní, mutagenní a karcinogenní účinky (Yin aj., 2003).

Denní expozice DEHP je v USA 6 µg na osobu a den. Zdrojem je potrava, resp. obaly potravin. Ačkoliv přesný odhad je nemožný, potravu lze považovat za hlavní zdroj celkové denní expozice PAE. Evropská komise pro potraviny určila 0,025 mg

DEHP a 0,050 mg DBP na kg živé hmotnosti a den u člověka jako tolerovatelnou denní dávku (COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES DG III/C/1, 1991).

Ftaláty jsou živočišné karcinogeny a mohou způsobit smrt či deformace tkání. Jsou nebezpečné pro funkci jater a způsobují reprodukční toxicitu u laboratorních zvířat (Latini, 2005).

Údaje o výskytu DBP a DEHP v komerčních krmných směsích pro prasata, skot a drůbež a jejich výskyt v tkáních u modelových pokusů byly uvedeny v předchozích publikacích (Raszyk et al., 1998; Ulrich et al., 1999; Jarošová et al., 1999; Jarošová, 2006; Jarošová et al., 2009a; Jarošová et al., 2009b).

Vzhledem k tomu, že v předcházející práci (Jarošová et al., 2009a) byla zjištěna kontaminace krmiv, ftaláty a krmiva představují vstup do potravního řetězce, bylo cílem práce studovat distribuci a úroveň kumulace DEHP a DBP ve tkáních kuřecích brojlerů v závislosti na obsahu ftalátů v krmivu v průběhu doby výkrmu.

MATERIÁL A METODY

Materiál

Do pokusu bylo zařazeno 200 kusů jednodenních kuřat ROSS 308. Kuřata byla rozdělena do čtyř skupin (v každé skupině 50 kuřat) – Tab. I. Výkrm probíhal do 42. dne.

Pokusná brojlerová kuřata byla krmena komerčně vyrobenými kompletními krmnými směsmi (KKS) pro brojlerová kuřata (BR1; BR2 a BR3), podle stáří kuřat. Do KKS byl přidáván rostlinný olej (RO) s nízkým (skupina kuřat „N“), nebo vysokým obsahem

ftalátů (skupina kuřat „V“), nebo živočišný tuk (ŽT) s vysokým obsahem ftalátů (skupina kuřat „Ž“). Přidávané rostlinné oleje a tuk byly odebrány od registrovaných výrobců krmných surovin. Rostlinný řepkový olej, který byl určen jak pro humánní výživu, tak pro výživu zvířat, byl ihned po vylisování přecherpáván a skladován ve dvou nádržích, z nichž jedna byla ocelová (nízký obsah ftalátů), jedna plastová (vysoký obsah ftalátů). Rostlinné oleje byly odebrány při expedici z nádrží přibližně po měsíčním skladování.

Obsahy DBP a DEHP (mg.kg^{-1}) v krmivech, která byla podávána kuřatům kontrolní skupiny (K), kuřatům skupiny s nízkým obsahem ftalátů (N), kuřatům skupiny s vysokým obsahem ftalátů (V) a kuřatům skupiny s přídavkem živočišného tuku (Ž) jsou uvedeny v Tab. II.

Kuřata hybrida ROSS 308 byla chována v akreditované experimentální stáji Veterinární a farmaceutické univerzity v Brně (VFU Brno) na hluboké podestýlce, odděleně dle skupin, každá se samostat-

I: Skupiny kuřat a kompletní krmné směsi (KKS) BR1, BR2, BR3 bez přídavku tuku (skupina kuřat K), s přídavkem rostlinného oleje (RO) s nízkým obsahem ftalátů (skupina kuřat N), rostlinného oleje s vysokým obsahem ftalátů (skupina kuřat V) a KKS s přídavkem živočišného tuku (ŽT) s vysokým obsahem ftalátů (skupina kuřat Ž) používaných v průběhu výkrmu kuřat od 1. do 42. (1–21, 22–35, 36–42) dne

I: Chicks groups and complete feedstuffs (KKS) BR1, BR2, BR3 without fat additives (control chicks K), with low-phthalate plant oil (chicks group N), with high-phthalate plant oil (chicks group V), with high-phthalate animal fat (chicks group Z) used at animal fattening from day 1 to day 42

