

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra chovu hospodářských zvířat**



**Fakulta agrobiologie,  
potravinových a přírodních zdrojů**

**Monitoring výskytu bisfenolu A v komerčních chovech  
prasat**

**Diplomová práce**

**Bc. Ludmila Šilhová  
Chov hospodářských zvířat**

**doc. Ing. Michal Šprysl, CSc.**

**© 2024 ČZU v Praze**



## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou diplomovou práci " Monitoring výskytu bisfenolu A v komerčních chovech prasat" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce doc. Ing. Michal Šprysla a konzultanta Ing. Ivana Bahelky, PhD s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v seznamu literatury. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne



## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucímu a konzultantu DP, kteří mně byli nápomocni cennými radami a kteří jsou jmenováni výše, včetně dalších osob mně blízkých, od nichž jsem měla při psaní DP až neskutečně příjemnou podporu.

# Monitoring výskytu bisfenolu A v komerčních chovech prasat

## Abstrakt

Diplomová práce se zabývá problematikou průmyslově vyráběnou sloučeninou, bisfenolem A (BPA) a jeho výskytem v komerčních chovech prasat. Na téma BPA, či dalších endokrinních disruptorů, je zaměřeno mnoho studií, převážně týkajících se lidí. Pro své účinky na živé organismy je neustále snižován jeho denní tolerovaný příjem, který byl naposledy Evropským úřadem pro bezpečnost potravin (EFSA) snížen v roce 2023 ze 4  $\mu\text{g}/\text{kg}$  na 0,2  $\text{ng}/\text{kg}$ , což je 20 000x menší koncentrace.

Pro svou známou fyziologickou podobnost člověka s prasetem a neustálý růst lidské populace, kdy je a bude nutné uživit stále větší počet obyvatel, jsou studie BPA a i jiných bisfenolů hodnotné zvláště na prasatech. Též i proto, že roční spotřeba vepřového masa v EU, včetně ČR, se pohybuje přibližně nad 43 kg. Prokazatelné transgenerační účinky je nutné nejen dále monitorovat, studovat, ale též se jich co nejvíce účelně vyvarovat. Je-li BPA přítomen v těle prasat, dostává se tedy do potravního řetězce nejen zvířat, ale i člověka.

K ověření výše uvedeného tvrzení byly analyzovány průměrné denní vzorky moči 27 laktujících prasnic plemene Large White (ČBU). Obecně se využila jednoduchá metoda kvantitativního stanovení BPA v masu a tuku. Dále byl výskyt BPA analyzován pomocí plynové chromatografie s hmotnostním detektorem (GC/MS). Výsledné hodnoty byly zpracovány běžnými statistickými metodami.

V tomto ohledu užitá statistika potvrdila hypotézu této práce, a to, že se BPA vyskytuje, jako součást potravního řetězce prasat, což představuje riziko pro člověka. Hodnoty BPA získané z moče prasnic jsou srovnatelné s obsahy této látky v moči obyvatel Číny, Američanů, Korejců a Belgičanů. Pro svou vysokou detekční frekvenci je potvrzena jeho všudypřítomnost. Touto studií se otevírají další možnosti sledování výše expozice této látky. Je tedy dále zřejmé zaměřit se na velikost vzorku a zvýšit počet známých údajů o zvířatech, jejichž vzorky budou použity pro další zpracování. V tom bude rovněž zajímavé porovnání hodnot mezi samci a samicemi. Neméně významné pak se jeví určení denního množství BPA přijatého krmením. I to hraje svou roli ve výsledném množství této látky obsažené v moči hospodářských zvířat, respektive prasat.

# Monitoring of Bisphenol A in a Commercial Pig Farms

## Abstract

The diploma thesis deals with the problems of the industrially produced compound, bisphenol A (BPA) and its occurrence in commercial pig farms. Many studies, mostly involving humans, are focused on the topic of BPA or other endocrine disruptors. Due to its effects on living organisms, its permissible daily exposure limit is constantly being reduced, most recently by the European Food Safety Authority (EFSA) in 2023 from 4 µg/kg to 0.2 ng/kg, which is a 20,000 times smaller concentration.

Due to the well-known physiological similarity between humans and pigs and the constant growth of the human population, and the need to feed an ever-increasing number of people, studies of BPA and other bisphenols in pigs are especially valuable. Additionally, because the annual consumption of pork in the EU, including the Czech Republic, is over 43 kg, proven transgenerational effects must not only be further monitored and studied, but also avoided as much as possible. If BPA is present in the body of pigs, it enters the food chain, not only of animals, but also of humans.

To verify the above statement, average daily urine samples of twenty-seven lactating Large White breed (ČBU) sows were analyzed. The analysis was carried out using a simple method of quantitative determination of BPA in meat and fat. Furthermore, the occurrence of BPA was analyzed using gas chromatography with a mass detector (GC/MS). The resulting values were processed using common statistical methods.

In this regard, the statistics used confirmed the hypothesis of this work, namely that BPA occurs as part of the food chain of pigs, which poses a risk to humans. The BPA values obtained from the urine of sows are comparable to the contents of this substance in the urine of Chinese, American, Korean, and Belgian residents. Its ubiquity is confirmed due to its high detection frequency. This study opens other possibilities for monitoring the level of exposure to this substance. Therefore, the obvious method would be to focus on sample size and increase the number of known animal data whose samples will be used for further processing. It will also be interesting to compare the BPA values between males and females. Determining the daily amount of BPA received through feeding in pigs and other farm animals appears to be no less important as this also plays a role in the resulting amount of this substance found in their urine.

# Monitoring výskytu bisfenolu A v komerčních chovech prasat

## Souhrn

Diplomová práce se zabývá problematikou průmyslově vyráběnou sloučeninou, bisfenolem A (BPA) a jeho výskytem v komerčních chovech prasat. Tato látka, hojně používaná díky svým vlastnostem při výrobě plastů, významně zasahuje do planetárního životního prostředí. Jako součást plastových obalů, termopapíru, zubních výplní a dalších prostředků, se kterými obyvatelé Země přichází do styku, se postupně stala problémovým, až nebezpečným společníkem. Bylo provedeno mnoho studií na lidech, které prokázaly nebezpečnost látky. Přítomnost BPA v organismu narušuje hormonální činnost a je tedy právem řazen mezi endokrinní disruptory.

Pro prokázání přítomnosti BPA v potravním řetězci byly použity vzorky moče 27 prasnic 3. den *p.p.* Od každé byly odebrány dva vzorky (jeden ráno a jeden večer), které byly smíchány pro získání průměrného denního vzorku o objemu cca 150 ml. Analýza byla provedena pomocí plynové chromatografie s hmotnostním detektorem (GC/MS). U 23 vzorků byla zjištěna přítomnost BPA, u sedmnácti zvířat bylo známo také pořadí vrhu. Získané hodnoty odpovídají průměrným hodnotám koncentrace BPA v moči lidí. Vysoká detekční frekvence potvrdila, že BPA se nachází prakticky všude. Vzorky, pod hranicí zjistitelnosti, mohly být zatíženy možnou chybou, jako skladování, množství, či způsob odebrání vzorku. Ačkoli nebyla prokázána korelace mezi koncentrací BPA v moči a pořadím vrhu, hypotéza se potvrdila. BPA je tedy součástí potravinového řetězce prasat. Protože byla moč odebrána pouze prasnicím, nebylo možné srovnání se samčím pohlavím. Je proto důležité v podobných studiích pokračovat, ovšem podrobněji. Denní tolerovaný příjem BPA byl totiž v roce 2023 razantně snížen, mělo by se tedy snížit i množství vylučované močí nejen zvířat, ale i lidí. Množství BPA v organismu závisí na odolnosti jednotlivých tkání, orgánů a celkově na odolnosti daného jedince.

Otázkou je, jak dlouho je možné bez negativních projevů tolerovat negativní působnost bisfenolů spolu s dalšími endokrinními disruptory.

**Klíčová slova:** prase, chov, endokrinní disruptory, bisfenol A, životní prostředí, neplodnost



# Monitoring of Bisphenol A in a Commercial Pig Farms

## Summary

The thesis deals with the problems of the industrially produced compound, bisphenol A (BPA) and its occurrence in commercial pig farms. This substance, widely utilized for its properties in plastic production, has a significant impact on the global environment. Found in plastic packaging, thermal paper, dental fillings, and various products encountered by Earth's inhabitants, it has gradually become a problematic, even dangerous companion. Numerous studies on humans have proven the hazardous nature of this substance. The presence of BPA in the body disrupts hormonal activity and is therefore rightly classified as an endocrine disruptor.

To demonstrate the presence of BPA in the food chain, urine samples of twenty-seven sows were used on day 3 *p.p.* Two samples were taken from each (one in the morning and one in the evening), which were mixed to obtain an average daily sample of approximately 150 ml. Analysis was conducted using gas chromatography with a mass detector (GC/MS). BPA was detected in twenty-three samples, and the parity was additionally identified in seventeen animals. The obtained values correspond to the average values of BPA concentration in human urine. The high detection frequency confirmed that BPA is found everywhere. Samples, below the limit of detection, could be burdened by a possible error, such as storage, amount, or method of sampling. Although a correlation between urinary BPA concentration and litter order was not demonstrated, the hypothesis was confirmed. So, BPA is part of the pig food chain. As urine was collected only from sows, comparison with males was not possible. It is therefore important to continue similar studies, but in more detail. The daily tolerated intake of BPA was drastically reduced in 2023, so the amount excreted in the urine of not only animals, but also humans should also be reduced. The amount of BPA in the body depends on the resistance of individual tissues, organs and overall, on the resistance of the given individual.

The question is how long it is possible to tolerate the negative effects of bisphenols together with other endocrine disruptors without negative effects.

**Keywords:** pig, breeding, endocrine disruptors, bisphenol A, environment, infertility



# Obsah

<b>1. Úvod.....</b>	<b>1</b>
<b>2. Literární rešerše .....</b>	<b>3</b>
<b>2.1. Současné světové a evropské problémy produkce potravin .....</b>	<b>3</b>
<b>2.2. Problém polutantů v produkci potravin .....</b>	<b>5</b>
<b>2.3. Bisfenol A .....</b>	<b>6</b>
<b>2.4. Účinky a působení BPA .....</b>	<b>9</b>
<b>2.5. Bisfenol A a plodnost .....</b>	<b>10</b>
2.5.1. Plodnost samců .....	11
2.5.2. Plodnost samic .....	12
<b>2.6. Charakteristika zemědělství v ČR, chov prasat, problémy.....</b>	<b>13</b>
<b>3. Materiál a metodika.....</b>	<b>15</b>
<b>3.1. Cíl práce a hypotéza.....</b>	<b>15</b>
<b>3.2. Zvířata.....</b>	<b>15</b>
<b>3.3. Chemické analýzy.....</b>	<b>16</b>
<b>3.4. Matematicko-statistické metody .....</b>	<b>17</b>
3.4.1. Výsledné hodnoty koncentrací BPA v moči - výsledky .....	19
3.4.2. Ověření hypotézy .....	26
<b>4. Diskuse .....</b>	<b>27</b>
<b>5. Závěr.....</b>	<b>30</b>
<b>6. Literatura.....</b>	<b>32</b>
<b>7. Seznam použitých zkratk a symbolů .....</b>	<b>37</b>



## 1. Úvod

V současné době jsme denně ve zprávách všech médií informováni o negativních dopadech různých polutantů na životní prostředí (ŽP). Jedná se o látky všech skupenství, tedy plynného, tekutého či pevného. Jde většinou o chemické látky, mající mnohdy neznámé koncentrace a trvání působnosti, a tak i destruktivní vliv jak na neživé, tak živé organismy. Je známo, že tyto byly a jsou většinou přírodního původu, ovšem ty, původu antropogenního, jsou pro ŽP nejhrošší. Právě tyto nejvíce znečišťují všechny složky ŽP.

Celý problém započal v Evropě zánikem feudálního řádu a nástupem nových hospodářských a společenských poměrů. Tyto se ve zkratce tvořily ve stínu tužeb a výsledků jednotlivých revolucí, jejichž výsledky na jedné straně znamenaly ohromný společenský a hospodářský pokrok, na druhé pak násilné kolonizace se vším všudy. Jejich hlavním hnacím motorem byl a do dneška je mezinárodní obchod.

V tomto ohledu možno ve zkratce uvést 3 revoluce, které změnilы svět a jeho společnost. Jde o (1) *anglickou* průmyslovou revoluci s nastolením „století páry“, (2) *francouzskou* revoluci s hesly rovnost-volnost-bratrství a občanským zákoníkem, uvolňující lidskou mysl od všech dogmat, a (3) revoluci *americkou*, dávající vzniku mechanizace, automatizace výroby v průmyslu a velkofarem.

Popudem všech revolucí obecně, bylo zrušení roboty. Tím se uvolňuje pracovní síla, dříve vázaná k půdě feudála. Následek byl populační nárůst obyvatel měst, vznik střední třídy a tzv. třetího stavu. Dochází k ohromnému rozvoji řemesel, manufaktur, a to díky převratným vynálezům v mnohých oblastech jako například

- energetiky (přechod od tažné živé, větrné a vodní síly přes páru až do oblasti vodních turbín apod.),
- metalurgie (díky uhlí a koksů byl rozvoj zpracování litiny, železa, oceli),
- strojírenství (stroj parní, rotační a spalovací motory, elektrárny, počátky mechanizace průmyslu, dopravy, transformace výrobních nástrojů, jejich inovace apod.),
- potravinářství (konzervářství, ledničky),
- chemie (nová bělidla bavlny, výroba mýdel, skla, sody, kyselin, anilinová barviva, celulózy, plasty, umělá vlákna),
- fyziky, filozofie, lékařství a dalších oborů, včetně zemědělství.

V něm, následky morových ran v 18. století, a tím značnou redukcí městské a venkovské populace, došlo ke scelování pozemků, což se promítlo na jedné straně do zvýšení cen námezdné, volné pracovní síly, na druhé straně do nutnosti experimentovat ve směru zvýšení produktivnosti a efektivnosti farem (nové stroje, osevni postupy, zvířata). To byl rovněž zájem rodičoho se průmyslu a obchodu, později pak průmyslu potravinářského. Ve Spojených státech začala mechanizace zemědělství později než v Británii, vzhledem k nedostatku pracovních sil. Pokračoval však její vývoj rychleji a důsledněji, a to díky vynálezu žacího stroje a kombajnu. Nastává vznik center průmyslu balení, chlazení potravin, výroby potravinových konzerv, což následně umožnilo počátky přepravy masa z Austrálie a Argentiny do Evropy.

S rozvojem mrazírenského průmyslu spojeným s lodní dopravou následuje tak postupný mezinárodní výměnný obchod s libovolně vzdálenými producenty, což se týká i ostatních komodit, o které je na trhu zájem.

Současný enormní, *post bellum* populační nárůst, přímo navazuje na rostoucí používání obalových materiálů pro mezinárodní a mezikontinentální zboží všech oborů. Z nich se rychle stává následný nepotřebný odpad, vyvolávající otázky typů „kam a co s ním“.

V období 60. – 70. let minulého století byla světová populace na úrovni 4 miliard. Dle mnohých to byl, slovy sira Winstona Churchilla, počátek konce „harmonické“ interakce člověka s přírodou. Dnes se četnost populace změnila na 8 miliard, za 20 let se předpokládá dosažení možná i více než 14 miliard. Vzhledem k tomu, že za těch dalších 20 let má 70 % i více obyvatel žít v městských aglomeracích, z pohledu Malthusovy populační teorie a současném konvenčním zemědělství, užívající k výrobě potravin „klasické“ biotechnologie, to bude již znamenat strop. Bude to tedy, opět dle sira Winstona Churchilla, počátek konce udržitelností vůbec produkce Země a na ní bytí lidské i živočišné populace?

V případě odpovědi „ano“ lze bez jakéhokoliv zájmu o ŽP pokračovat v trendu a filozofii současné „civilizace odpadů“. Její nejdůležitější ambicí je hyperproduktivita ve všech oborech, včetně zemědělství a jejím výsledkem je mimo jiné vyhynutí poloviny, většinou živočišných druhů. Mýlili bychom se však, kdybychom z této situace vinili celou lidskou populaci. Vezmeme-li obecný a jediný princip života, tedy přežít, pak vyvstává následná otázka jak. Tento fenomén zdá se být a dnes je funkcí struktury populace.

