

Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

FAKULTA VETERINÁRNÍ HYGIENY A EKOLOGIE

Ústav vegetabilních potravin a rostlinné produkce

Ústav hygieny a technologie mléka

Ústav hygieny a technologie masa

Institut celoživotního vzdělávání a informatiky

Státní veterinární správa ČR



XXXIX. LENFELDOVY A HÖKLOVY DNY

Konference o hygieně a technologii potravin
při příležitosti 120. výročí narození prof. Jana Lenfelda

Sborník přednášek a posterů

13. a 14. října 2009

Konference je pořádána za finanční podpory Statutárního města Brna

B | R | N | O

Microcystiny a ryby – jaké je riziko pro člověka jako konzumenta? *Microcystins and fish – which is the risk for man as consumer?*

Palíková M.¹, Kopp R.², Mareš J.², Navrátil S.¹, Bláha L.³

¹Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

²Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně

³RECETOX - Masarykova univerzita Brno

Abstract

Toxic cyanobacteria represent serious problem for water supply systems, recreation and agriculture also due to production of biologically active compounds including microcystins. Microcystins are highly toxic products of secondary metabolism of cyanobacteria. Microcystins can accumulate in various aquatic organisms including fish. Many authors have recently carried out studies concerning the accumulation of toxic cyanobacterial metabolites and microcystins, in particular, in fish tissues. There are substantial differences in toxin concentrations in these studies and some of them addressed the problem of health risks associated with consumption of microcystin-contaminated fish.

The aims of the present study were to analyse microcystin content in the tissues of fish from selected localities in the Czech Republic and to evaluate potential risk of fish consumption.

Studied localities included naturally exposed fish in water dams (Vír, Plumlov and Mostišťe) as well as fishpond Novoveský, a typical hypertrophic pond for intensive breeding of common carp. Next studied fish tissues were from fish (*Cyprinus carpio*, *Hypophthalmichthys molitrix*, *Oreochromis niloticus*) kept in the rearing pond and exposed to naturally developing cyanobacterial bloom for 28 days and then transferred into water without any cyanobacteria for 28 days. The toxin content was determined by high-performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry or by ELISA.

The highest concentrations of microcystins were detected in hepatopancreas (226 ng · g⁻¹ FW) in silver carp. The concentrations in the muscle of fish kept in the rearing pond were low order and concentrations of microcystins in the edible portion of fish tissues from water dams and pond Novoveský (muscles) were generally below the limit of detection (2 ng · g⁻¹ FW). When we compare the microcystin concentrations according to fish species, the highest concentrations were detected in the liver of canivorous fish, mainly in Percidae (Vír dam - *Perca fluviatilis* 22,7 ng · g⁻¹ FW).

In summary, it can be concluded that although the accumulation of microcystins in the fish tissues exists, concentrations of microcystins from monitored localities are low and they do not represent serious health risk to humans in our country.

Úvod

Microcystiny jsou vysoce toxické produkty sekundárního metabolismu cyanobacterií, jejichž mechanismus účinku spočívá v kovalentní vazbě na katalytickou podjednotku proteinfosfatáz 1 a 2A. Mohou se kumulovat v různých vodních organizmech včetně ryb. Z literatury je známo, že nejvyšší kumulace toxinů je ve střevním epitelu a játrech, nižší koncentrace v ledvinách a svalovině a rovněž byly nalezeny i v dalších tkáních ryb – gonádách, krvi, slezině, žlučníku aj. Různé literární zdroje uvádí rozličné koncentrace u jednotlivých druhů ryb včetně velmi vysokých hodnot ohrožujících při eventuelním konzumu lidské zdraví.

Tato studie se zabývá koncentrací microcystinů v játrech, případně svalovině různých druhů ryb získaných přímým odlovem z vodárenských nádrží Vír, Mostiště a Plumlov, dále z výlovu rybníka Novoveského a z experimentálně vystavených ryb v nádržích s přirozeně se rozvíjejícím vodním květem sinic; tyto ryby byly rovněž podrobeny vypravovacímu experimentu pro zjištění rychlosti depurace microcystinů z tkání.

Materiál a metodika

Microcystiny ve tkáních ryb byly stanovovány ELISA metodou nebo kapalinovou chromatografií s hmotnostní detekcí (HPLC-MS).

Metoda ELISA byla nově připravená a optimalizovaná v laboratořích RECETOX. Metoda využívá kompetitivní reakce microcystinů ze vzorku s enzymově značeným microcystinem (křenová peroxidáza). Koncentrace microcystinů je stanovena fotospektrometricky dle vývoje substrátu (TMB, absorbance při 420 nm, referenční délka 660 nm) (ZECK, A., et al., 2001). Kalibrační křivka byla pro každé měření 0,125 – 2 $\mu\text{g.l}^{-1}$.

Pro analýzu HPLC-MS byl využit Triple-Quad LC/MS Agilent. Odloučení microcystinů bylo provedeno na Supelco ABZ+ sloupci skokovou elucí mobilní fází voda-methanol, okyselenou octanem amonným. Identifikace byla provedena v MRM modu pomocí charakteristických transitních iontů pro microcystin.

Vzorky vody byly podrobeny hydrobiologickému rozboru a ve vodě a v biomase byla měřena koncentrace microcystinů.