Skupiny kuřat	Krmivo použité v průběhu výkrmu		
	1–21	22–35	36–42
	[den]		
K	KKS BR1 (netukovaná)	KKS BR2 (netukovaná)	KKS BR3 (netukovaná)
N	KKS BR1 (netukovaná)	KKS BR2 s přídavkem 5 % RO s nízkým obsahem ftalátů	KKS BR3 s přídavkem 3 % RO s nízkým obsahem ftalátů
V	KKS BR1 (netukovaná)	KKS BR2 s přídavkem 5 % RO s vysokým obsahem ftalátů	KKS BR3 s přídavkem 3 % RO s vysokým obsahem ftalátů
Ž	KKS BR1 (netukovaná)	KKS BR2 s přídavkem 5 % ŽT s vysokým obsahem ftalátů	KKS BR3 s přídavkem 3 % ŽT s vysokým obsahem ftalátů

II: Obsah DBP a DEHP (mg.kg^{-1}) v použitých tucích a kompletních krmných směsích, která přijímala kuřata skupin K, N, V a Ž od 1. do 42. dne

II: Concentrations of DBP and DEHP (mg.kg^{-1}) in fats and complete feedstuffs administered to the chicks of groups K, N, V and Z from day 1 to day 42

Krmivo	DBP	DEHP	Σ DBP + DEHP
	[mg.kg^{-1}]		
KKS BR1 – K, N, V, Ž	0,96	0,48	1,14
KKS BR2 – K	1,37	0,52	1,89
KKS BR3 – K	1,02	0,76	1,78
rostlinný olej s nízkým obsahem ftalátu – N	15,56	2,25	17,81
rostlinný olej s vysokým obsahem ftalátu – V	51,35	7,0	58,35
živočišný tuk s vysokým obsahem ftalátu – Ž	43,28	2,10	45,38
KKS BR2 – N	2,15	0,63	2,78
KKS BR3 – N	1,49	0,83	2,32
KKS BR2 – V	3,94	0,87	4,81
KKS BR3 – V	2,56	0,97	3,53
KKS BR2 – Ž	3,53	0,63	4,16
KKS BR3 – Ž	2,32	0,82	3,14

ným systémem krmení a napájení (tubusová krmítka a kloboukové napáječky). Krmení a napájení bylo prováděno ad libitum kompletní krmnou směsí s volným přístupem k pitné vodě. Teplota a relativní vlhkost prostředí byly průběžně sledovány a zaznamenávány zařízením TESTO Loger 175-H2 a odpovídaly požadavkům definovaným dodavatelem použitého hybridu. V chovu byl použit řízený světelný režim, 23 hodin světlo a 1 hodina tma. Výměnu vzduchu ve stáji zabezpečovala vzduchotechnika, která pracovala v nepřetržitém režimu. V průběhu pokusu byl denně sledován zdravotní stav kuřat a nebyly zaznamenány klinické příznaky onemocnění.

Pro chemickou analýzu náhodným výběrem z každé skupiny bylo vybráno osm kuřat (čtyři slepičky a čtyři kohoutci). Průměrné hmotnosti (kg) (průměr $\pm$ SD.) kontrolních (K) a pokusných kuřat (N, V, Ž) před porážkou byly: K – $2,42 \pm 0,33$; N – $2,39 \pm 0,30$; V – $2,30 \pm 0,43$; Ž – $2,50 \pm 0,35$ a pohybovaly se od 1,56 do 3,14 kg. Jatečná těla kuřat byla zpracována a chemická analýza provedena na Ústavu technologie potravin Mendelovy univerzity v Brně. Na obsah DEHP a DBP byla analyzována svalovina (směsný vzorek prsní a stehenní svaloviny levé půlky), kůže a mezenterální tuk. Játra pro malou hmotnost byla analyzována jako směsný vzorek (homogenát 8 jater z každé skupiny).

U kontrolních i pokusných kuřat bylo stanovení DEHP a DBP provedeno individuálně u každého kuřete.