V této souvislosti se udává, že 2% obyvatel jsou vlastníky všeho bohatství světa, 8% obyvatel má vysokoškolské vzdělání, 15% obyvatel bydlí v bytech první kategorie, 30% obyvatel neumí číst a psát a 50 % obyvatel trpí podvýživou. Takže lze konstatovat, že jen malá část populace světa (cca 1/3) svým „přepychem“ spočívající v intenzivním užívání fosilní energie způsobují výraznou uhlíkovou stopu, negativně, mnohdy „nevědomky“, kazí ŽP a žene tak Zemi do katastrofy.

V případě odpovědi „ne“ je nejvyšší čas revize oné hyperprodukce při absentování užívání „fosilní“ energie s možným důsledkem přerušení kontinuálního oteplování Země. Pro současné zemědělství to znamená mj. stop v pěstování monokultur s užíváním pesticidů (cca spotřeba 5 mil. t/rok), v živočišné výrobě pak mj. stop „non-welfarům“, resp. farem-továren na výroby levných mas (cca při stejné světové spotřebě antibiotik, jako pesticidů) za absence „lásky a úcty k životu zvířat“. Toto motto, aniž by si to mnozí uvědomili, nás, již v období neolitické revoluce, přeměnilo v lidské bytosti, jak uváděl, podle mého názoru největší humanista předminulého století a nejlepší interpret hudby J. S. Bacha, Albert Schweitzer. Nevědomí tohoto znamená počátek konce nadějí v budoucnost lidstva a znovuoobjevení pravého smyslu života, jako takového.

## 2. Literární rešerše

### 2.1. Současné světové a evropské problémy produkce potravin

Jak bylo výše uvedeno, zemědělství dneška, tedy v období globalizace, se obecně potýká s fenoménem hyperprodukce a jak tuto uplatnit na mezinárodních trzích. S tím samozřejmě souvisí množství problémů, překážek, a podobně, spočívajících na dlouhodobých mezinárodních zájmech a smlouvách, které bývají korigovány, v současnosti dokonce nabourávány, ať již v souvislosti s přírodními katastrofami, či těmi, za nimiž se skrývá bezuzdná touha daných velmocí dobýt celý svět.

Příklady nedávných i dnešních problémů, výrazně měnící svět, jsou válka na Ukrajině, covid a fenomén afrického moru prasat (AMP). Důsledky jsou zdražení energií, pohonných hmot a tím mimo jiné cen krmiv a další důsledky. Situace startuje již dávno požadovaný radikální odklon od fosilních paliv (minimalizace uhlíkové stopy) a náhradu jejich možnými alternativami „čisté energie“. Jde o současnou i budoucí cestu obnovy hospodaření, speciálně v zemích EU, dle tiskových zpráv Rady EU z července 2023. Jde o nejen zemědělskou prvovýrobu, ale celou její vertikálu a v ní řešení nelehkých úkolů a rozhodování, mající další společenské dopady, kterými je a bude nutné se zabývat a v blízké budoucnosti tyto řešit.

Jak je dnes zřejmé, neustále narůstající světová populace a její nasycení, je stále problematičtější úkolem zemědělské prvovýroby a potravinářského průmyslu. V tomto ohledu se jedná o různé (1) alternativy zlepšení, či (2) náhradní, nové potravinové zdroje, jako např.

(1) *biotechnologie v chovu hospodářských zvířat*, které Lamb (1994) definuje jako programové postupy využívající genetických znalostí a mající za cíl zvýšení jejich užitkovosti. Tyto postupy zahrnují separaci spermií, embryotransfer, klonování, identifikaci QTL, transgenezi a další. Lamb dále uvádí, že pro úspěšnou aplikaci biotechnologií v chovu hospodářských zvířat je nutné porozumět teorii způsobů funkčnosti tradičních genetických programů. To zahrnuje vymezení cílů šlechtění, včetně nalezení nejlepších plemen/linií a optimálního systému křížení, a určení intenzity selekce (Lamb, 1994),

(1) *biotechnologie u krmiv* zlepšením jak jejich výnosů (zvýšení objemu/jednotku plochy), tak kvality, cestami transferu žádoucích genů (transgenní technologie umožňují změny složení klasu, který se tvoří rychleji, s potencionálně větší velikostí než dříve) a novými analytickými prostředky (přesné analýzy složení zrn s ohledem na šlechtěné znaky a jejich komerční hodnotu). Oblasti výzkumu tak mj. zahrnují energetickou dostupnost, kvalitu bílkovin, složení AMK, využitelnost P a dalších složek krmiv pro monogastry a rozvoj transgenních technologií k tvorbě GMO-zrnin (Brascamp, 1994),

(1) ve vyspělých zemích světa (EU, USA, Kanada, Thaj-wan, J. Korea, Austrálie, N. Zéland) omezit *kvantitativní stránku jatečné hodnoty na úkor kvality* pochopením principu stress-syndrom PSS – PSE a dále interakcí mezi dalšími znaky, jako vaznost x křehkost/šťavnatost, selekce na výšku tuku x obsah IMT, tuhost masa x typ vláken, proteolýza x přírůstek masa, zrání masa x konečná kuchyňská úprava apod. (Bramel, 1996),

(1) další studie metabolismu bílkovin/tuků svalů/tukové tkáně a.m./p.m. na molekulární, buněčné a celkové úrovni s pochopením hloubky mechanismů (např. lokální produkce růstových faktorů, jako IGF-I, stabilita m-plakainu p.m, aj.), vedoucích k optimalizaci kvality masa a jeho zrání (Anderson, 1996),

(1) změnou vnímavosti veřejnosti k masu, kdy se radikálně mění její chápání a postoje k produktu, motivace, zvyky, nároky, které jsou funkcemi stále vyššího podílu pracujících žen, a tím změnami rodinného života, názorů na vaření a postojů ke stravování, včetně vlivu dětí a dále aspektů nákupu jídla, nabídky trhu ap., na což působí postoj k trhu (zvíře, maso červené/bílé, představy a výrobky z něj, kvalita, prezentace, bezpečnost, nové výrobky, značkové maso, reklama, propagace, odborné podpory, a podobně, jak uvádí Flowers (1996),

(2) vegetariánství, které je samo sebou životním stylem, který se mimo jiné zabývá etickou otázkou chovu zvířat a jejich welfarem. Zvířata chovaná ve velkochovech jsou často z pohledu vegetariánů brána jako přešlechtěná monstra plná antibiotik náchylná k nemocem (Foer, 2015). Průkopníkem vegetariánství byl, již výše uvedený Albert Schweitzer (lékař, teolog, držitel Nobelovy ceny za mír), který svou myšlenkou „úcty k životu“ vysvětluje, že tato je základní princip morálky, a že dobro spočívá v udržování, pomoci a zlepšování života. A ničit, ubližovat nebo bránit životu je zlo (Oermann, 2013),

(2) hmyz je vhodnou alternativou masa z hlediska obsahu bílkovin, tuku a minerálních látek, prostý antibiotik. Jedlý hmyz, dle Asociace soukromého zemědělství ČR, nabízí srovnatelnou alternativu běžných živočišných bílkovin, navíc má menší ekologický dopad ve srovnání s konvenční živočišnou výrobou (Doskočil, 2021). Na 1 kg bílkovin hmyz spotřebuje a vyprodukuje 20x méně krmiva, 90x méně CO<sub>2</sub>, 2000x méně vody a potřebuje 17x méně místa oproti hospodářským zvířatům. Celosvětově dnes konzumuje hmyz na 2,5 miliardy lidí (Doskočil, 2021).

V souvislosti se stále intenzivnější prezentací, reklam a propagací masa, ve vyspělých zemích světa, zvláště vepřového, dochází v potravinářství i k rozvoji obalového sektoru.

V našem případě prezentace výrobků je pro obchod a následně zákazníka velice důležitý faktor, mírnící konkurenci jiných mas, jako masa hovězího, jehněčího, drůbežího a ostatních. Obalová technika, tedy balení výrobků z vepřového masa (VM) je důležitým nástrojem pro prodej těchto výrobků. Obsahuje informace o způsobu přípravy, nutričních hodnotách a ceně, které pomáhají zákazníkům se rozhodnout, který výrobek si zakoupí. Obaly jsou také důležitým prostředkem pro přesvědčování zákazníků o tom, že VM je kvalitní a chutné.

Reklama je náplň práce reklamních agentur, které přesvědčují zákazníky, že právě VM je nejlepší, výživné, chutné, odpovídající dnešnímu způsobu života. Využívají televize, časopisů, nedělních příloh a výsledků průzkumů (pestrost, jednoduchá příprava, cena, chuť, použití příloh, jaké dressingy, ingredience, hovězí chutná dobře, je však drahé, drůbeží je levné, však nudné, bez chuti, ryby jsou zdravé, ale nepohodlné, skopové se jednoduše připravuje, je však tučné). Reklama je rovněž značně nákladná, to však později platí zákazník.



*Propagace VM* se týká široké škály výrobků, díky jeho zastoupení na trhu. Je nutné ji dále rozšiřovat na další, speciální, a zvláště místní produkty-speciality. Propagace je funkcí reklamy (oslovuje obchodníky k propagaci daných výrobků) a speciálních programů pro styk s veřejností (zajišťují co největší publicitu výrobku).

*Bezpečnost* je v krátkosti dána standardy chovu a výroby (biosekurita). Jsou naprosto správné, zaručující bezpečnost potravin. Jde o legislativní opatření na poli welfare, pasportizace, ISO/HACCP norem s ohledem na ŽP. Bez splnění požadovaných legislativ/standardů není umožněno výrobcí vstoupit na trh a konkurovat ostatním (Lamb, 1994).

## **2.2. Problém polutantů v produkci potravin**

Výroba a distribuce produktů potravinářského průmyslu, nevyjímaje masné výrobky, se v dnešním období pojí s materiálem obalů, které užívají ve velkém různých nových a nových syntetických látek. Tyto, většinou z jakýchkoliv chemických látek, se stávají polutanty, jako nedílná součást ŽP. Polutanty jsou látky, které se do ŽP dostávají, často neúmyslně, mohou poškodit nebo narušit ekosystémy, lidské zdraví a celkovou rovnováhu přírody. Tyto látky mohou pocházet z různých zdrojů a mohou zahrnovat chemikálie, mikroorganismy, toxiny a fyzikální kontaminanty. Mnohé z nich, ty škodlivější, připravil sám člověk. Uvolňují se do ŽP v důsledku výroby, zpracování, distribuce a spotřeby potravin průmyslovým obchodem a jeho následnou další distribucí. Mohou a také kontaminují vzduch, vodu, půdu, a dokonce i samotné potravinářské produkty, což vede k negativním dopadům jak na ŽP, tak na lidské zdraví (Pokoj, 2010; Jagne et al., 2016; Nevečeřalová, 2022; Durilová et al., 2023).

Většina polutantů přímo či nepřímo ovlivňuje endokrinní systém, kde způsobuje disfunkci cílových orgánů a tkání, čímž ovlivňují zdraví lidské populace a volně žijících zvířat. Jedná se speciálně o endokrinní disruptory (ED), vyskytující se prakticky všude a není dnes před nimi úniku (Kolátorová et al., 2018). Jsou součástí potravin a krmiv. Při pestré a vyvážené stravě nečiní významné potíže, problém však nastává při opaku, tedy jednostranné a nevyvážené výživě. V tomto případě ED, s mnoha dalšími, mohou způsobovat neodhadnutelné interakce, týkající se interakce nervová soustava x tělesné funkce (růst, imunita, metabolismus, reprodukce aj., jak konstatují Jagne et al. (2016); Qiu et al. (2016); Scsukova et al. (2016); Ding et al. (2017).

Chemicky se jedná o široké spektrum více jak tisíce produktů přírodního, a hlavně umělého původu, zejména komodit farmacie (krémy, antikoncepce, léky proti bolesti a zánětu), umělých hmot, nátěrů, postřiků a podobně. Látky vstupují do organismu savců různými cestami (potrava, voda, vdech, pokožka), přičemž jejich působnost a projev spočívá v nejistotě odhadu množství, koncentraci, době působnosti, výsledného efektu. Při malé koncentraci ED je totiž efekt veliký, při vysoké malý až žádný, projevuje se u vícegenerační působnosti, kdy současný defekt je výsledkem působnosti ED na předka (Dolinoy et al., 2007; Huo et al., 2015; Jagne et al., 2016; Ponsonby et al., 2016; Pawlicki et al., 2019).

V této době se v rámci ŽV a potravinářství jedná o pesticidy, například dichlordifenyiltrichlorethan a methoxychlor, polychlorované bifenyly (Craig et al., 2011), ftaláty (Vrbík et al., 2016), alkylfenoly (Magnusson et al., 2015), fytoestrogeny, včetně genisteinu (Magnusson et al., 2015), insekticidy typu pyretroidů (Craig et al., 2011), ethyniestradiol (Magnusson et al., 2015), trenbolon acetát (AAS), obezogeny, jako atrazin a jiné ED, (Jagne et al., 2016; Pivonello et al., 2020), včetně bisfenolů, jichž je dnes téměř jako písmen v abecedě (Craig et al., 2011). Ty jsou, od 40. let 20. století významnou průmyslovou surovinou, která se vyrábí a používá v množství milionů tun ročně. A jedním z nich je bisfenol A (BPA).

### 2.3. Bisfenol A

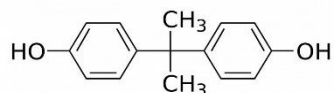
Lze konstatovat, že současnost je dobou plastovou. Skokem k hudbě, s obdivem je nutné „uctít“ jakousi nadčasovost myslí několika břevnovských „průšvihářů“, kteří své skupině dali název Plastic People of the Universe. Jakoby, v tichu stínu baziliky Sváté Markéty, již dopředu tušili ten dnešní fenomén současnosti a futura. Ač se v době „socialistické chudoby“ vědělo, že obecně všeho moc škodí, mnozí netušili, že značné množství plastových výrobků na úkor skla (vratné láhve) spolu s nevzhlednými papírovými jako-obaly, budou tak škodit zdraví a ŽP.

Počátek plastů, tedy i BPA, spadá do poloviny roku 1800, kdy chemici po celém světě začali experimentovat s kaučukem se snahou odstranit přírodní ingredience tak, aby byl plně syntetický a mohl být sériově vyráběn po celém světě. Následně se zrodily první plastové sloučeniny, které se po desetiletích zdokonalovaly a vstoupily do sériové výroby počátkem 20. století. Za posledních 150 let se tak plastovým výrobkům podařilo způsobit revoluci ve vědě, letectví, dopravě, medicíně, automobilovém a potravinářském průmyslu. Plasty čerpají z ubývajících fosilních paliv, vylučují škodlivé chemikálie, znečišťují krajinu a ničí mořský život. A přesto každý rok je používáme a spotřebováváme více. V uplynulém desetiletí jsme vyrobili tolik plastů jako za celé dvacáté století. (Freinkel, 2011).

Dopad této „revoluce“ je ve skutečnosti takový, že dnes plast tvoří více jak 80 % mořského odpadu. Plastové úlomky (obalů, sáčků, jednorázových kelímků, víček, brčka, příborů), velikosti pod 5 mm, jsou transportovány mořskými proudy, a to i na velmi dlouhé vzdálenosti, kde jsou požitý mořskými živočichy, čímž vstupují do potravního řetězce. Pro lehkost, levnost a praktičnost je únik plastů stále na vzestupu, což pro ŽP představuje časovanou bombu (Barrett et al., 2020).

Nedávné studie (Liverpool, 2020; Lavender et al., 2022; Chen et al., 2022) zjistily přítomnost mikroplastů ve vzduchu, pitné vodě a potravinách (sůl, med) s dosud neznámým dopadem na lidské zdraví. Otázka tedy je, jak výzkum a inovace přispějí dnes a v budoucnu k prevenci plastového odpadu a mikroplastů, neboť používané strategie jsou nedostačující a k akumulaci mikroplastů v ŽP stále dochází. Proto je věnována také zvláštní pozornost

inovacím plně biologicky rozložitelných, v mořské a sladké vodě, neškodných materiálů pro ŽP a ekosystémy. Pro zajímavost, v roce 2014 bylo 3,17 milionů tun plastových odpadů recyklováno, což je asi 3,2 milionů tun CO<sub>2</sub>. To odpovídá emisím plynu 670 000 automobilů na silnicích za rok (Chen et al., 2022).