Výsledky a diskuze

Výsledky koncentrací microcystinů jsou uvedeny v tabulce č. 1. Ve svalovině ryb z vodárenských nádrží a z Novoveského rybníka nebyly detekovány žádné koncentrace microcystinů.

Z výsledků je patrné, že nejvyšší koncentrace microcystinů byly detekovány v hepatopankreatu, ve svalovině jsou koncentrace minimálně řádově nižší nebo jsou pod limitem detekce. Ve svalovině byly určité koncentrace detekovány pouze v pokusných sádkách, nejvíce u tolstolobika bílého.

Koncentrace microcystinů v hepatopankreatu byly závislé na dominantních druzích cyanobakterií, na koncentracích toxinů ve vodě, ale i na typu vodní nádrže. V sádkách, kde rozptýlení vodního květu je relativně stabilní, byly koncentrace nejvyšší. Ve vodárenských nádržích záleží na místě odběru vody a biomasy sinic, neboť biomasa je sfoukaná v zátokách a ryby se v těchto místech nemusí zdržovat.

Porovnáme-li koncentrace microcystinů ze stejných lokalit v závislosti na druhu ryby, je patrné, že nejvyšší koncentrace se nacházejí v hepatopankreatu ryb dravých, zejména čeledi okounovitých (okoun říční, candát obecný). Ryby ze sledovaných vodárenských nádrží jsou zatíženy microcystiny velmi málo, nejvíce zatíženou vodárenskou nádrží je VN Vír, kde dominovala sinice *Microcystis aeruginosa* (podobně jako v sádkách).

V rámci vypravovacího experimentu bylo prokázáno, že microcystiny jsou ze svaloviny vyplaveny do dvou týdnů pobytu ryb ve vodě bez cyanobakterií a rovněž koncentrace v hepatopankreatu se výrazně snižují. Vypočítáme-li hazard index (tj. koncentrace microcystinů ve tkáni v ng/g vynásobená hmotností konzumované tkáně dělená tolerovatelným denním příjmem stanoveným WHO stanoveným na 40ng.kg^{-1} a den) pro maximální koncentraci ve svalovině (100 g svaloviny) u tolstolobika bílého a

pro 70 kg konzumenta, dostaneme HI rovný jedné, tj. minimální riziko. Pro kapra je tento index vždy pod jednu.

Celkově lze tedy shrnout, že riziko poškození lidského zdraví na základě konzumace rybiho masa v našich podmínkách je zanedbatelné a vezmeme-li v úvahu, že většina lidí konzumuje rybu pouze v období vánoc (několik týdnů sádkovanou) ve formě kapřího filetu, pak není toto riziko prakticky žádné.

Tabulka č. 1. Koncentrace microcystinů ve tkáních

lokality	Druh ryby	tkáň	Koncentrace microcystinů (ng.g ⁻¹ ž.hm.)	metoda
sádky	<i>Cyprinus carpio</i>	hepatopankreas	26,7 – 132,0	ELISA
		svalovina	3,3 – 19,0	
	<i>Hypophthalmichthys molitrix</i>	hepatopankreas	43,2 – 226,0	ELISA
		svalovina	1,4 – 29,0	
	<i>Oreochromis niloticus</i>	hepatopankreas	49,0 – 350,0	HPLC-MS
		svalovina	0 – 15,0	
Vír	<i>Perca fluviatilis</i>	hepatopankreas	5,5 – 50,3	HPLC-MS
	<i>Aspius aspius</i>		0	
	<i>Rutilus rutilus</i>		0	
	<i>Abramis brama</i>		0	
	<i>Esox lucius</i>		0	
Mostišťe	<i>Perca fluviatilis</i>	hepatopankreas	5,2 – 15,5	HPLC-MS
	<i>Aspius aspius</i>		11,7	
	<i>Sander lucioperca</i>		5,6	
	<i>Rutilus rutilus</i>		0	
	<i>Abramis brama</i>		0	
	<i>Carassius carassius</i>		0	
	<i>Esox lucius</i>		0	
	<i>Anguilla anguilla</i>		0	
Plumlov	<i>Sander lucioperca</i>	hepatopankreas	0 – 16,2	HPLC-MS
	<i>Esox lucius</i>		6,5	
	<i>Aspius aspius</i>		0	
	<i>Rutilus rutilus</i>		0	
	<i>Abramis brama</i>		0	
	<i>Scardinius erythrophthalmus</i>		0	
Novoveský	<i>Sander lucioperca</i>	hepatopankreas	9,0 – 22,7	HPLC-MS
	<i>Aspius aspius</i>		0 – 9,5	
	<i>Anguilla anguilla</i>		2,4	
	<i>Silurus glanis</i>		0	
	<i>Cyprinus carpio</i>		0 – 1,8	
	<i>Ctenopharyngodon idella</i>		0 – 6,1	

Poděkování

Předložená práce vznikla díky finanční podpoře Výzkumného záměru Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České republiky MSM 62 15712402 a díky podpoře projektu MZe Národní agentury pro zemědělský výzkum QH 71015.

Kontaktní adresa

MVDr. Miroslava Palíková, Ph.D.

Ústav veterinární ekologie a ochrany životního prostředí

Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

Palackého 1-3, 612 42 Brno, Česká republika

e-mail: palikovam@vfu.cz