Metody

Vzorky tkání byly odebrány ihned po porážení zvířat, homogenizovány, naváženy do aluminiových misek (50–300 g) a zamrazeny. Postupně byly zmra-

zené vzorky lyofilizovány a následně extrahována rezidua PAE n-hexanem. Vzorky krmiv byly rovněž před extrakcí n-hexanem lyofilizovány. Od ko-extraktů byly PAE separovány gelovou permeační chromatografií na gelu Bio beads S-X3. Pro dočištění eluátů bylo použito čisticího postupu s koncentrovanou kyselinou sírovou. Stanovení PAE bylo provedeno vysoko účinnou kapalinovou chromatografií (HPLC), kapalinový chromatograf Agilent Technologies LC/MSD VL, na koloně Cogent e-Colum C 18, zrnění 5 μ m, délka 150 mm, Super Link s UV a MS detekcí, mobilní fáze acetonitril: voda (99:1). Vyhodnocení bylo provedeno programem Agilent chemstation.

Pro stanovení PAE byly použity zavedené metody pro stanovení ftalátů v potravinách (JAROŠOVÁ aj., 1998 a 1999). Souběžně u každého vzorku byla stanovena sušina a obsah tuku. Všechny vzorky byly analyzovány v duplikátech. Koncentrace DEHP a DBP jsou vztaženy na původní vzorek.

Získané výsledky byly statisticky vyhodnoceny pomocí programu Unistat 5.1. Pro zpracování dat byla použita ANOVA a následně mnohonásobné srovnání pomocí Tukey-HSD testu k nalezení dvojic skupin se statisticky významnými rozdíly (Zar, 1999).

VÝSLEDKY

Koncentrace DBP a DEHP ve svalovině, v tuku, kůži a játrech kuřat kontrolní skupiny (K), kuřat skupiny krmených krmivem s nízkým obsahem ftalátů (N), kuřat skupiny krmených krmivem s vysokým obsahem ftalátů (V) a kuřat skupiny krmených krmivem s přídatkem živočišného tuku (Ž) jsou uvedeny v Tab. III.

III: Průměrné obsahy DBP a DEHP ($x \pm S.D$) v mg.kg^{-1} původního vzorku ve svalovině, tuku, kůži a játrech kuřat kontrolní skupiny (K), skupiny kuřat krmených krmivem s nízkým obsahem ftalátů (N), skupiny kuřat krmených krmivem s vysokým obsahem ftalátů (V), skupiny kuřat krmených krmivem s přídatkem živočišného tuku (Ž), ($n = 8$)

III: Mean values of DBP and DEHP ($x \pm S.D$) in mg.kg^{-1} in fresh sample of muscle, fat, skin, and liver of control chicks (K), low-phthalate diet chicks (N), high-phthalate diet chicks (V), chicks on the diet with animal fat addition (Z), ($n = 8$)

Vzorky	svalovina		tuk		kůže		játra*	
	[mg.kg ⁻¹]							
	DBP	DEHP	DBP	DEHP	DBP	DEHP	DBP	DEHP
K kontrolní skupina kuřat	0,22±0,10 0,10–0,36	0,35±0,08 0,20–0,45	0,55±0,36 0,24–1,45	1,38±0,91 0,31–3,08	0,39±0,23 < 0,20–0,78	1,18±1,36 0,31–4,68	0,05	0,16
N kuřata krmena krmivem s nízkým obsahem ftalátů	0,08±0,04 0,03–0,15 a,b	0,08±0,04 0,03–0,14	0,59±0,46 < 0,20–1,70	1,92±1,35 0,67–4,96	0,51±0,39 0,20–1,49	1,10±0,55 0,58–1,95	0,03	0,16
V kuřata krmena krmivem s vysokým obsahem ftalátů	0,15±0,07 0,07–0,33	0,32±0,18 0,09–0,62	1,28±1,00 0,28–2,56	3,27±2,87 0,71–9,85	0,57±0,37 0,23–1,14	1,38±1,07 0,33–3,61	0,11	0,24
Ž kuřata krmena přídatkem živočišného tuku do krmiva	0,22±0,19 0,07–0,55	0,39±0,30 0,19–1,15	0,89±0,74 0,34–2,54	1,85±1,27 0,25–3,84	0,44±0,17 0,21–0,73	1,60±1,01 < 20–3,02	0,13	0,23