Bisfenol A (BPA),

chemicky 4,4'- isopropyliden-2-

difenol, obsahuje dvě fenolové funkční skupiny, které vznikají kondenzací dvou molekul fenolu a jedné molekuly acetonu (Ma et al., 2018). Jeho výrobní proces zahrnuje kombinaci a kondenzaci jednoho dílu acetonu se dvěma díly aceton-fenolu za přítomnosti katalyzátoru a promotoru při vysokých teplotách a nízkého pH.

BPA je krystalická chemická látka, béžové barvy, bez zápachu. Při pokojové teplotě je stabilní. Tato chemická látka se používá, hlavně v kombinaci s jinými chemikáliemi, k výrobě plastů a pryskyřic, kompaktních disků, zubních tmelů, zdravotnických prostředků a jako laky k potahování kovových výrobků, jako plastové plechovky, nádoby na vodu a víčka lahví (Bahelka et al, 2021; Castellini et al, 2021).

K první syntéze BPA došlo v roce 1981. Polykarbonátové plasty, vyrobené z BPA, mají žádoucí chemické a fyzikální vlastnosti, včetně dobré pevnosti, tvrdosti, tepelné stability a odolnosti vůči kyselinám a olejům. Uvedené materiály se široce používají k výrobě nádob na potraviny a nápoje apod.

Tím se BPA, spolu s dalšími bisfenoly stává nedílnou součástí našeho života, a to od stavebnictví, elektroniky, lékařství, po potravinářský průmysl. Obalový plastový materiál používaný v supermarketech (kojenecké láhve, vnitřní povrch stěn konzerv či plechovek, termopapír úctenek, plastové hračky, nádoby aj.) obsahuje BPA. Díky celoplošnému výskytu této látky jsme denně v jisté míře vystaveni určitému množství této látky, která se do našeho těla a těl zvířat dostává nejen požitím, ale i přes kůži, či dýcháním. V tomto ohledu byla rovněž prokázána její estrogenní aktivita, jako největší negativum této látky. Na každý druh ovšem působí specificky a trochu jinak (Kolátorová et al., 2018; Žalmanová et al., 2023).

V době, kdy je nesmírně důležitá produktivita zvířat a jejich plodnost, je nemyslitelné vědomě je vystavovat rizikům, která by mohla mít i sebemenší vliv na další generace. BPA beze sporu takový vliv má, zvláště, jedná-li se o multiparní zvířata, prasata nevyjímaje. Vše začíná a končí u kategorie prasnic, na nichž v tomto ohledu leží produktivita a efektivnost chovu.

Protože je i dnes BPA jednou z nejběžnějších masově vyráběných a používaných chemických sloučenin jeho přítomnost, prostřednictvím jak trávicího a dýchacího traktu, tak absorpcí přes kůži se prokázala ve vzorcích moči nejen lidí, ale také savců, plazů, ptáků a některých druhů ryb. Existenci jeho hydratovaných derivátů v lidském tuku prokázali Destoids-Lethmonier et al., (2017). Rovněž škodlivé účinky na neurologický a reprodukční vývoj lidí i volně žijících zvířat potvrdily práce Daolin et al., (2018); Jagne et al., (2016); Ma et al., (2019);

Wu et al., (2018). Uvedené studie sledovaly vliv BPA na vaječníky, oocyty, varlata, spermatogenezi, souvisejícími s poruchami embryonálního vývoje. V současnosti se zaměřuje stále více studií na vliv BPA na tukovou tkáň a její endokrinní produkty (adiponektin, leptin), neboť nadbytek i nedostatek těchto látek by mohl způsobovat změnu aktivity osy hypofýza-adenohypofýza-gonády. Pro objasnění mechanismu účinku BPA v tukové tkáni je však třeba dalších výzkumů, je však zřejmé, že BPA účinkuje i zde, jak prokázali Drobna et al., (2019); Bahelka et al., (2021).

V této souvislosti se v posledních letech objevuje stále více zpráv o jím způsobených epigenetických změnách (Dolinoy et al., 2007; Kermoyan et al., 2013; Peretz et al., 2014; Bahelka et al., 2021). Tyto modifikace se projevují především ve třech typech, a to metylaci DNA, modifikaci histonů a regulaci nekódující RNA. Změny metylace DNA, vyvolané expozicí BPA ve specifických genech, mohou být základem dlouhodobých účinků na funkci mozku, chování a vývoj nervové soustavy. Změny metylace DNA v zárodečných buňkách mohou usnadnit generační přenos. Expozice BPA by mohla rovněž ovlivnit modifikaci histonů u lidí, potkanů i prasat, doprovázením zhoršené migrace primordiálních buněk (Ponsonby et al., 2016). Transgenerační účinky byly pozorovány rovněž u několika druhů ryb, kde se následující generace staly mnohem citlivějšími na expozici BPA, jak po jeho nepřetržité, tak i po jeho krátkodobé expozici rodičovské generace (Kermoyan et al., 2013; Žalmanová et al., 2023).

Estrogenní vlastnosti BPA byly poprvé uznány v roce 1937. Estrogen je steroidní hormon, který je primárně označován za samičí hormon, ale v malé míře se vyskytuje i v těle samců. Vzniká z androgenů působením specifických enzymů. Buněčnou membránou prochází estrogen snadno a váže se na estrogenové receptory. Je důležitý pro vývoj sekundárních pohlavních znaků žen a také ovlivňuje menstruační cyklus. U mužů estrogen reguluje například vývoj spermií. Existují i další funkce estrogenů u mužů, např. imunitní funkce, příjem a využití glukózy (Peretz et al., 2014; Pawlicki et al., 2019).

Krátce se látka, jako růstový stimulátor, používala i v chovu hospodářských zvířat, u lidí, jako náhrada estrogenu u žen. Intenzivní výzkum BPA potvrdil jeho negativní působení na reprodukční zdraví žen i mužů. Prokázala se u nich negativní korelace mezi hladinami BPA v moči a kvalitou spermatu (Quan et al., 2017). Zkoumaná látka se vyskytovala ve folikulární tekutině žen trpících problémy neplodnosti a také v pupeční šňůře dětí spolu s dalšími ED (Dolinoy et al., 2007; Jagne et al., 2016; Daolin et al., 2018).

Četné studie dále prokázaly, že BPA narušuje meiózu a negativně tak ovlivňuje dělení oocytů. Vše se děje díky účinku na endokrinní signalizaci, což u myši (možná i prasat?) vede mimo jiné ke snížení velikosti vrhu, počtu implantačních míst a zvýšení rizika potratu, jak prokázala studie Jagne et al., (2016).

Vliv BPA na zdraví, vzhledem k velké podobnosti člověk-prase, je a bude prakticky u těchto populací stejný. Protože se nároky na produkci VM masa, díky rostoucímu populačnímu

nárůstu a poptávce, neustále celosvětově zvyšují, jsou tyto studie stále významnější. Zvláště pak, prokázala-li se možnost generačního šíření účinku BPA na oocyty a spermie, tedy na reprodukční potenciál, jak bylo uvedeno výše.

V tomto ohledu Evropský úřad pro bezpečnost potravin (EFSA) a Úřad pro kontrolu potravin a léčiv (FDA) dospěl až k zákazu používání této estrogeně aktivní chemické látky, a to především v oblastech výroby dětských lahví, obalů potravin a nádob na potraviny. Výsledkem je, označení „BPA free“ což znamená, že

- BPA v materiálech přicházejících do styku s potravinami, je v množství do 0.05 mg/kg,
- BPA v celé EU pro kojenecké a plastové lahve a obaly, obsahujících potraviny pro kojence a děti do 3 let je zakázán,
- existuje limit BPA, 0,04 mg/l, které se smí vyluhovat z hraček pro děti do 3 let a ze všech hraček, které jsou určeny k vkládání do úst dítěte (Lambré et al., 2023).

V reakci na rizika a zdravotní efekty BPA, prokázané americkým Národním toxikologickým programem, snížila EFSA jeho tolerovatelný denní příjem (TDI) z 50 na 4 µg/kg BW/den (Castellini, 2016; Kolátorová et al., 2018; Ma et al. 2019). Výsledkem je omezení jeho použití i k výrobě termopapíru. Podobné úpravy se v EU dnes týkají tisíce chemikálií senzibilizujících kůži v oděvech, obuvi a dalších předmětech, což se týká i bisfenolů, BPA nevyjímaje.

V prosinci 2022 vědci úřadu EFSA stanovili TDI ve výši 0,2 ng/kg BW/den, čímž nahradili výše uvedenou úroveň, tedy 20 000x nižší. Toto je nové doporučení úřadu EFSA týkající se BPA, které bude sloužit jako podklad pro diskusi zákonodárců EU o vhodných regulačních opatřeních (Lambré et al., 2023).

## 2.4. Působení BPA

Molekuly BPA jsou spojeny pomocí „esterových vazeb“, které podléhají hydrolyze při vysokých teplotách a nízkém pH (dlouhodobé skladování kyselých či zásaditých potravin v nádobách), což způsobuje jeho vyplavování. Díky podobnému účinku s estrogenem, dokáže BPA narušovat systém chemických posílů v těle. Nepříznivé účinky BPA zahrnují změny chování, inzulínovou rezistenci, obezitu, předčasnou pubertu, snížený počet spermií, rakovinu prsu, prostaty,

zhoršenou funkci imunitního systému, poškození mozku, potraty a polycystické onemocnění vaječníků a oxidační stres (způsobený tvorbou reaktivní formy kyslíku – ROS), jak prokázali Chouhan et al., (2014); Ding et al., (2017). Díky dobré lipofilní vlastnosti se BPA může hromadit v tuku mléčných žláz, během kojení se pak dostává do trávicího traktu dětí.

Expozice kojenců BPA tak souvisí s koncentrací BPA v mateřském mléce. Průměrné množství BPA bylo v tomto ohledu odhadnuto na 0.3µg/kg BW/den, a to u výlučně kojených dětí (0-6 měsíců). Po zavedení pevné stravy jeho množství klesá.

Kojenecký věk je klíčovým obdobím duševního a fyzického vývoje, je to období velice citlivé na nebezpečné chemické látky, tedy i na BPA. (Tomze-Marciniak et al., 2017; Ma et al., 2018). S touto substancí se tedy setkáváme již během fetálního období. Bylo dokázáno, že časná vývojová expozice BPA může změnit fenotyp potomstva, a to stabilní změnou epigenomu. Touto změnou je například metylace DNA, která ovlivňuje náchylnost k onemocnění. To však lze ovlivnit donorem metylu (kyselina listová, fytoestrogen genistein) v doplňku stravy.

Studie na hlodavcích spojovaly prenatální, či perinatální expozici BPA s vyšší tělesnou hmotností, zvýšeným výskytem rakoviny prsu, prostaty, změněnou reprodukční funkcí a dalšími chronickými zdravotními účinky. BPA se do placenty dostává a hromadí v plodech po orální expozici matky hlodavců (Dolinoy et al., 2007). Nízké úrovně expozice BPA vedou k nepatrnému, však významnému zvýšení abnormalit během meiotické profáze, konkrétně zvýšené četnosti buněk s neúplnými synapsami, díky změněným hladinám rekombinace a neobvyklým spojením mezi konci buněk nehomologních chromozomů. Bylo také zjištěno, že expozice BPA je spojena se sexuálním chováním, sociální interakcí a mateřským chováním.

Expozice vysokým koncentracím BPA vede k apoptóze Leydigových a zárodečných buněk varlat u myší (Chouhan et al., 2014). Efekt BPA na slinivku břišní může podporovat rozvoj metabolických onemocnění. Adipocyty pod vlivem BPA vykazovaly inzulínovou rezistenci a nižší míru absorpce glukózy, což naznačuje, že BPA přispívá ke vzniku diabetu a obezity (Kolátorová et al., 2018). Kromě toho by BPA mohl aktivovat dráhy zprostředkované inzulínovými receptory v mozkové tkáni (myší), což může zvyšovat riziko neurodegenerativních onemocnění.

Endokrinní poruchy, způsobené BPA, mohou vyvolat pohlavně specifické duševní poruchy a změny chování. Mnoho studií prokázalo, že BPA narušuje i zpětnovazební řídicí systémy, včetně os hypotalamus-hypofýza-gonády, hypotalamus-hypofýza-nadledviny a hypotalamus-hypofýza-štítná žláza (Kolátorová et al., 2018; Ma et al., 2019; Žalmanová et al., 2023).

Pro zjištění množství, resp. koncentrace BPA ve vzorcích moče lze použít různé metody. Lze použít hmotnostní spektrometrii (MS), vysokoúčinnou kapalinovou chromatografii (HPLC), HPLC-tandemovou hmotnostní spektrometrii (LC-MS/MS), plynovou chromatografii (GC), hmotnostní spektrometrii (GC-MS), enzymatickou imunoanalýzu (ELISA) a radioimunoanalýzu (RIA). Z uvedených metod mají LC-MS/MS a GC-MS lepší citlivost než ostatní, jsou nejoblíbenějšími analytickými metodami detekce BPA (Ma et al., 2019).

## **2.5. Bisfenol A a plodnost**

Lidská populace se rychle zvyšuje, a to i přes problémy s reprodukcí. Je to díky vědě a zdravotnické péči. Vzhledem k tomuto růstu se zvyšují nároky na ŽP, zdroje potravy a

potravinovou bezpečnost, čímž se překračují mnohé planetární limity, jak dokládají a uvádějí Steffen et al., (2015); Bahelka et al., (2021).

Neplodnost je problémem veřejného zdraví a zužuje stále více mužů a žen. Životní styl, ŽP, toxické látky, odpady, a podobně, všechny tyto okolnosti větší či menší mírou ovlivňují plodnost (Kaur et al., 2017). V době, kdy je snaha o co největší produkci masa s vysokou růstovou intenzitou hospodářských zvířat, s co nejvyššími počty narozených mláďat na vrh, se také hledají alternativní zdroje potravy pro neustálý nárůst počtu obyvatel. Jak je uvedeno výše, vliv BPA na tyto a s tím související ukazatele není zanedbatelný. Je potřeba detailně porozumět mechanismům jeho působení na člověka, zvířata a ŽP, ve kterém existuje, podobně jako koloběh vody, napříč všemi generacemi a kde může tato látka škodit různými způsoby.

### **2.5.1. Plodnost samců**

Nezbytnou součástí správného průběhu spermatogeneze je apoptóza během raného vývoje. Během první vlny spermatogeneze dochází k masivní vlně apoptózy, aby byl udržen optimální poměr Sertoliho buněk k buňkám zárodečným. Apoptóza také eliminuje abnormální zárodečné buňky pro zaručení kvality spermatu (Quan et al., 2017).

Způsob působení BPA na samčí reprodukční systém závisí na období životního cyklu jedince. Během fetálního období, díky vlivu BPA, dochází k inhibici vývoje varlat v důsledku snížení hladiny testosteronu v séru a varlatech. Následek je špatná spermatogeneze, snížení počtu a kvality spermií. Při vystavení působení BPA v pubertě dochází ke zvýšení apoptózy a snížení spermatogeneze vlivem zvýšené produkce LH-hormonu a IGF-I v plazmě. U dospělého jedince se snižuje hmotnost gonád, hladina testosteronu, FSH, LH, spermatocytů a počet i pohyblivost spermií. Ovšem dochází také ke zvýšení oxidačního stresu a fragmentaci DNA ve spermiích (Shoeb et al., 2020; Bahelka et al., 2021). Též se prokázala up regulace apoptózy.

Svou úlohu ve spermatogenezi hraje autofagie, což je programovaná buněčná smrt typu 2. Jde o evolučně zakonzervovaný proces, který se podílí na degradaci špatně složených a přebytečných proteinů, nebo nefunkčních organel. Dojde-li k oxidačnímu stresu, autofagie může eliminovat tyto oxidované proteiny a poškozené mitochondrie. Autofagie souvisí s biogenezí akrozomu během spermatogeneze. Bylo zjištěno, že expozice BPA způsobuje oxidační stres nejen v těle, ale i ve varlatech. Tím vyvolává endokrinní poruchy v období dospívání (potkani, prasata?), zhoršuje kvalitu spermatu, indukuje morfologické změny varlat, jako atrofii testikulárních semenných tubulů, úbytek spermatogenních buněk, úbytek zralých spermií. Se zvyšující se dávkou BPA se zvyšuje apoptóza v testikulární tkáni. Expozicí BPA byla aktivována mitochondriální apoptóza, při vysokých dávkách BPA se projevila i abnormální autofagie varlat (Quan et al., 2017).

Studie provedené na kolonii Sertoliho buněk u potkanů prokázaly, že BPA má schopnost snižovat jejich vitalitu a vyvolávat apoptózu. Předpokladem je, že se tak děje díky nadměrné tvorbě ROS (reaktivních forem kyslíku) a mitochondriální dysfunkci (Tomza-Marciniak et al.,

2017). Bylo také prokázáno, že vliv BPA na samčí reprodukční systém závisí na období samčího životního cyklu, kdy je působení BPA vystaven. Perinatální expozice vede k vícegeneračnímu poškození samčí plodnosti. V pubertě dochází působením BPA ke snížení koncentrace testosteronu a počtu spermií. V dospělosti pak dochází ke snížení hmotnosti gonád, snížení počtu a pohyblivosti spermií (Bahelka et al., 2021).

### 2.5.2. Plodnost samic

Vliv BPA na reprodukci samic je sledován z různých pohledů. Studie se zaměřují na vaječníky, oocyty, resp. na jejich kvalitu, zpoždění buněčného cyklu a na různé defekty vřeténka. Účinek BPA se projevuje snížením citlivosti dělohy na implantaci embrya díky lézím ve vejcovodech, celkové hyperplazii, polypům v děloze, aneuploidii v oocytech. Vystavení se účinkům BPA v období březosti způsobuje předčasný nástup puberty (Tomza-Marciniak et al., 2017; Bahelka et al., 2021). Rovněž se prokázalo, že zvýšené množství BPA v moči je spojeno s rizikem preeklampsie, tedy fenomén komplikující těhotenství. Provází jej špatný vývoj placenty, dochází k jejímu nedostatečnému prokrvení a tím i okysličení plodu. Na toto nedostatečné zásobení reaguje plod vytvářením látek, které zvyšují krevní tlak matky, jak konstatují Peretz et al. (2014) a Daolin, et al. (2018).

Daolin, et al., (2018) zmiňuje též, že expozice BPA u prasnic během embryonálního, či fetálního vývoje, vyvolává tkáňový oxidační stres a v konečném důsledku vede k nedostatečnému vývoji mozku, ledvin, pohlavních orgánů, a tím k postnatálním reprodukčním funkcím, přičemž, oxidační stres matky je placentou přenášen na plod. Při podávání diety s donorem methyly se podařilo u prasnic snížit oxidační stres vyvolaný BPA (Zhuo et al., 2018). Také melatonin dokázal u prasat zmírnit proliferaci granulózních buněk a hladinu estradiolu indukovanou BPA. Těchto studií je málo, ovšem melatonin se jeví, jako slibné činidlo pro prevenci reprodukční toxicity (Wu et al., 2018), neboť vyšší tvorba ROS jako reakce na oxidační stres, může u prasat vést k abnormalitám embrya/plodu, a k poškození DNA, či metabolickým problémům v pozdějším životě selat. Celkově mají prasnice během březosti vyšší predispozice k tvorbě ROS než jiní savci, a to díky homocysteinu, jak dokumentuje Bahelka et al., (2021).

Expozice BPA vede také ke změně funkce placenty, čímž způsobuje komplikace v průběhu březosti. Četné studie naznačují, že i nízké koncentrace BPA mají vliv na dělení oocytů a způsobují problémy s neplodností (Jagne et al., 2016). Též byl prokázán negativní vliv na implantaci embrya, což je důsledek změn stavby placenty a poruch interakcí estrogenů a progesteronu s jejich receptory. Ovšem úspěšnost implantace může být ovlivněna i expozicí BPA samce (Jagne et al., 2016; Tomza-Marciniak et al., 2017).

Důležité informace o vlivu BPA na růst embryí ukázaly souvislost mezi environmentální expozicí BPA a malformacemi plodu u lidí. Ženy s diagnostikovanou



malformací plodu, oproti těm s normálním vývojem, měly průměrné koncentrace volného BPA v krvi 3x nižší než ženy kontrolní skupiny. Snížená schopnost metabolizovat BPA u samice zřejmě tak může podporovat výskyt malformací u plodu (Tomza-Marciniak et al., 2017).

## 2.6. Charakteristika zemědělství v ČR, chov prasat, problémy

Rostlinná a živočišná produkce spolu úzce souvisí. Čím kvalitnější bude hnůj, tím lépe bude pohnojeno pole, tím kvalitnější rostliny vypěstujeme nejen pro sebe, ale i pro zvíře. Chov prasat na konci 19. století se značně rozšířil a zlepšil. Byli jsme soběstační a mohli jsme potraviny vyvážet.

V dnešní době ubývá chovatelů a jejich věk se zvyšuje. Mladí lidé mají jiné zájmy. Díky změně životního stylu na vesnicích jsou časté stížnosti na chovatele, či na fyziologické projevy chovaných zvířat (dokonce chrochtání, bučení, kokrhání). S chovem zvířat je spojená typická vůně vesnice, která mnohým vadí. Dochází k napadání chovatelů za nepřípustné podmínky chovaných zvířat, většinou bez jakýchkoli znalostí etologie, či způsobu chovu. Právě v neznalosti lze spatřovat největší problém zemědělství, jako takového, ČR nevyjímaje. Zákonodárci často neznají souvislosti a fakta. Média tak zveřejňují reklamy na Regionální potravinu, ale už neuvádí, za co bychom si měli připlatit a proč je důležité tyto kupovat. Zveřejňují mimo jiné, jak je všude řepka, jak to zemědělci nedělají správně, jak hospodářská zvířata nemají potřebný welfare. Znají však souvislosti? Nevědí, že řepka půdu zlepšuje, kolika násobně se zvýšily náklady na prvovýrobu surovin (300x), jak funguje dotační a cenová politika ve světě a u nás, a podobně.

Zemědělci ve vyspělých zemích se z dob úhoru dopracovali k industriálnímu pojetí zemědělství. Převládající metodou hospodaření je konvenční zemědělství, což je systém hospodaření charakteristický vyšší intenzitou hospodaření i s použitím vyšších energetických a materiálových vstupů za účelem maximalizace produkce. V místech, kde je velké množství zastavěných ploch, je minimum přirozené vegetace, krajina není schopná, díky nízké biodiverzitě, obnovit sebe samu, pročež jsou zde nutné vyšší energetické a materiální vstupy. Ovšem počítá se s co nejvyšším, zároveň nejvýhodnějším výstupem.

Moderní technologie ve výše uvedených zemích dnes, s ohledem na ŽP, opouštějí klást hlavní důraz na intenzitu produkce a ekonomiku hospodaření a začínají preferovat jiné, alternativní systémy, jako je například ekologické a integrované zemědělství a v posledních letech dokonce precizní zemědělství. Právě toto zemědělství využívá Globální poziční systém (GPS), kde jsou zemědělské stroje vybaveny palubními počítači a systémy pro mobilní komunikaci. Tyto technologie snižují náklady a jsou šetrné k ŽP. Tímto směrem, vzhledem k překračování již zmíněných planetárních limitů, je třeba se ubírat.

Ovšem aplikace vyspělé vědy a technologií v současném zemědělství, oproti našim předkům, kteří neměli nic z toho, co dnes my (absence elektřiny, genetiky, mechanizace, technologií), kteří však vše dělali (vzhledem k ŽP) správně, vědomi si fenoménu, že rostlinná a živočišná výroba jdou spolu ruku v ruce (hnojení, zelené pásy krmení, osevní postupy, a

podobně), zanechávající nám půdu zdravou, úrodnou, nekyselou, tu celou strukturu zemědělství značně zdražuje, což se minimalizuje dotacemi. Ty jsou zdrojem polemik, křivení ekonomiky, žel, i studnicemi těch, kdo to „umí“. Dodnes totiž není společná vize, jak, kde a jednoduše tyto sofistikovaně uplatnit bez dnes vyskytujících se nepravostí.

Stav zemědělství v ČR je odrazem špatných politických rozhodnutí. Za privatizace dochází k zániku přidružených výrob a následně oddělení rostlinné výroby (mající dotace na ha půdy) od živočišné (dotace až od 2018). To způsobilo nekoordinovanou redukci stavů hospodářských zvířat (příčina nezadržování vody v půdě) až k dnešnímu stavu, kdy např. v komoditě VM je ČR soběstačná na 40 %, v zásobách potravin pro celou ČR, dle Agrární komory, na 1,3 dne.

K dalšímu redukování počtu hospodářských zvířat ale v ČR není důvod, je třeba živočišné komodity spotřebovat tam, kde byly vyrobeny a tím zajistit čerstvost, kvalitu, minimalizovat logistiku a tím i tolik citovanou uhlíkovou stopu (Scarborough et al., 2014).

Ač rostlinná i živočišná produkce jdou spolu ruku v ruce, plnění závazků vůči EU v současné době mnohých restriktivních nařízení, zdražování prakticky všech komodit, neustálého napadání životních podmínek zvířat a podobně, tedy snaha onu uhlíkovou stopu minimalizovat, nebude jednoduché. Cesta je nutnost soběstačnosti států, omezení dovozu surovin, výrobků, technologií satelitů. Snad ono „moderní zemědělství“ soběstačnost zajistit dokáže. Hlavním cílem živočišné produkce je vyrábět maso, mléko, vejce.

Chov prasat je jedno z nejvýznamnějších odvětví živočišné výroby. VM je nepostradatelným zdrojem bílkovin. Poslední léta byla náročná a neustále dochází k úbytku počtu chovů. I přes tento úbytek dochází díky výborné a intenzivní šlechtitelské práci ke zvyšování reprodukčního ukazatele v chovu prasnic. Roční spotřeba vepřového masa na osobu se i nadále drží nad 40 kg (Nevečeřalová, 2022) i při, jejich stavech cca 1,43 milionů kusů.

Reprodukce, jako užitková vlastnost, vykazující nízkou heritabilitu, je, ovšem i přes svoji složitost fyziologických interakcí (mozek-hypotalamus-adenohypofýza-gonády), jedním z důležitých selekčních ukazatelů, který se dařilo, díky metodám hybridizace, „marker assisted selection“ a testů populací, v mnohých komerčních chovech dostat až na úroveň dánských chovatelů. Tak se v posledních letech u dobrých chovatelů dosahuje v počtu odchovaných selat na prasnici a rok četnosti přes 30 kusů (Dekkers, 2004; Stupka et al., 2009a; Šprysl et al., 2009; Nevečeřalová, 2022).

V produkční užitkovosti, tedy výkrmnosti (vykazující střední heritabilitu), se dosáhlo během 10 let cca až poloviční spotřeby krmiva na kilogramový přírůstek a u jatečné hodnoty (vykazující heritabilitu vysokou) zvýšení podílu masa cca o více jak 10 procent (Stupka, 2009).

Vystavení zvířat vlivu škodlivých, jedovatých chemických látek může, s ohledem na výše uvedené, mít dlouhodobě za následek reprodukční potíže, což ovlivní logicky produkci jatečných zvířat. Protože tyto látky se víceméně kumulují v organismu, jsou v důsledku

nebezpečné pro člověka, stojícího na vrcholu potravního řetězce. Případné mezigenerační účinky by mohly ovlivnit budoucí vývoj živočišné produkce i lidské populace.

Endokrinní disruptory, včetně bisfenolů, přináší hrozbu. Hrozbu pro budoucí generace, kde populace lidí neustále roste a potřebuje jíst. Spotřeba VM v ČR spíše stagnuje, a to na úkor ceny a jeho kvality.

### **3. Materiál a metodika**

#### **3.1. Cíl práce a hypotéza**

Přítomnost BPA v těle prasat v komerčních chovech znamená a potvrzuje, že zvířata jsou zde vystavena působnosti uvedené látky. Znamená to, že její přítomnost existuje v jejich krmivu, čímž je ohrožen i potravní řetězec člověka.

Je-li přítomen BPA v moči prasat, je, jak bylo uvedeno výše, člověk vystaven příjmu jisté dávky této sloučeniny, což může u něj vyvolat, dle literární rešerše, zmíněné problémy. Přítomnost BPA v těle chovaných prasat jasně potvrzuje jeho všudypřítomnost a nebezpečnost prakticky pro celou biosféru, která je v tomto smyslu dnes první planetární limit.

Protože existují jen sporé studie o výskytu endogenních disruptorů – polutantů, v tomto ohledu speciálně bisfenolů v tělech hospodářských zvířat, tedy prasat, předkládaná práce svou hypotézou předpokládá nález těchto látek průkazem jejich přítomnosti v moči. Vzhledem k náročnosti, jejich množství a složitosti jejich detekce, práce se zaměřila na prokázání přítomnosti pouze jednoho, významného, a to bisfenolu A (BPA). V kladném případě, tedy jeho prokázání, to logicky znamená prokázání napadení potravního řetězce.

#### **3.2. Zvířata**

Vzorky pocházely od 27 laktujících prasnic plemene Large White (ČBU), jejichž pořadí vrhu oscilovalo od prvního do sedmého vrhu. Vzorky byly odebírány třetí den *p. p.* školenou osobou. První vzorky byly odebírány ráno mezi 7. až 8. hodinou, druhé pak odpoledne mezi 15. až 16. hodinou. Každý vzorek čítal objem cca 150 ml. Tyto dva vzorky od každé prasnice byly smíchány pro získání průměrného vzorku. Poté byly doručeny do laboratoře a skladovány bez přidání konzervačních látek v chladničce až do analýzy při teplotě -20 °C. Aby se vyloučila jakákoliv chemická kontaminace, byly tyto vzorky moče odebírány do skleněného nádobí s čistými polytetrafluoretylen – silikonovými (PTFE/SIL) uzávěry. Prostředky jednorázového použití (sklo a těsnění PTFE/SIL) byly před odběrem vzorků testovány na přítomnost sledované látky.

### 3.3. Chemické analýzy

Postup přípravy vzorku se realizoval dle metodiky Wang et al., (2019) a deprivatizace extrahovaných produktů dle metody Vela Soria et al., (2014). Přibližně 0,5 ml vzorků moči prasnic bylo přeneseno do 4 mililitrových skleněných lahviček s PTFE/SIL uzávěrem. Pro stanovení volné a konjugované formy analytu byl přidán enzymatický roztok  $\beta$ -glukuronidáza/arylsulfatáza (30 kU/ml). Směsi byly vortexovány po dobu 10 vteřin a inkubovány při 37 °C, a to po dobu 12 hodin. Následující den byly vzorky obohaceny vnitřním standardem (IS) (BPA-d16, koncentrace 0,1 ug/ml v ethylacetátu), znovu vortexovány po dobu 30 vteřin a centrifugovány při minutových otáčkách 6 000 (3 420 g).

Výsledné supernatanty byly přeneseny do nových 4 ml skleněných lahviček a extrahovány 1,5 ml čistým ethylacetátem v ultrazvukové lázni po dobu 5 minut. Poté byly směsi odstředěny (3 420 g po dobu 10 minut) a horní vrstvy byly přeneseny do nových 4 ml lahviček. Tento poslední krok byl proveden dvakrát, a to s novým přidáním 1,5 ml ethylacetátu. Oba extrakty byly odebrány dohromady a odpařeny jemně pod dusíkem při laboratorní teplotě (22 °C). Rekonstituce roztoků byla provedena pomocí 100 $\mu$ l směsi ethylacetátu a BSTFA/1 % TMCS v poměru 80:20 (obj./obj.). Roztoky byly vortexovány po dobu 5 vteřin a zahřívány na 60 °C po dobu 20 minut. 2 $\mu$ l těchto konečných roztoků byly okamžitě vsříknuty do vstupu plynového chromatografického systému.

Před a během analýzy byl pečlivě kontrolován celý proces přípravy vzorku. Místo plastu bylo preferováno skleněné nádobí (Pasteurovy a Hamiltonovy pipety). Laboratorní materiál použitý pro přípravu vzorků byl prostý BPA.

K rozboru vzorku moče se použilo standardu BPA (CAS 80-05-7) a BPA-d16 (CAS 96210-87-6) od Sigma-Aldrich Inc. (St. Louis, USA). K určení přítomnosti BPA (volná + konjugovaná forma) se použilo

- $\beta$ -glukuronidázy/arylsulfatázy z *Helix pomatia* typ H1 (Sigma-Aldrich, Merck, St. Louis, MO, USA),
- 1 M (pH 5) enzymatického roztoku octanu amonného/kyseliny octové (příprava denně k získání roztoku 30 000 U/ml.,
- N, O-Bis(trimethylsilyl) trifluoracetamidu s trimethyl chlorsilanem (CAS 25561-30-2) (BSTFA/1 % TMCS),
- ethylacetátu (CAS 141-78-6), od Merck KGaA, Darmstadt, Německo,
- ultra čisté vody Aqual® 35 (Aqual, Brno, ČR).