*analyzována jako směsný vzorek

Mez stanovitelnosti DBP a DEHP v tukových matricích – $0,2 \text{ mg.kg}^{-1}$

Mez stanovitelnosti DBP a DEHP pro živočišný a rostlinný materiál s nízkým obsahem tuku – $0,03 \text{ mg.kg}^{-1}$

a – vůči K statisticky významné ($P < 0,05$)

b – vůči Ž statisticky významné ($P < 0,05$)

DBP se nejvíce kumuloval v tuku kuřat. Průměrné koncentrace DBP v tuku jednotlivých skupin kuřat se pohybovaly v rozmezí 0,55 až 1,28 mg.kg⁻¹. Nejvyšší koncentrace DBP v tuku byla zjištěna u skupiny kuřat „V“, a to 1,28 ± 1,00 mg.kg⁻¹. V kůži kuřat byla zjištěna druhá nejvyšší koncentrace DBP. Průměrné koncentrace DBP v kůži kuřat jednotlivých skupin kolísaly v úzkém rozsahu 0,39 až 0,57 mg.kg⁻¹. Nejvyšší koncentrace DBP v kůži byla rovněž zjištěna u skupiny kuřat „V“, a to 0,57 ± 0,37 mg.kg⁻¹. Průměrné koncentrace DBP ve svalovině kuřat jednotlivých skupin se pohybovaly v rozsahu 0,08 až 0,22 mg.kg⁻¹. Nejnižší koncentrace DBP byly zjištěny v játrech kuřat. Průměrné koncentrace DBP v játrech jednotlivých skupin se pohybovaly v rozsahu 0,03 až 0,13 mg.kg⁻¹.

DEHP se podobně jako DBP nejvíce kumuloval v tuku kuřat. Průměrné koncentrace DEHP v tuku u jednotlivých skupin kuřat se pohybovaly v rozmezí 1,38 až 3,27 mg.kg⁻¹. Nejvyšší koncentrace DEHP v tuku byla zjištěna u skupiny kuřat „V“, a to 3,27 ± 2,87 mg.kg⁻¹. V kůži kuřat byla zjištěna druhá nejvyšší koncentrace DEHP. Průměrné koncentrace DEHP v kůži kuřat jednotlivých skupin kolísaly v rozsahu 1,10 až 1,60 mg.kg⁻¹. Nejvyšší koncentrace DEHP v kůži byla zjištěna u skupiny kuřat „Ž“, a to 1,60 ± 1,01 mg.kg⁻¹.

Průměrné koncentrace DEHP ve svalovině kuřat jednotlivých skupin se pohybovaly v rozsahu 0,08 až 0,39 mg.kg⁻¹. Nejvyšší koncentrace DEHP ve svalovině byla zjištěna u skupiny kuřat „Ž“, a to 0,39 ± 0,30 mg.kg⁻¹. Nejnižší koncentrace DEHP byly zjištěny v játrech kuřat. Průměrné koncentrace DEHP v játrech jednotlivých skupin kuřat se pohybovaly v rozsahu 0,16 až 0,24 mg.kg⁻¹.

Ve svalovině, tuku, kůži i játrech byl obsah DEHP vždy vyšší než obsah DBP. Ve svalovině 1,0 až 2,1krát, v tuku 2,1 až 3,2krát, v kůži 2,2 až 3,6krát a játrech 1,8 až 5,3krát.

Z hlediska kumulace byly v tuku a kůži u všech skupin kuřat zjištěny nejvyšší hodnoty ftalátů (sumy DBP a DEHP). Kuřata, která přijímala krmivo s vysokým obsahem ftalátů (V), stejně jako kuřata, která přijímala krmivo s přídatkem živočišného tuku (Ž) měla výrazně vyšší obsahy ftalátů v tuku, kůži a játrech než kuřata kontrolní skupiny (K) a skupiny s nízkým obsahem ftalátů v krmivu (N).