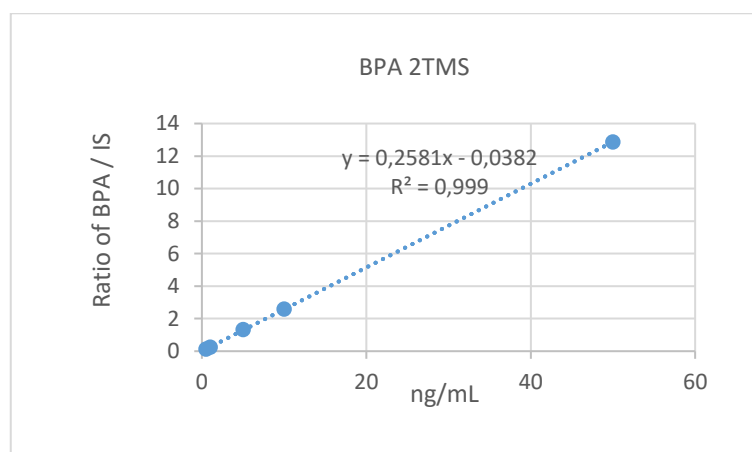
Obecně se využila jednoduchá metoda kvantitativního stanovení BPA v mase a tuku. Vzorky se vystavily extrakci (acetonitril, a potravinové simulanty jako H<sub>2</sub>O, 3% kyselina octová, 10% etanol) a dále byl výskyt BPA analyzován pomocí plynové chromatografie s hmotnostním detektorem (GC/MS). Touto metodou lze docílit pro sledované sloučeniny mez detekce 0,15 - 0,56  $\mu$ g/dm<sup>2</sup> a mez stanovitelnosti 0,51 - 1,77  $\mu$ g/dm<sup>2</sup> s dobrou opakovatelností (RSD = 5 %).

Pro analýzu byly 2  $\mu\text{l}$  vstříknuty do konstantního vyhřívaného injekčního portu při 250°C. Nosným plynem bylo helium (5,0) s průtokovým tlakem 180kPa (přibližně 2,33 ml/min). Injektor pracoval v splitness režimu a splitness periodou 2 min. Analýza byla provedena s teplotním tlakovým programem, a to s počáteční teplotou 160°C po dobu 60 vteřin. Poté se teplota zvýšila na 280°C (rychlostí 40°C za minutu) a v peci byla tato teplota po dobu 22,5 minuty do konce analýzy. Celková doba analýzy jednoho vzorku trvala 26,5 minuty.

### 3.4. Matematicko-statistické metody

Aby bylo možno získané výsledky vyhodnotit běžnými statistickými metodami, bylo v prvé řadě nutné u použitého přístroje stanovit kalibrační křivku. Ta slouží k určení hranice zjištělnosti na daném přístroji.

#### *Kalibrační křivka BPA*



Zde osa  $x$  zobrazuje koncentrace roztoku, která byla při kalibraci známa. V dané rovnici  $y = mx + y_0$ ,  $m$  = citlivost (0,2581),  $y_0$  = konstanta (-0,0382), daná prostředím,  $x$  = koncentrace látky v roztoku.

Kalibrační křivka pro tento případ udává vztah potřebný pro výpočet koncentrace BPA v tomto konkrétním měření. Pomocí této rovnice se poté vypočítala výsledná hledaná koncentrace BPA ve vzorcích, přičemž hranice zjištělnosti byla LOQ = 0,211 ng/ml.

Hranice detekce označená LOQ (*limit of quantification*) byla pro BPA 0,211 ng/ml a byla současně určena jako minimální hodnota souboru.

Pro výpočet a ověření hypotézy a k hypotéze vztažených grafů byl použit program Statistica 12 Cz. Pro porovnávání vzorků, a k nim patřících grafů, byl použit MS Word a Excel. Zjištěné hodnoty musely být nejprve upraveny, neboť s textovými daty zvolený program nepočítá. Z celkového počtu 27 vzorků, nebyly použity hodnoty menší než detekční minimum.

V programu Statistica byly nejprve určeny požadované základní popisné charakteristiky, a to aritmetický průměr, medián, maximální a minimální hodnoty (min. hodnotou byla stanovena hodnota LOQ), 25 a 75% kvartily a DF (*Detection frequency*), vyjadřující podíl prasnic s naměřenými hodnotami BPA k celkovému počtu prasnic, od kterých byly vzorky odebrány. Tyto hodnoty uvádí tabulka 3.

Protože k dispozici byl lichý počet měření, byly hodnoty seřazeny od nejmenší po největší hodnotu. Poté byla určena střední hodnota. Při užití programu Statistika byla též uvedena hodnota LOQ (0,211 ng/ml) jako jeden ze vzorků.

Výpočty se tedy realizovaly pomocí

- **aritmetického průměru**  $\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i = \frac{x_1 + x_2 + \dots + x_n}{n}$
- **medianu** (*Me*), jedná se v tomto ohledu o prostřední hodnotu souboru (Graf 4).
- **kvartilů** (25 % a 75 %), kdy 25 % prvků souboru má hodnoty menší než dolní kvartil ( $Q_{0,25}$ ) a 75 % prvků hodnoty menší než kvartil horní ( $Q_{0,75}$ ). Tyto hodnoty byly odečteny z krabicového grafu (Graf 1),
- **detekční frekvence** (*DF*), tedy počet prasnic s naměřenými hodnotami BPA k celkovému počtu prasnic ( $DF = 23/27 = 0,852$ ). Tu dokládá graf 5.

### 3.4.1. Výsledné hodnoty koncentrací BPA v moči – výsledky

Tabulka 1. Přehled zjištěných hodnot koncentrací BPA v moči u sledovaných prasnic (n=27 ks) v ng/ml

č. prasnice	Pořadí vrhu	Koncentrace BPA	č. prasnice	Pořadí vrhu	Koncentrace BPA
1	-	< LOQ	15	4.	2,52
2	-	0,75	16	5.	5,21
3	-	1,06	17	7.	5,07
4	-	1,93	18	2.	< LOQ
5	-	0,72	19	1.	3,96
6	5.	< LOQ	20	2.	2,22
7	7.	< LOQ	21	2.	3,08
8	7.	2,72	22	3.	2,11
9	4.	2,10	23	-	0,89
10	6.	0,86	24	-	2,31
11	2.	3,98	25	-	1,91
12	3.	2,19	26	-	1,65
13	3.	2,29	27	-	1,05
14	5.	4,24			

Tabulka 1 uvádí vypočítané průměrné hodnoty koncentrací BPA v moči jednotlivých prasnic. Jak je z přehledu zřejmé, z celkem 27 vzorků byly 4 pod hladinou detekce. Pokud se týká dalších, měřitelných 24 vzorků, včetně uvedené hodnoty LOQ), pohybovaly se od 0,72 ng/ml do 5,21 ng/ml. U jednotlivých vzorků byl patrný velký rozdíl zjištěné koncentrace BPA.

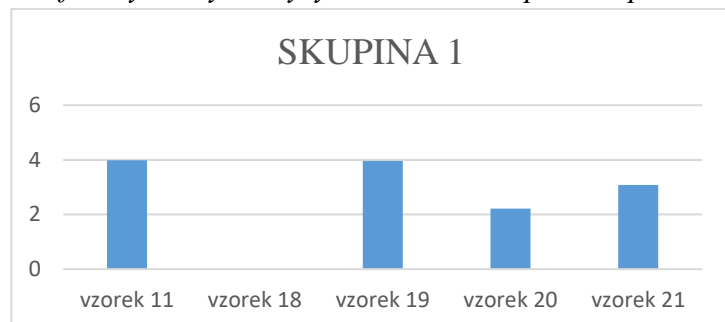
Další proměnnou uvedenou v dané tabulce, je údaj o paritě sledovaných prasnic. Tento údaj, jak je zřejmé, nebyl u všech zvířat znám. Nicméně i na takto daném souboru se počítalo s určením interakce mezi množstvím BPA v moči a pořadím vrhu. Proto odebrané vzorky byly po vlastních výpočtech rozděleny dle uvedené parity zvířat do 3 skupin. Skupina

- 1 obsahovala analyzované vzorky moči prasnic prvního a druhého vrhu (Graf 1),
- 2 zahrnovala vzorky prasnic třetích a čtvrtých vrhů (Graf 2),
- 3, tedy skupina s nejvyšším počtem hodnot < LOQ, zahrnovala zvířata v rozmezí parit pět až sedm (Graf 3).

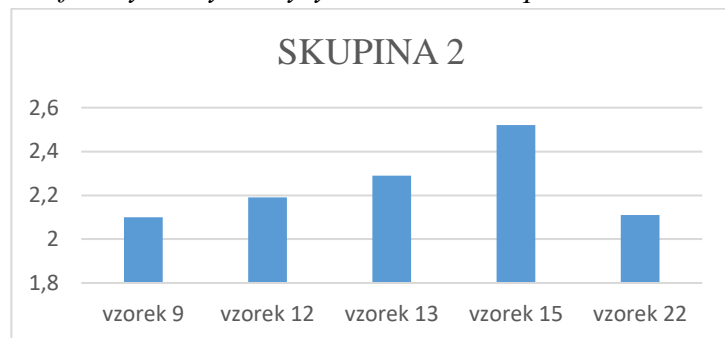
Je tak patrné, že údaje o počtu vrhů byly známy celkem u sedmnácti zvířat. Přitom hodnota 5,21 ng/ml byla naměřena ze vzorku prasnice po pátém vrhu. U nejnižší naměřené hodnoty nebyl počet vrhů znám. Další velmi nízká hodnota 0,86 ng/ml byla zjištěna ve vzorku prasnice po šestém vrhu. Pod hranicí zjistitelnosti byly vzorky prasnic po druhém, pátém i sedmém vrhu. Hodnoty nad 2 ng/ml byly naměřeny v moči prasnic po druhém, třetím i čtvrtém

vrhu. Koncentrace BPA nad 3 ng/ml byly zjištěny ve vzorcích prasnic po prvním vrhu a druhém vrhu. Koncentrace vyšší jak 4 ng/ml byla zjištěna v jednom vzorku moči prasnice po pátém vrhu.

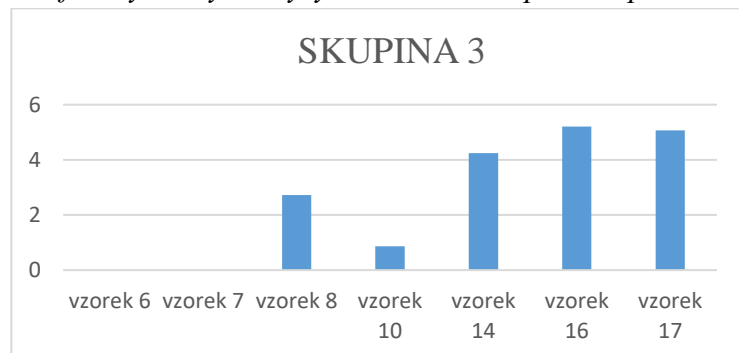
*Graf 1. Výsledky analýzy vzorků moči u prasnic prvního a druhého vrhu*



*Graf 2. Výsledky analýzy vzorků moči u prasnic třetího a čtvrtého vrhu*



*Graf 3. Výsledky analýzy vzorků moči u prasnic pátého a ž sedmého vrhu*



Při porovnávání koncentrací BPA ve vzorcích moči prasnic se stejným počtem vrhů nebyla pozorována žádná závislost. V grafu č. 1 byly porovnávány vzorky prasnic po prvním a druhém oprasení. Naměřené hodnoty jsou v průměru vyšší než 2 ng/ml, ovšem 1 hodnota byla pod hranicí zjistitelnosti. Třetí a čtvrté oprasení je promítnuto v grafu č. 2. V této skupině byly naměřeny hodnoty u všech vzorků. Třetí skupina (prasnice na pátém až sedmém vrhu) byla největší skupinou v rámci porovnávání (graf č. 3). Nacházejí se zde ovšem dva vzorky pod



hranicí zjizitelnosti, jeden vzorek menší než 1 ng/ml a dva vzorky nad hranicí 5 ng/ml. Pozorována je tady velká variabilita.

Z celkového počtu 27 vzorků se počítalo se 23 vzorky, u kterých byla uvedena hodnota LOQ = 0,211 ng/ ml jako vzorek 0. Po úpravě dat (Tabulka 2) došlo ke statistickému zhodnocení. V tabulce 3 jsou uvedeny výsledky základních popisných charakteristik, kde je patrná i detekční frekvence, která byla 85 %.

*Tabulka 2. Přehled koncentrace BPA ve vzorcích moči.*

Prasnice (n= 23 ks)	0	2	3	4	5	8	9	10	11	12	13	14
BPA (ng/ml)	0,211	0,75	1,06	1,93	0,72	2,72	2,10	0,86	3,98	2,19	2,29	4,24

Prasnice (n= 23 ks)	15	16	17	19	20	21	22	23	24	25	26	27
BPA (ng/ml)	2,52	5,21	5,07	3,96	2,22	3,08	2,11	0,89	2,31	1,91	1,65	1,05

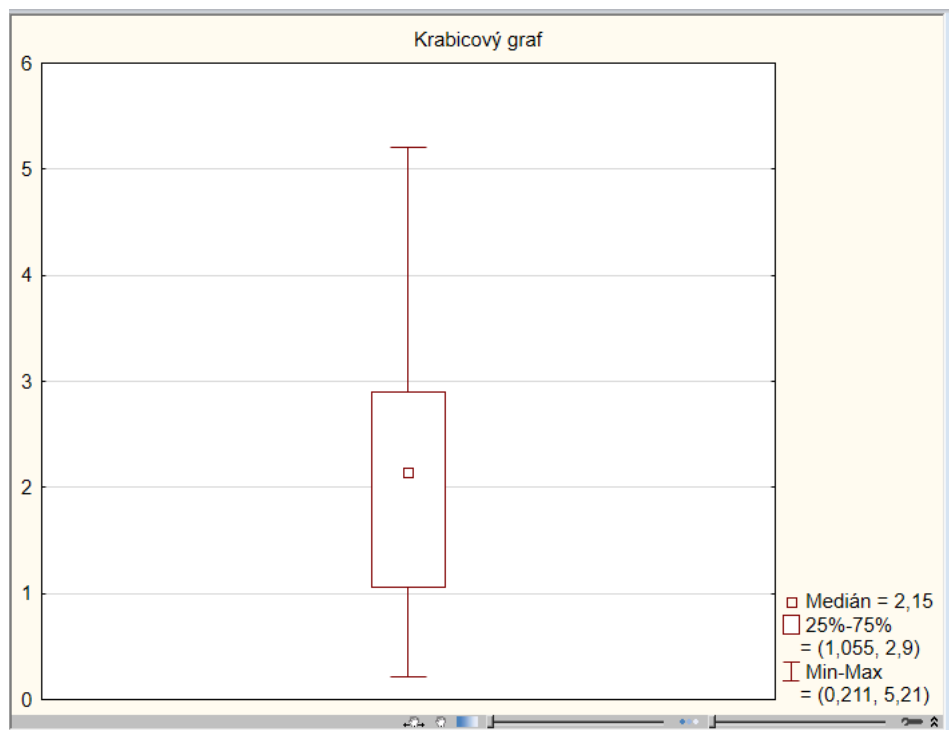
*Tabulka 3. Souhrn základních statistických veličin sledovaného souboru zvířat*

Proměnná	N celk.	N platných	Průměr	Medián	Minimum	Maximum
BPA (ng/ml)	27	24	2,292958	2,150000	0,211000	5,210000

Proměnná	Dolní kvartil	Horní kvartil	Sm. odch.	Var. koef.	DF
BPA (ng/ml)	1,055000	2,900000	1,375967	60,00835	0,850000

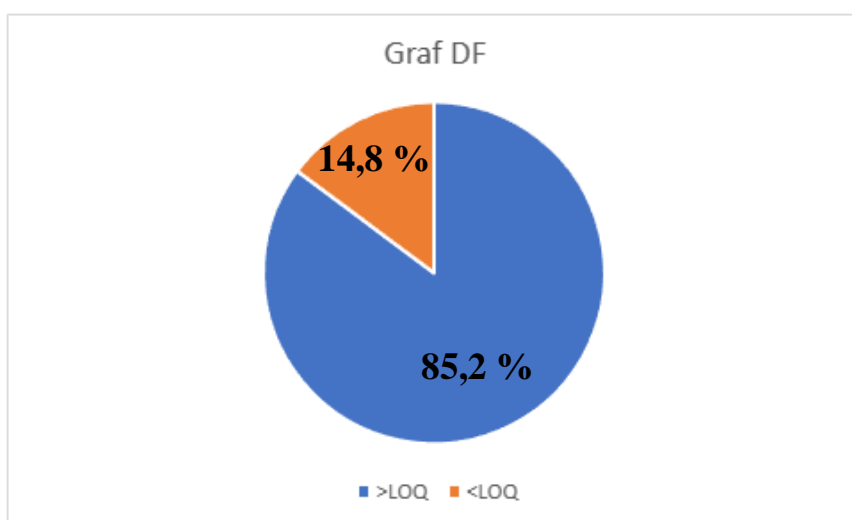
V programu Statistica byly spočítány požadované veličiny. Tabulka 3 je souhrnem již popsaných výpočtů. Je zde navíc směrodatná odchylka, což je průměrná odchylka od průměru, a variační koeficient, který udává procentuální vyjádření směrodatné odchylky. Neboli, odchylka měření je 1,38 ng/ml, což je 60 %.

Graf 4. Medián souboru – minimální a maximální hodnoty (LOQ = 0,211 ng/ml)



Střední hodnota souboru byla  $Me=2,15$  ng/ml. Je to zřejmé z uvedeného grafu 4, uvádějící medián souboru, minimální naměřenou hodnotu (LOQ = 0,211 ng/ml) a maximální hodnotou, která byla 5,21 ng/ml. Nejčastěji byly naměřeny hodnoty v rozsahu 1,055 - 2,9 ng/ml BPA.

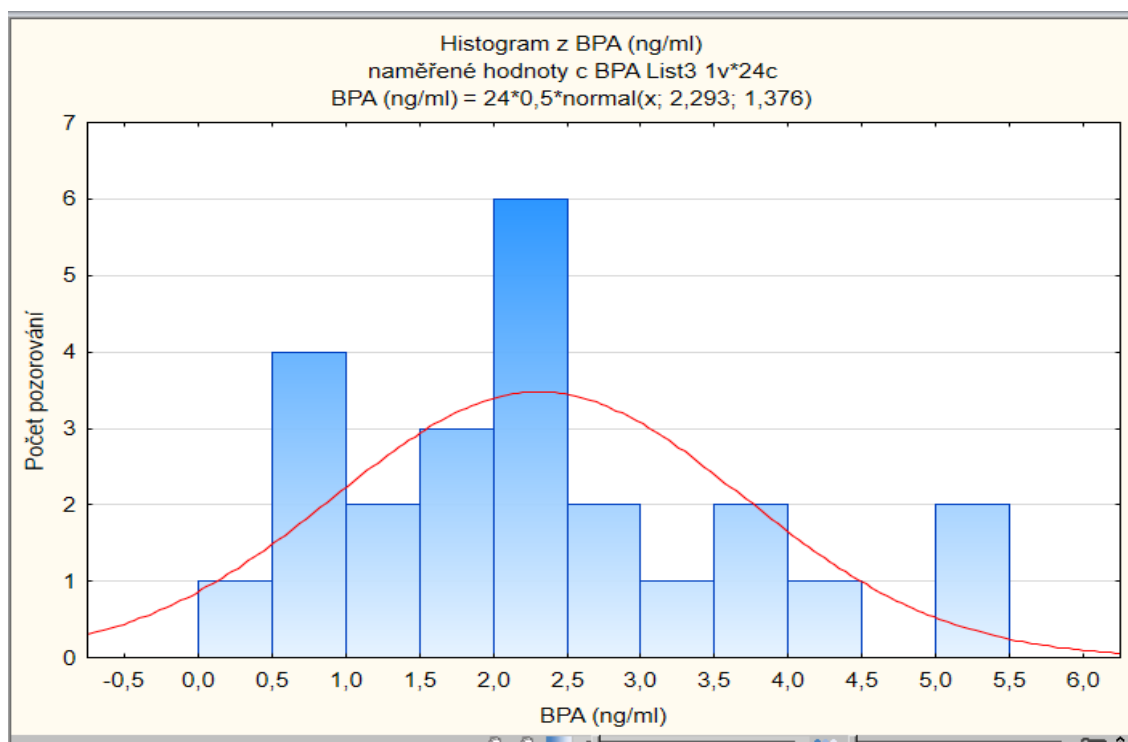
Graf 5. Detekční frekvence množství BPA



Jinými slovy možno konstatovat, že DF určuje podíl naměřených hodnot vzorků, kde bylo BPA detekováno nad hranicí zjistitelného množství (pro BPA 0,211 ng/ml) z celkového počtu vzorků.

Pokud se jedná o další výpočty týkající se výsledků, pro lepší přehled se zjišťovaly rovněž četnosti koncentrací BPA u zvířat v intervalech velikosti 0,5 ng/ml, což uvádí graf 6.

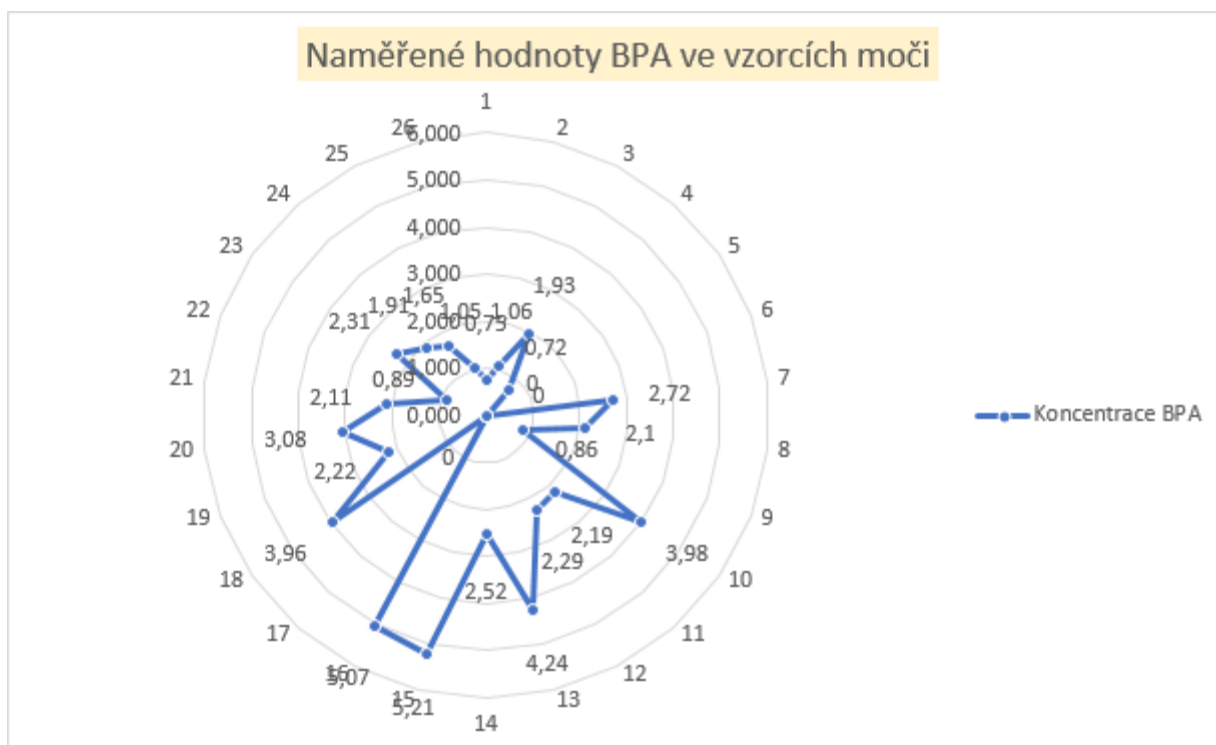
Graf 6. Četnost koncentrací BPA u zvířat v intervalech velikosti 0,5 ng/ml.



Uvedený graf dokumentuje četnosti naměřených jednotlivých hodnot zjištěných koncentrací BPA. Nejčastěji byly naměřeny hodnoty od 2 do 2,5 ng/ml, a to celkem šestkrát. Druhou nejčastěji naměřenou hodnotou bylo rozmezí 0,5 – 1 ng/ml. Tyto hodnoty byly naměřeny celkem čtyřikrát. Třetí místo zaujmul rozmezí hodnot 1,5 – 2 ng/ml, které byly naměřeny třikrát. Tento graf je zjednodušením pro ukázkou variability naměřených koncentrací ve vzorcích moči, která vyšla měřením na jevo.

Dalším zajímavým znázorněním závislosti vzorků moči odebíraných zvířat, je možno vidět v grafu 7.

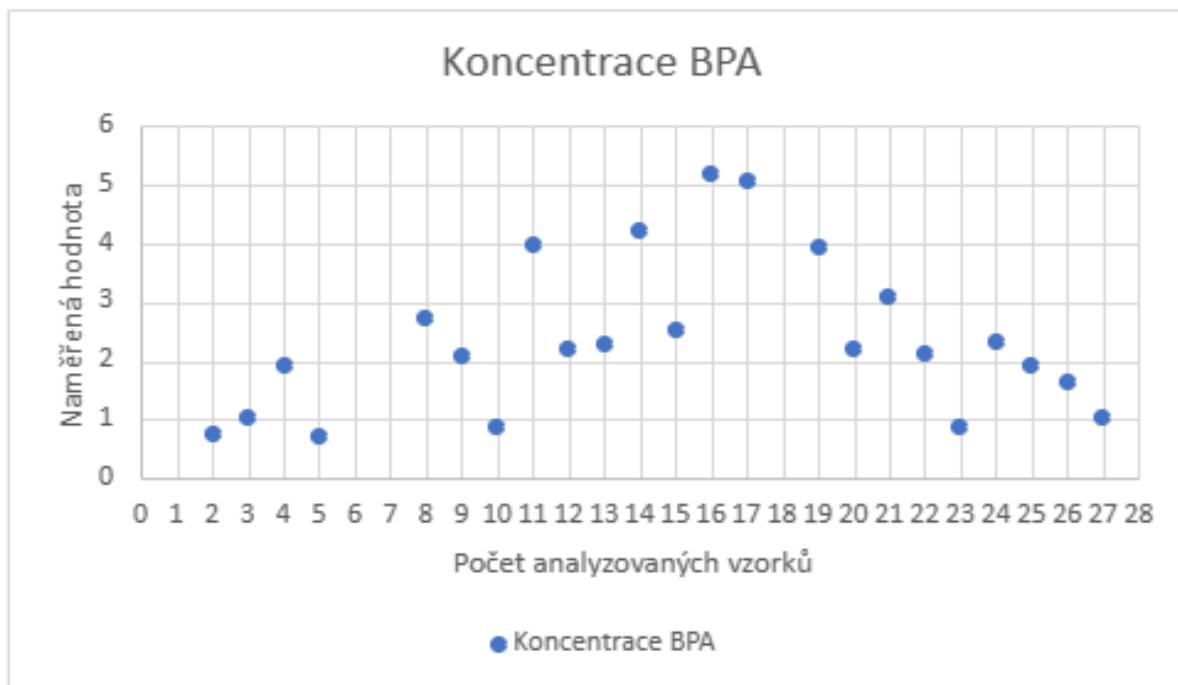
Graf 7. Závislosti vzorků odebíraných zvířat



Tento graf opět dokumentuje nezávislost vzorků odebíraných zvířat. Naměřené hodnoty BPA v moči prasnic jsou dány prostředím a do určité míry, vezmeme-li v potaz konstituci a celkový zdravotní stav zvířat, i individualitu jedince. V úvahu připadá i možná role epigenetiky. A protože zvířata jsou z konvenčního chovu, lze v tomto ohledu předpokládat kvalitní plemenářskou práci a s tím spojenou selekci na významné znaky reprodukce a následné produkce,

- **sumář četnosti odebraných vzorků** moči a měřených koncentrací BPA (graf 8),

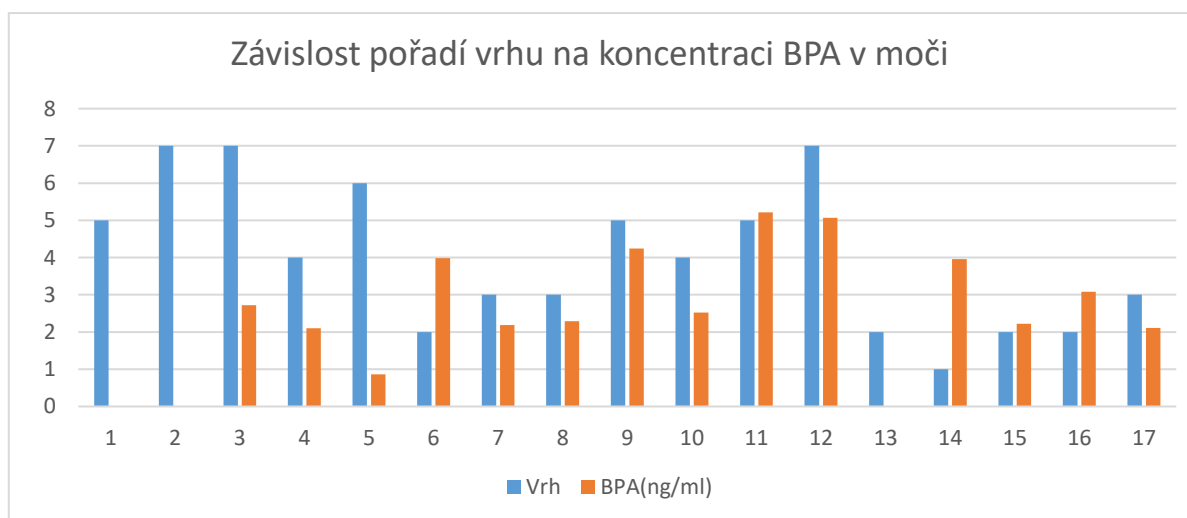
Graf 8. Sumář četnosti odebraných vzorků moči a měřených koncentrací BPA



Tento graf je sumářem počtu odebraných vzorků moči a naměřených hodnot bisfenolu A v moči prasnic obsažených. Dokládá velkou rozdílnost naměřených hodnot, vzhledem k obratu stáda (tedy stejným podmínkám prostředí),

- závislost, respektive *interakci parity na koncentraci BPA*, což uvádí graf 9, z kterého je patrné, že se závislost počtu vrhů na koncentraci BPA v této studii neprokázala.

Graf 9. Závislost počtu vrhů na koncentraci BPA



### 3.4.2. Ověření hypotézy

Existuje mnoho studií, které prokazují účinek bisfenolu A jako endokrinního disruptoru. Přítomnost této látky byla prokázána i v tělech hospodářských zvířat. Tedy i v moči prasat je BPA přítomen. Jeho přítomnost v moči prasat prokáže napadení potravního řetězce.

Pro ověření hypotézy ( $H_0$ ) byl zvolen T-test pro samostatné průměry vůči referenční konstantě 0,211 ng/ml. Jde o hodnotu LOQ, tedy nejmenší možnou měřitelnou. Test byl vyhodnocen pomocí programu Statistika, a vypočítané hodnoty, uvedené v tabulce 4, jako

- hladina významnosti  $\alpha$  – byla zvolena 0,05,
- tabulková kritická hodnota t, kde pro  $t_{0,05}(23) = 2,06$ , vyšla 7,4125,
- SV – stupně volnosti,
- P – hodnota je menší než hladina významnosti  $\alpha$ :  $p = 0,0000$ ,  $p < \alpha$ .

Tabulka 4. Test průměrů vůči referenční konstantě

Proměnná	Test průměrů vůči referenční konstantě (naměřené hodnoty c BPA )							
	$\bar{x}$	Sm.odch. $\sigma$	N	Sm.chyba $ST$	Referenční konstanta	t	SV	p
BPA (ng/ml)	2,29295	1,37596	24	0,28086	0,21100	7,4125	23	0,0000

Jak je z výše uvedené tabulky patrné, průměrná naměřená hodnota BPA v moči prasnic byla 2,2958 ng/ml. Hodnota mediánu 2,15 ng/ml při minimu, respektive maximu LOQ = 0,211, respektive 5,21 ng/ml a směrodatné odchylce 1,375967.

Pokud jde o kvartily (graf 4), jejich hodnoty pro dolní, respektive horní byly v rozmezí 1,055-2,9 ng/ml. Hodnota detekční frekvence, udávající, jak velký soubor byl sledován a v kolika vzorcích byla naměřena přítomnost BPA o hodnotách  $> LOQ$  (0,211 ng/ml), byla 0,852, resp. 85,2 %.