Zjištěné rozdíly v koncentracích DBP a DEHP nebyly statisticky významné. Výjimkou byla koncentrace DEHP ve vzorcích svaloviny skupiny N, která byla testována jako statisticky významně nižší ($P < 0,05$) oproti skupinám K a Ž, koncentrace DBP a DEHP ve svalovině se však pohybovaly v blízkosti meze stanovitelnosti.

DISKUSE

V předcházející studii (Jarošová et al., 2009a) byla ověřena hypotéza, že krmné suroviny (např. rostlinné oleje, živočišný tuk, pšenice, kukuřice) jsou významně kontaminovány ftaláty. Toto zjištění bylo podnětem k uskutečnění experimentu na kuřatech.

Z toho důvodu byla kontrolní skupina kuřat (K) krmena komerčně vyrobenými krmivy bez přídavku tukové složky. Pokusné skupiny kuřat (N, V, Ž) byly krmeny KKS, do kterých byly přidány průmyslově vyráběné krmné suroviny, a to řepkový olej a živočišný tuk. Tento olej a tuk obsahoval měřitelné koncentrace sumy DBP a DEHP (Tab II), které přesáhly koncentrace 1 mg.kg⁻¹ krmiva.

Jarošová et al. (2009a) zjistili, že některé krmné suroviny používané při výrobě krmných směsí obsahovaly vysoké hladiny ftalátů (suma DBP a DEHP), a to pšenice 4,06 mg.kg⁻¹ a kukuřice 4,37 mg.kg⁻¹. Vzhledem k tomu, že obiloviny tvoří až 70 % obsahu KKS, mohou být významným rizikovým faktorem nejen pro chovaná zvířata, ale i v potravním řetězci člověka.

V kompletních krmných směších, v rostlinném oleji i v živočišném tuku, které se zkrmovaly kuřatům, byl obsah DBP vždy vyšší než obsah DEHP. Naproti tomu ve svalovině, tuku, kůži i játrech všech skupin kuřat (K, N, V, Ž) byl obsah DEHP vždy vyšší než obsah DBP. DBP je obecně považován za častěji se vyskytující kontaminant životního prostředí.

Rozdíly v kumulaci DEHP a DBP v těle brojlerů mohou být způsobeny jejich odlišným metabolismem, poměrem mezi akumulací a eliminací z organismu a částečně i odlišnými fyzikálně-chemickými vlastnostmi obou ftalátů. DBP má menší molekulu s kratším nerozvětveným řetězcem, což umožňuje částečnou rozpustnost DBP ve vodě. DEHP je ve vodě nerozpustný.

Hodnoty DEHP v játrech u všech skupin kuřat byly v rozmezí 0,16–0,24 mg.kg⁻¹ původního vzorku. Jsou podstatně nižší než u ostatních tkání, patrně vlivem metabolického štěpení DEHP na mono-2-ethylhexyl ftalát (MEHP). MEHP byl také prokázán v játrech kuřat a prasat po perorální aplikaci ftalátů (Jarošová et al., 1999).

Nejčastěji uváděnými cílovými orgány, porušenými při akutní intoxikaci při vyšších dávkách, jsou varlata a játra. Jde především o atrofii varlat a hepatomegalii (David et al., 2000). DEHP u prasat ovlivňuje funkci bulbouretrálních žláz (Ljungvall et al., 2003). Při subakutní intoxikaci se rozvíjí proliferace peroxizomů (Ortiz-Zarragoitia, 2006), indukce peroxizomálních enzymů, změny v lipidovém metabolismu, inhibice syntézy cholesterolu a indukce beta-oxidace mastných kyselin. Při chronické toxicitě (dlouhodobá expozice in vivo na krysách nebo myších, in vitro na tkáňových kulturách) byly opakovaně prokázány následující nežádoucí účinky PAE: teratogenní a embryotoxické, spermiotoxické, nefrotoxické, hepatotoxické, karcinogenní a vliv na membránové funkce (Marhold, 1986).