Vzhledem k výsledku, bylo prokázáno, že hypotéza ( $H_0$ ) platí. Bisfenol A je prokázán jako součást potravního řetězce a představuje tak riziko pro člověka v podobě potravin z vepřového masa.

## 4. Diskuse

Mezi hlavní způsoby expozice bisfenolu A pro člověka patří inhalace, dermální absorpce a strava (jídlo a pití). Tato substance se prostřednictvím potravy dostává do těla z více než 90 % celkové expozice, zatímco příspěvek nedietních cest čítá méně než 5 %. Dalšími způsoby expozice mohou být socioekonomické postavení ve společnosti, životní styl a prostředí, ve kterém žijeme. Je však pravdou, že uveřejněné studie se mezi sebou svými výsledky neshodují, kolikrát se tyto výrazně liší, či výsledky bývají dokonce protichůdné. Faktem však je, že detekční frekvence mají vypovídající hodnotu (Gao et al., 2016; Huang et al., 2017; Chen et al., 2018; Wang et al., 2020).

Pro získání reprezentativního výsledku denního příjmu BPA z rozborů moči prasnic by byl třeba soubor nejméně 1 000 vzorků moči, jak uvádí autoři studií zaměřených na analyzování hladiny BPA v moči (Jagne et al., 2016; Huang et al., 2017).

Xia Wang et al., (2020) ve své studii uvedli, že BPA má relativně krátký poločas rozpadu, což znamená rychlou manipulaci se vzorky, nepřesné výsledky, nutnost velkého počtu vzorků. Bisfenoly jsou všudypřítomné znečišťující látky v životním prostředí, a jak naznačují vysoké detekční frekvence ve studiích, nejen u zvířat, ale i u lidí, je velice důležité předcházet či v maximu minimalizovat dopady působení této sloučeniny člověkem připravené (Huang et al., 2017, Lehmler et al., 2018). Ve studii zabývající se výskytem BPA u domácích zvířat (kočka, pes) se prokázalo, že krmiva pro domácí zvířata jsou značným zdrojem expozice bisfenolů.

Zvířata zájmových chovů jsou vystavena působení bisfenolů žvýkáním, olizováním, nebo kontaktem s hračkami pro domácí mazlíčky a jinými domácími produkty. Nebyly ovšem zjištěny žádné korelace mezi věkem a pohlavím (Karthikraj et al., 2020).

Čínská studie Wang et al., (2022) analogů bisfenolu v moči hospodářských zvířat poukazuje na potenciální kontaminanty v potravinářských výrobcích z těchto zvířat. Podobných výzkumů bylo však provedeno velmi málo. V této studii byly vzorky moči prasat a skotu odebrány ze dvou čínských farem. Studie byla zaměřena na deset bisfenolů. Všechny deset bylo velmi často ve všech vzorcích. Celková průměrná koncentrace deseti BP ( $\Sigma$ BP) v moči prasnic byla 59,7 ng/ml, která byla významně ( $p < 0,05$ ) vyšší než v kancí moči s průměrnou koncentrací 37,0 ng/ml.

Na druhé straně odpovídající průměrná koncentrace  $\Sigma$ BP v moči mléčného skotu byla 59,6 ng/ml, což bylo rovněž významně ( $p < 0,05$ ) vyšší než v moči skotu masného, tedy 37,0 ng/ml.

Príslušné průměrné hodnoty koncentrací BPA k  $\Sigma$ BP v moči kanců, prasnic, mléčného a masného skotu byly pouze 14,9 %, 21,4 %, 9,0 % a 14,6 %, což jasně dokládá, že BPA již nebyl dominantním bisfenolem. Průměrná denní míra vylučování  $\Sigma$ BP močí u sledovaných kanců, prasnic, mléčného a masného skotu byla 37x, 60x, 167x a 37x vyšší, než u člověka. Naznačuje

to, že prasata a skot se pravděpodobně setkaly s vysokými dávkami BP v těchto dvou chovech. Výsledky prokázaly, podobně jako u lidí, že nejvyšší a hlavní příjem bisfenolů pochází z krmiva a výživových doplňků.

Část BP vystavená hospodářským zvířatům se tedy nakonec dostane do lidského těla prostřednictvím masa nebo mléka. Proto je nutná eminentní kontrola kvality krmiv, resp. doplňků výživy, určených pro hospodářská zvířata, a tím zaručení jejich dobrých životních podmínek a následně ochrana lidského zdraví (Wang et al., 2022).

V další americké studii, zaměřené na potraviny určené ke konzumaci člověkem, bylo analyzováno několik analogů bisfenolu, včetně BPA, BPF a BPS v potravinách (N = 267), pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie-tandemové hmotnostní spektrometrie (HPLC-MS/MS). Potraviny rozdělené do devíti kategorií (nápoje, mléčné výrobky, tuky, oleje, ryby, mořské plody, obiloviny, maso, masné výrobky, ovoce, zelenina a ostatní) obsahovaly bisfenoly v 75 % vzorků. Celkové koncentrace 8 sledovaných bisfenolů ( $\Sigma$ BP) se pohybovaly v rozmezí od hranice zjistitelnosti (LOQ) do 1130 ng/ml, s celkovou průměrnou hodnotou 4,38 ng/ml. Nejvyšší celková průměrná koncentrace  $\Sigma$ BP se prokázala v kategorii ostatní, zahrnující koření a konzervované potraviny. Nicméně koncentrace v nápojích (průměr = 0,341 ng/ml) a ovoci (0,698 ng/ml) byly nízké. Převládajícími bisfenoly, nalezenými v potravinách, byly BPA a BPF, které představovaly 42, respektive 17 % z celkových koncentrací sledovaných bisfenolů. Konzervované potraviny obsahovaly vyšší koncentrace jednotlivých a celkových bisfenolů, ve srovnání s potravinami prodávanými ve skleněných, papírových nebo plastových nádobách (Liao et al., 2013).

Chen et al, (2018) uvádí, že relativně vyšší koncentrace BPA byly zjištěny v moči dospívajících, než dospělých. V populaci s rostoucím věkem koncentrace BPA v moči pomalu klesá. Nejvíce jsou tedy expozici BPA vystaveny hlavně děti ve věku 6-20 let. Je nutné podotknout, že v jiné studii koncentrace BPA v moči s věkem vzrůstala (Chen et al., 2018).

Působení BPA představuje ohrožení lidského zdraví včetně reprodukce, vývoje, metabolických onemocnění a dalších zdravotních komplikací, jako obezita, cukrovka, aj.

V čínské studii Gao et al., (2016) byl BPA detekován ve všech analyzovaných vzorcích moči, což prokázalo rozsáhlé vystavení mladých obyvatel Číny této látce. Koncentrace BPA v moči u mladých tamních lidí (2,23 ng/ml) byly srovnatelné s hodnotami uvedenými v USA (2,6 ng/ml), Korei (2,74 ng/ml), Belgii (2,22 ng/ml), avšak byly nižší, než hodnoty hlášené z Itálie (3,59 ng/ml) a Dánska (3,25 ng/ml).

Naopak ve srovnání s průměrnými údaji zjištěnými v Kanadě (1,16 ng/ml), Vietnamu (1,42 ng/ml), Malajsii (1 ng/ml), Indii (1,59 ng/ml), Kuvajtu (1,24 ng/ml), Japonsku (0,84 ng/ml) a Turecku (0,61 ng/ml), byly hladiny BPA v moči vyšší.



Toxikokinetika BPA u lidí i zvířat zůstává přesto stále nejasná. Nedávná studie prokázala, že dermální penetrace má pozitivní vliv na transdermální absorpci BPA. Ovšem je v této záležitosti nutné pokračovat ve výzkumu (Gao et al. 2016).

Vzorky moči prasnic, pocházející z české farmy, které byly podrobeny analýze na přítomnost a výši bisfenolu A, prokázaly, že tato látka je přítomna v moči rodičích prasnic. Průměrná koncentrace BPA v moči čítala hladinu 2,3 ng/ml. Výsledek koresponduje s obsahy této látky v moči obyvatel Číny, USA, Koreje a Belgie, jak prokázala studie Gaa et al. (2016). Došlo tak ke srovnávání dvou živočišných druhů se závěrem, že mezi člověkem a prasetem je v této situaci pouze minimální rozdíl. Nicméně je nutno brát v úvahu časový odstup mezi těmito studii.

Vezme-li se v potaz fakt, že se jedná o porovnávání hospodářských zvířat, chovaných v přísných hygienických podmínkách, ve vztahu k člověku, je výše obsaženého BPA v moči prasnic *p.p.* alarmující. Vzhledem k neustále rostoucí lidské populaci a stále se zvyšujícím nárokům na potraviny na jedné straně a na druhé pak stále častějšímu výskytu civilizačních onemocnění (cukrovka, obezita, neplodnost), je problematika endokrinních disruptorů významnou a nepřehlédnutelnou složkou planetárního limitu „biosféra“, který je, pro budoucí generaci již nezvratný (Bertrand, 2021).

Problematikou bisfenolů je třeba se zabývat nadále. Česká republika je země chovatelů (nejen hospodářských zvířat), kteří se za svá zvířata a jejich zdraví postaví. Je ovšem nezbytně nutná informovanost nejen chovatelů, ale i široké veřejnosti. Protože TDI BPA byl v roce 2023 opět a velmi razantně snížen, je nutné dále sledovat jeho obsah v potravinách. Při opakování této studie by, pro získání vypovídajících dat, bylo třeba mít kolem až tisíce vzorků moči a více údajů o prasnicích. Z tohoto pohledu je třeba DP brát nejen jako vlastní práci, ale i jako náznak metodiky pro práce následující.

Též je velice zajímavé porovnání obsahu BPA v moči samic a samců prasat, s ohledem na věk. Lze zde uvést tzv. limit vzorků, neboť pomocí inseminace se v tomto ohledu snižuje počet potřebných kanců v chovech. Zde se právě teoreticky jeví možnost monitorovat přítomnost BPA pomocí realizovaných analýz odebraného semene na inseminačních stanicích.

Protože většina denního příjmu BPA pochází z potravy/krmiva, bude třeba do budoucna bilančně určit množství BPA v denním příjmu zvířat a bilančně také stanovit množství vyloučeného bisfenolu.

V dalších studiích je třeba zaměřit pozornost na velikost zkoumaných souborů, což je důležité z pohledu statistické průkaznosti (Karthikraj et al., 2020), provést časovou kontrolu již uskutečněných studií a ověřit, zda dochází ke snižování hodnot BPA a jeho analogů v potravinách a tělech hospodářských zvířat. To by umožnilo stanovit míru expozice bisfenolů pro jednotlivé druhy hospodářských zvířat.

## 5. Závěr

V době prvních experimentů s kaučukem, chemici po celém světě chtěli vytvořit látku s podobnými vlastnostmi pro celosvětovou sériovou výrobu. V roce 1800 byly připraveny první plastové hmoty. Byl to pro svět přelom, který jej změnil. Postupně se plasty objevily ve všech odvětvích a dnes si lze jen těžko představit život bez nich. Tento fakt beru osobně jako nejen velký problém, ale i jako osobní výzvu. Použitý plast se postupně stal nepotřebným odpadem, znečišťující ŽP a zanechávající po sobě stopy po tisíce let.

Protože kapacita planety Země není nekonečná, je nutné najít rovnováhu mezi lidským bytím a ŽP. Plasty všude kolem nás začaly migrovat v jistých množstvích do našich tkání a ovlivňovat tak naše zdraví. Enormní populační nárůst znamenal také zvýšení četnosti používání obalových plastových materiálů, které jsou na jedno použití. V důsledku výroby, distribuce a spotřeby se látky v plastech obsažené rozšířily po celém světě, včetně oceánů. Nacházejí se všude, mořské živočichy nevyjímaje a jejich mikročástice dnes byly prokázány i v atmosféře. Problematika polutantů byla řešena společně s problematikou pesticidů, antibiotik podávaných hospodářským zvířatům, průmyslových hnojiv. Společnost se dnes zajímá o to, co se, a v jaké kvalitě, konzumuje, a to v konkrétních životních podmínkách hospodářských zvířat.

Poté, co byly, v roce 1937, uznány estrogenní vlastnosti BPA, se tento, nějakou dobu, používal jako růstový stimulant v chovu hospodářských zvířat, u lidí jako náhrada estrogenu. Brzy se však ukázalo, že jde o endokrinní disruptor. Tak se tato látka začala sledovat. Věda po celém světě zkoumá jeho účinky na organismy a jeho toxikokinetiku. Právě ta není dosud zcela upřesněna. Ovšem objevují se přesnější data, která potvrdila jasně jeho negativní působnost na všechny živé organismy. Objevily se i studie o transgeneračních účincích. Ty se nejvíce zaměřují k člověku přes důležitou složku, příjem BPA potravou.

Vepřové maso je u nás velmi oblíbené, dnes hlavně pro svou cenovou dostupnost, je nutné sledovat množství BPA v něm obsaženém. Denní tolerovaný příjem této látky pro člověka byl v roce 2023 velmi razantně snížen (20.000x). Pro podobnost fyziologie člověka a prasete byly výsledky stanovení BPA v moči prasat porovnávány s výsledky studií vzorků moče lidí. Právě studií na prasatech bylo, ke své škodě, provedeno jen velmi málo.

Cílem práce bylo ověřit četnost výskytu BPA ve vzorcích moči prasnic konvenčních chovů. BPA toxikologicky nepředstavuje riziko v dávkách, ve kterých se do organismu dostává. Jde však o látku v orgánech měřitelnou, zvláště u mladých lidí a zvířat. Jeho přítomnost ovlivňuje komplexně reprodukční soustavy savců, což se ve výsledku projevuje mj. opakovanými aborty, předčasnými porody, sníženými počty oocytů, zhoršenou kvalitou spermií, neplodností, záněty reprodukčních orgánů, změnami chování, ap. Nemluvě o možných epigenetických změnách.

Na základě dosažených výsledků lze konstatovat, že u 27 vzorků laktujících prasnic genotypu Large White (ČBU), na 1. - 7. vrzích, které byly od nich odebrány 3. den *p.p.* a zpracovány dle výše uvedené metodiky se prokázalo, že

- celkem u 23 vzorků byla zjištěna přítomnost BPA, přičemž u 17 zvířat bylo známo pořadí vrhu,
- výsledné hodnoty odpovídají průměrným hodnotám BPA v moči lidí,
- vysoká detekční frekvence potvrdila všudypřítomnost této látky,
- u podlimitních vzorků moči, které mohly být skladovány déle, v daném případě chyběly další data k podrobnější analýze,
- získaná data potvrdila hypotézu  $H_0$ , a to, že BPA je součástí potravinového řetězce prasat,
- nebyla prokázána korelace mezi koncentrací BPA v moči a pořadím vrhu,
- pokus zahrnoval pouze jedno pohlaví (prasnice), nebylo tedy možné srovnání s pohlavím druhým (kanci na ISK),
- v budoucnu bude zajímavé odebrat nejen moč, ale i mlezivo/mléko s cílem porovnání koncentrací BPA u selat.

Není závěrem až tolik odvážné tvrdit, že množství BPA v organismu závisí na odolnosti jednotlivých tkání, orgánů a celkově na odolnosti daného jedince. Otázkou však je, jak dlouho lze odolávat nástrahám bisfenolů, mikroplastů a dalších endokrinních disruptorů a jedů vytvořených lidskou rukou.