Současná legislativa platná v České republice nepokrývá problematiku ftalátů v potravinách. Podle zákona č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a vyhlášky MZ ČR č. 298/1997 Sb., kterou se stanoví chemické požadavky na zdravotní nezávadnost jednotlivých druhů potravin a potravinových surovin, platného do roku 2004, byla stanovena přípustná množství ftalátů (vyjádřená jako

suma DEHP a DBP) ve svalovině hospodářských zvířat 2 mg.kg⁻¹ původního vzorku a v tucích 4 mg.kg⁻¹. Přijetím legislativy EU v r. 2004 byly limity pro ftaláty z vyhlášky vypuštěny.

Dosažené výsledky o distribuci a kumulaci DEHP a DBP v těle kuřat po jejich příjmu v krmivu, jsou významné z hlediska zdravotní nezávadnosti potravin živočišného původu.

Na závěr diskuse lze shrnout následující: zjištěné výsledky dokumentují, že komerční krmné směsi pro kuřata (KKS BR1, KKS BR2, KKS BR3) obsahují hladiny ftalátů (suma DBP a DEHP) přesahující hodnotu 1 mg.kg⁻¹. Měsíční skladování rostlinného oleje v plastové nádrži výrazně zvyšuje obsah ftalátů v rostlinném oleji. Zvýšené hladiny ftalátů v kr-

mivech kuřat mají za následek zvýšený obsah ftalátů v orgánech a tkáních kuřat. K nejvyšší kumulaci ftalátů dochází v tuku kuřat. Vnitřní tuk představuje vhodný indikátor kontaminace kuřat ftaláty. Naopak k nejnižší kumulaci ftalátů dochází v játrech kuřat vlivem metabolického štěpení. V kompletních krmných směsích pro kuřata jsou zjišťovány vyšší hladiny DBP než DEHP, zatímco v orgánech a tkáních kuřat jsou nalézány vyšší obsahy DEHP než DBP. DBP má menší molekulu s kratším nerozvětveným řetězcem, což umožňuje částečnou rozpustnost DBP než DEHP, který je ve vodě nerozpustný.

V České republice ani v zahraničí nebyly dosud stanoveny hygienické limity pro obsah ftalátů v krmivech pro hospodářská zvířata.

SOUHRN

Byla sledována distribuce a kumulace esterů kyseliny ftalové (PAE) di-n-butyl ftalátu (DBP) i di-(2-ethylhexyl) ftalátu (DEHP) v živočišných tkáních (svalovina, mezenterální tuk, kůže, játra) u brojlerych kuřat hybridu ROSS 308. Kuřata (n = 200) byla rozdělena do čtyř skupin (v každé skupině 50 kuřat). Kuřata skupiny „K“ byla krmena běžnými kompletními krmnými směsmi (KKS) bez přídavku tuku, kuřata skupiny „N“ byla krmena běžnými KKS s přídavkem 3 % rostlinného oleje (olej byl skladován v plechové nádobě) s nízkým obsahem ftalátů do krmiva BR2 a 5 % do krmiva BR3, kuřata skupiny „V“ byla krmena běžnými KKS s přídavkem 3 % rostlinného oleje (olej byl skladován v plastové nádobě) s vysokým obsahem ftalátů do krmiva BR2 a 5 % do krmiva BR3, kuřata skupiny „Z“ byla krmena běžnými KKS s přídavkem 3 % živočišného tuku (ŽV) s vysokým obsahem ftalátů do krmiva BR2 a 5 % do krmiva BR3. Obsah DBP ve svalovině se pohyboval v rozmezí od 0,03 do 0,55 mg.kg⁻¹, v tuku od < 0,20 do 2,56 mg.kg⁻¹, v kůži od < 0,20 do 1,49 mg.kg⁻¹ a v játrech od 0,03 do 0,13 mg.kg⁻¹. Obsah DEHP se ve svalovině pohyboval od 0,03 do 1,15 mg.kg⁻¹, v tuku od 0,25 do 9,85 mg.kg⁻¹, v kůži od < 0,20 do 4,68 mg.kg⁻¹ a v játrech od 0,16 do 0,24 mg.kg⁻¹. Nejvyšší koncentrace DBP 1,281,00 mg.kg⁻¹ původního vzorku (průměr z osmi kuřat) byla stanovena v mezenterálním tuku kuřat skupiny „V“. Nejvyšší koncentrace DEHP 3,272,87 mg.kg⁻¹ původního vzorku (průměr z osmi kuřat) byla rovněž stanovena v mezenterálním tuku kuřat skupiny „V“. Zjištěné rozdíly v koncentracích DBP a DEHP nebyly statisticky významné. Výjimkou byla koncentrace DEHP ve vzorcích svaloviny skupiny N, která byla testována jako statisticky významně nižší (P < 0,05) oproti skupinám K a Ž.

DBP, DEHP, analýza, kontaminace, krmivo

SUMMARY

For the monitoring of distribution and accumulation of phthalic acid esters (PAE) in animal tissues, samples of muscle, mesenteric fat (fat), skin and liver from broiler chicks ROSS 308 were used. The chicks were divided into 4 groups (50 chicks each). All the chicks were given commercial diets (complete feed, KKS) for broiler chicks (starter – BR1; grower – BR2 and finisher – BR3). The experimental diets were supplemented with vegetable oil (RO) with low (group N) or high (group V) phthalate contents, or animal fat with a high phthalate content (group Z). Neither the control diets (K), nor the grower (BR1) diets contained vegetable oils or animal fat. The N chicks were given the grower (BR2) and finisher (BR3) diets supplemented with 5% and 3% vegetable oil, respectively. The V chicks were given BR2 and BR3 diets with 5% and 3% vegetable oil, respectively. The Z chicks were given BR2 and BR3 diets with 5% and 3% animal fat, respectively.

The chicks were fattened till 42 days of age. For the chemical analysis, 8 chicks (4 females and 4 males) were selected randomly from each group. After the stunning, the chicks were elaborated of Department of Food Technology at Mendel University in Brno. Muscle (pooled sample of breast and thigh muscle from the left carcass half), skin and mesenteric fat were analysed for the contents of DEHP and DBP. Livers, because of low weight, were analysed as pooled samples (the homogenate of 8 livers from each group).

The tissue samples were collected right after the slaughter, homogenized, weighed, placed in aluminium dishes (50–300 g) and frozen. For the determination of PAE, routine methods for determination of phthalates in foodstuffs were used (Jarošová et al., 1998 and 1999).

Di-n-butyl phthalate (DBP) and di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) were found in the tissues of chicks in all the experimental groups. The DBP content in the muscle ranged from 0.03 to 0.55 mg.kg⁻¹, in the adipose tissue from < 0.20 to 2.56 mg.kg⁻¹, in the skin from < 0.20 to 1.49 mg.kg⁻¹, and in the liver from 0.03 to 0.13 mg.kg⁻¹. The content of DEHP in the muscle ranged from 0.03 to 1.15 mg.kg⁻¹, in the adipose tissue from 0.25 to 9.85 mg.kg⁻¹, in the skin from < 0.20 to 4.68 mg.kg⁻¹, and in the liver from 0.16 to 0.24 mg.kg⁻¹.

The highest concentrations of DBP of 1.28 ± 1.00 mg.kg⁻¹ of fresh sample (an average value from 8 chicks) was determined in the adipose tissue of V chicks. The highest concentration of DEHP of 3.27 ± 2.87 mg.kg⁻¹ of fresh sample (mean of 8 chicks) was also determined in the adipose tissue of V group. The accumulation of DEHP was 3.2; 2.6 and 2.9 times higher than that of DBP in the muscle, adipose tissue and skin, respectively.

The V and Z chicks showed higher phthalate contents (the sum of DBP and DEHP) in the adipose tissue, skin and liver than the K and N chicks.

Poděkování

Studie byla řešena za podpory MZe ČR, Národní agentury pro zemědělský výzkum (NAZV), projekt QG 60066.

LITERATURA

- COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES, DG III/C/1, Brussels, 1991.
- DAVID, R. M., MOORE, M. R., FINNEY, D. C., GUEST, D., 2000: Chronic toxicity of di(2-ethylhexyl)phthalate in mice. *Toxicological Science*, 58, 377–385. ISSN 1096-6080.
- HARAZIM, J., JAROŠOVÁ, A., KRÁTKÁ, L., STANCOVA, V., SUCHÝ, P., 2008: Contamination of feedstuffs with phthalic acid esters. *Toxicology Letters*, 180 s, 67. ISSN 0378-4274.
- JAROŠOVÁ, A., GAJDUŠKOVÁ, V., RASZYK, J., ŠEVELA, K., 1998: Determination of phthalic acid esters (PAEs) in biological materials by HPLC. *Czech Journal of Food Sciences*, 16, 122–130. ISSN 1212-1800.
- 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. ISSN 0375-8427.
- JAROŠOVÁ, A., 2006: Phthalic acid esters (PAEs) in the food chain. *Czech Journal of Food Sciences*, 24: 223–231. ISSN 1212-1800.
- JAROŠOVÁ, A., HARAZIM, J., KRÁTKÁ, L., KOLENČÍKOVÁ, D., 2009a: Screening of phthalic acid esters in feed ingredients, premixes and feed additives in the Czech republic. *Environmental Chemistry Letters*, Published online: 11 september 2009 (DOI 10.1007/s 10311-009-0237-7). ISSN 1804-0152.
- JAROŠOVÁ, A., HARAZIM, J., SUCHÝ, P., KRÁTKÁ, L., STANCOVA, V., 2009b: The distribution and accumulation of phthalates in the organs and tissues of chicks after the administration of feedstuffs with different phthalate concentrations. *Veterinární Medicína*, 54 (9), 427–434. ISSN 0375-8427.
- KRAUSKOPF, L. G., 2003: How about alternatives to phthalate plasticizers? *Journal of vinyl and additive technology*, 9: 159–171. ISSN 1083-5601.
- LATINI, G., 2005: Monitoring phthalate exposure in human. *Clinica Chimica Acta*, 361: 20–29. ISSN 0009-8981.
- LJUNGVALL, K., VEERAMACHANENI, D., HOU, M., HULTÉN, F., MAGNUSSON, U., 2003: Morphology and morphometry of the reproductive organs in prepubertal and postpubertal male pigs exposed to di(2-ethylhexyl) phthalate before puberty: Precocious development of bulbourethral glands. *Theriogenology*, 70 (6), 984–991. ISSN 0093-691X.
- MARHOLD, J. 1986: *Přehled průmyslové toxikologie, organické látky. Svazek 1*, s. 385–390.
- ORTIZ-ZARRAGOITIA, M., TRANT, J. M., CAJARAVILLET, M. P., 2006: Effects of dibutylphthalate and ethynylestradiol on liver peroxisomes, reproduction, and development of zebrafish (*Danio rerio*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25(9), 2394–2404. ISSN 1552-8618.
- PETERSEN, J. H., BREINDAHL, T., 2000: Plasticizers in total diet samples, baby food and infant formulae. *Food Additives and Contaminants*, 17, 133–141. ISSN 0265-203X.
- RASZYK, J., GAJDUŠKOVÁ, V., JAROŠOVÁ, A., SALAVA, J., PALÁC, J., 1998: Occurrence of phthalic acid esters (PAEs) in combined feedstuffs and adipose tissues of swine and cattle. *Veterinární Medicína*, 43, 93–95. ISSN 0375-8427.
- ULRICH, R., JAROŠOVÁ, A., RASZYK, J., SALAVA, J., PALÁC, J., 1999: Zhodnocení výskytu esterů kyseliny ftalové na farmách prasat a skotu okresu Hodonín (1997 – 1999). In: Aktuální otázky bioklimatologie zvířat '99. Sborník z 14. vědecké konference s mezinárodní účastí, VFU, Brno 1999, s. 100–102.
- YIN, R., LIN, X. G., WANG, S. G., ZHANG, H. Y., 2003: Effect of DBP/DEHP in vegetable planted soil on the quality of capsicum fruit. *Chemosphere*, 50, 801–805. ISSN 0045-6535.
- Zákon č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a vyhláška MZ ČR č. 298/1997 Sb., kte-

rou se stanoví chemické požadavky na zdravotní nezávadnost jednotlivých druhů potravin a potravinových surovin.

ZAR, J. H., 1999: *Biostatistical analysis*. Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey, 663 p.

Adresa

doc. Ing. Alžběta Jarošová, Ph.D., Ústav technologie potravin, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika, e-mail: ualja@mendelu.cz