## 6. Literatura

- Anderson, P. C., 1996: Cropbiotechnology for feed improvement, 265-284. In: Wiseman, J., Varley, M. A., Chadwick, J. P.: Progress in Pig Science, Nottingham University Press, 1996, G. B.
- Bahelka, I., Stupka, R., Čítek, J., Šprysl, M., 2021: The impact of bisphenols on reproductive systém and on offspring in pigs. A review 2011-2020, Chemosphere, 263.
- Barrett, J., Chase, Z., Zhang, J., Banaszak Holl, M. M., Willis, K., Williams, A., Hardesty, B. D., Wilcox, C., 2020: Microplastic Pollution in Deep-Sea Sediments From the Great Australian Bight. *Frontiers in Marine Science*, 7-2020.
- Bertrand, Y. A., 2021: Dědictví. Dokumentární film, ČT2, dnes nedostupný.
- Bramel, J., Sensky, P., Budd, T, Harper, J., Parr, T., Ward. R., Wright, M., Bardsley, R., Dawson, J., Salter, A., Battery, P., 1996: Protein and fat metabolism in muscle and adipose tissue-its influence on meat quality, 443-460. In: Wiseman, J., Varley, M. A., Chadwick, J. P.: Progress in Pig Science, Nottingham University Press, 1996, G. B.
- Brascamp, E. W., Haley, C. S., 1994: Biotechnology in modern commercial pig breeding, 43-55. In: Cole, S. J. A., Wiseman, J., Varley, M. A., Principles of Pig Science, Nottingham University Press, 1994, G. B.
- Castellini, C., Di Giammarco, N., D'Andrea, S., Parisi, A., Totaro, M., Francavilla, S., Francavilla, F., Barbonetti, A., 2021: Effects of bisphenol S and bisphenol F on human spermatozoa: An in vitro study. *Reproductive Toxicology*, 103, 58-63.
- Craig, Z. R., Wang, W., Flaws, J. A., 2001: Endocrine-disrupting chemicals in ovarian function: Effects on steroidogenesis, metabolism and nuclear receptor signaling. Department of Comparative Biosciences, University of Illinois, *Reproduction*, 142, 633-646.
- Daolin, M., Liu, M. J. W. H., Chen, Y., Che, L., Fang, Z., Xu, S., Lin, Y., Feng, B., Li, J., Wu, D. 2018: Maternal methyl donor supplementation during gestation counteracts bisphenol A – induced oxidative stress in sows and offspring. *Nutrition*, 45, 76-84.
- Dekkers, J., C., 2004: Commercial application of marker – and gene-assisted selection in livestock: Strategies and lessons. *Journal of Animal Science*, 82, E-Suppl., 313-328.
- Desdoits-Lethimonier, C., Lesné, L., Gaudriault, P., Zalko, D., Antignac, J. P., Deceuninck, Y., Platel, C., Dejuq-Rainsford, Mazaud-Guittot, S., Jégou, B., 2017: Parallel assesment of the effects of bisphenol A and several of its analogs on the adult human testis. *Human Reproduction*, 32, 7, 1465-1473.
- Ding, Z. M., X. F., Wu, D., Zhang, J. Y., Chen, F., Wang, Y. S., Huang, C. J., Zhang, S. X., Li, X., Huo, L. J., 2017: Bisphenol AF negatively affects oocyte maturation of mouse *in vitro* through increasing oxidative stress and DNA damage. *Chemico-Biologica Interactions*, 25, 278, 222-229.
- Doskočil, I., 2021: Role hmyzu ve výživě člověka. Potravinářská komora ČR. Verlag Dashöfer, nakladatelství, spol. s r. o. Evropská 423/178, P. O. Box 124, 160 41 Praha 6.

- Dolinoy, D. C., Huang, D., Jirtle, R. L., 2007: Maternal nutrient supplementation counteracts bisphenol A-induced DNA hypomethylation in early development. *PNAS*, 104, 32, 13056-13061.
- Durilová, A., 2023: *Zemědělství 2022*. MZe ČR Praha, Zpráva, 134–145.
- Drobna, Z., Talarovicova, A., Schader, H. E., Fennell, T. R., Snyder, R. W., Rissman, E. F., 2019: Bisphenol F has different effects on preadipocytes differentiation and weight gain in adult mice as compared with bisphenol A and S. *Toxicology*, 420, 66-72.
- Foer, J. S. 2015: *Eating animals*. Nakladatelství Slovart, 277.
- Flowers, W. J., 1996: Management of reproduction. In: Wiseman, J., Varley, M. A., Chadwick, J. P.: *Progress in Pig Science*, Nottingham University Press, 1996, G. B.
- Freinkel, S., 2011: *Plastic: A toxic love story*. USA, HMH, 336.
- Gao, Ch., Liu, L., Ma, W., Zhu, N., Jiang, L., Ren, N., Li, Y. F., Kannan, K. 2016: Bisphenol A in Urine of Chinese Young Adults: Concentrations and Sources of Exposure. *Bull Environ Contam Toxicol* (2016) 96:162–167. DOI 10.1007/s00128-015-1703-5.
- Huang, R., Liu, Z., Yuan, S., Yin, H., Dang, Z., Wu, P., 2017: Worldwide human daily intakes of bisphenol A (BPA) estimated from global urinary concentration data (2000 - 2016) and its risk analysis. *Environmental Pollution*, Elsevier 230 (2017) 143-152.
- Huo, X., Chen, D., He, Y., Zhu, W., Zhou, W., Zhang, J., 2015: Bisphenol-A and Female Infertility: A Possible Role of Gene-Environment Interactions. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 12, 11101-11116.
- Chouhan, S., Yadav, S. K., Prakash, J., Swati, Singh, S. P., 2014: Effect of Bisphenol A on human health and its degradation by microorganisms: A review. *Annales of Microbiology*, 64, 13-21.
- Chen, J., Wu, J., Sherrell, P. C., Chen, J., Wang, H., Zhang, W. X., Yang, J., 2022: How to Build a Microplastics-Free Environment: Strategies for Microplastics Degradation and Plastics Recycling. *Advanced Science*.
- Chen, Y., Fang, J., Ren, L., Fan, R., Zhang, J., Liu, G., Zhou, L., Chen, D., Yu, Y., Lu, S. 2018. Urinary bisphenol analogues and triclosan in children from south China and implications for human exposure. *Environmental Pollution*, 238, 299 - 305.
- Jagne, J., White, D., Jefferson, F., 2016: *Endocrine-Disrupting Chemicals: Adverse Effects of Bisphenol A and Parabens to Women's Health*. *Water, Air and Soil Pollution*, 227, 182.
- Kaur, S., Saluja, M., Bansal, M. P., 2017: Bisphenol A induced oxidative stress and apoptosis in mice testes: Modulation by selenium. *Andologia*, 2017, 50,3, 1-8.
- Karthikraj, R., Lee, S., Kannan, K., 2020: Biomonitoring of exposure to bisphenols, benzophenones, triclosan, and triclocarban in pet dogs and cats. *Environmental Research*, 180, January 2020, 108821.
- De Kermoisan, G., Joachim, S., Baudoin, P., Lonjaret, M., Tebby, C., Lesaulnier, F., Lestremau, F., Chatellier, C., Akrou, Z., Pheron, E., Porcher, J. M., Péry, A. R. R., Beaudouin, R., 2013: Effects of bisphenol A on different trophic levels in a lotic experimental ecosystem, *Aquatic Toxicology*, 144–145, 186-198.

- Kolátorová, L., Vítků, J., Dušková, M., Stárka, L. 2018. Endokrinní disruptory. Oddělení steroidů a proteofaktorů, Endokrinologický ústav, Praha. *Diabetologie Metabolismus Endokrinologie, Výživa*, 21, 2 142-149.
- Lamb, C., 1994: The public perception of pig products and market developments. In: Cole, S. J. A., Wiseman, J., Varley, M. A.: *Principles of Pig Science*, Nottingham University Press, 1994, G. B.
- Lambré, C., Barat Baviera, J. M., Bolognesi, C., Chesson, A., Cocconcelli, P. S., Crebelli, R., Gott, D. M., Grob, K., Lampi, J., Mengelers, M., Mortensen, A., Riviere, G., Silano, V., Steffensen, I. L., Tlustošová, K., Vernis, L., Zorn, H., Bařková, M., Bignami, M., Corsini, E., FitzGerald, R., Gundert-Remy, U., Halldorsson, T., Hart, A., Ntzani, E., Scanziani, E., Schröder, H., Baert, K., Carfi, M., Castoldi, A. F., Croera, C., Van Loveren, H., 2023: Re-evaluation of the risks to public health related to the presence of bisphenol A (BPA) in foodstuffs. *EFSA Journal* 21, 4, 6857, European Commission.
- Lavender, S., 2022. Detection of Waste Plastics in the Environment: Application of Copernicus Earth Observation data. Issue: Remote Sensing of Plastic Pollution - MDPI, 14, 4772.
- Liao, Ch., Kannan, K. 2013: Concentrations and Profiles of Bisphenol A and Other Bisphenol Analogues in Foodstuffs from the United States and Their Implications for Human Exposure. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2013, 61, 19, 4655–4662, Publication Date: April 24, 2013.
- Liverpool, L., 2020: Simple technique could help find Microplastics inside the human body. *New Scientist, Health., International Research Journal of Ingeneering and Technology*, 7, 4, 2395.
- Lehmler, H. J., Liu, B., Gadogbe, M., Gao, W. 2018: Exposure to Bisphenol A, Bisphenol F, and Bisphenol S in U. S. Adults and Children: The National Health and Nutrition Examination Survey 2013–2014. *ACS Omega* 2018, 3, 6, 6523-6532.
- Ma, Y., Liu, H., Wu, J., Yuan, L., Wang, Y., DuX., Wang, R., Marwa, P. W., Petlulu, P., Chen, X., Zhang, H., 2019: The adverse health effects of bisphenol A and related toxicity mechanisms. *Environmental Research*, 176, College of Public Health, Zhengzhou University, China.
- Magnusson, U., Persson, S., 2015: Endocrine disruptors in domestic animal reproduction. A clinical issue? *Reproduction in Domestic Animals*, 3, 15-19.
- Nevečeřalová K., 2022: Situační a výhledová zpráva – Prasata a vepřové maso. Český statistický úřad Eurostat FAO Generální ředitelství cel, MZeČR, 84.
- Oermann, N. O., 2013: *Albert Schweitzer 1875–1965. Eine Biographie*. Verlag C. H. Becko HG, München, 536.
- Pawlicki, P., Duliban, M., Tuz, R., Ptak, A., Milon, A., Gorowska-Wojtowicz, E., Tworzydło, W., Płachno, B. J., Bilinska, B., Knapczyk-Stwora, K., Kotula-Balak M., 2019: Do G-protein coupled estrogen receptor and bisphenol A analogs influence on Leydig cell

- epigenetic regulation in immature boar testis ex vivo? *Animal Reproduction Science*, 207, 21-35.
- Peretz, J., Vrooman, L., Ricke, W. A., Hunt, P. A., Ehrlich, S., Hauser, R., Padmanabhan, V., Taylor, H. S., Swan, S. H., VandeVoort, C. A., Flaws, J. A., 2014: Bisphenol A and Reproductive Health: Update of Experimental and Human Evidence, 2007-2013. *Environmental Perspect*, 8, 122, 775-786.
- Pivonello, C., Muscogiuri, G., Nardone, A., Garifalos, F., Provisiero, D. P., Verde, N., de Angelis, C., Conforti, A., Piscopo, M., Auriemma, R. S., Colao, A., Pivonello, R., 2020: Bisphenol A: an emerging threat to female fertility. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 18, 22.
- Pokoj, P., 2010: Bisfenol A, jeho vliv na zdraví člověka a životní prostředí. UTB. BSc theze, Univerzita Tomáše Bati, Zlín.
- Ponsonby, A-L., Symeonides, Ch., Vuillermin, P., Mueller, J., Sly, P. D., Saffery, R., 2016: Epigenetic regulation of neurodevelopmental genes in response to in utero exposure to phythalate plastic chemicals: How can we delineate causal effects? *Neuro Toxicology*, 55, 92-101.
- Qiu, W., Chen, J., Li, Y., Yang M., Farajzadeh, M., Pan, C., Wayne, N. L., 2016: Actions of bisphenol A and bisphenol S on the reproductive neuroendocrine sistem during early development in zebrafish. *Endocrinology*, 157, 2, 636-647.
- Quan, Ch., Wang, C., Duan, P., Huang, W., Chen, W., Tang, S., Yang, K., 2017: Bisphenol A induces autophagy and apoptosis concurrently involving the Akt/mTOR pathway in testes of pubertal SD rats. *Environment Toxicology*, 32, 8, 1977-1989.
- Scarborough, P., Appleby, P. N., Mizdrak, A., 2014: Dietary greenhouse gas emissions of meat-eaters, fish-eaters, vegetarians and vegans in the UK. *Climatic Change*, 125, 2, 179–192.
- Scsukova, S., Rollerova, E., Bujnakova Mlynarcikova, A., 2016: Impact of endocrine disrupting chemicals on onset and development of female reproductive disorders and hormone-related cancer. *Reprod. Biol.* 16, 243-254.
- Shoeb, I., Masood, A., 2020: Acute and sub-acute bishphenol B exposures adversely affects perm count and quality in adolescent male mice. *Chemosphere*, 242, 4, 125286.
- Steffen, W., Richardson, K., Rockström, J., Cornell, S. E., Fetzer, I., Bennett, E. M., Folke, C., 2015: Planetary boundaries: Guiding human development on a changing planet. *Science*, 347, 6223.
- Stupka, R., Šprysl, M., Matoušek, V., Čítek, J., 2009a: Testy populací prasat – staniční testy. *Metodika, MZeČR, ČZU Praha, FAPPZ*, 18.
- Stupka, R., Šprysl, M., Čítek, J., 2009: Základy chovu prasat, ČZU Praha, Power Print, 43-82.
- Šprysl, M., Stupka, R., Matoušek, V., Čítek, J., 2009: Testy populací prasat – polní testy. *Metodika, MZeČR, ČZU Praha, FAPPZ*, 17.
- Tomza-Marciniak, A., Stepkowska, P., Kuba, J., Pilarczyk B., 2017. Effect of bisphenol A on reproductive processes: A review of *in vitro*, *in vivo* and ep, idemiological studies. *Toxicology*, 38, 51–80.

- Vela-Soria, F., Ballesteros, O., Zafra-Gómez, A., Ballesteros, L., Navalón, A., 2014: A multiclass method for the analysis of endocrine disrupting chemicals in human urine samples. Sample treatment by dispersive liquid-liquid microextraction. *Talanta*, 11, 129-209.
- Vrbík, K., Vavrouš, A., Pavloušková, J., Malý, M., Svačina, Š., Piecha, R., Lacinová, Z., Müllerová, D., Matějková, D., Mráz, M., 2016: Stanovení ftalátů a bisfenolu A a jejich metabolitů v různých typech materiálů. *Klinická biochemie a metabolismus*, 24, 45, 3, 153-159.
- Wang H, Tang Z, Liu ZH, Zeng F, Zhang J, Dang Z. 2022: Ten bisphenol analogs were abundantly found in swine and bovine urines collected from two Chinese farms: concentration profiles and risk evaluation. *Environmental Science and Pollution Research*. 2023 Jan;30(5):13407-13417.
- Wang, Q., Yang, H., Yang, M., Yu, Y., Yan, M., Zhou, L., Liu, X., Xiao, S., Yang, Y., Wang, Y., Zheng, L., Zhao, H., Li, Y., 2019: Toxic effects of bisphenol A on goldfish gonad development and the possible pathway of BPA disturbance in female and male fish reproduction. *Chemosphere*, 221, 235-245.
- Wang, X., Tang, N., Nakayama, S. F., Fan, P., Liu, Z., Zhang, J., Ouyang, F. 2020: Maternal urinary bisphenol A concentration and thyroid hormone levels of Chinese mothers and newborns by maternal body mass index. *Environmental Science and Pollution Research* (2020) 27:10939–10949.
- Wu, G., Song, D., Wei, Q., Xing, J., Shi, X., Shi, F., 2018: Melatonin mitigates bisphenol A – induced estradiol production and proliferation by porcine ovarian granulosa cells *in vitro*. *Animal Reproduction Science*, 192, 91-98.
- Zhuo, Y., Wang, J., Liu, H., Mou, D., Adebowale, T., Che, L., Fang, Z., Xu, S., Liu, G., Lin, Y., Lin, B., Feng, N., Al-Dhabi, A., Li, J., Duraipandiyan, V., Wu, D., 2018: Effects of maternal methyl donor on the pork characteristics of offspring pigs with prenatal exposure to bisphenol A. *Animal*, 12, 6, 1306-1315.
- Žalmanová, T., Hošková, K., Prokešová, Š., Nevoral, J., Ješeta, M., Benc, M., Yi, Y., Moravec, J., Močárýová, B., Martínková, S., Fontana, J., Elkalaf, M., Trnka, J., Žáková, J., Petr, J., 2023: The bisphenol S contamination level observed in human follicular fluid affects the development of porcine oocytes. *Research Gate. Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 4, 6, 11.



## 7 Seznam použitých zkratk a symbolů

$\Sigma$	suma
<i>a.m.</i>	ante mortem (před smrtí)
AMK	aminokyseliny
AMP	africký mor prasat
BP	bisfenoly
BPA	bisfenol A
DF	detekční frekvence, četnost naměřených hodnot/ celkový počet měření
DNA	deoxyribonukleová kyselina
ED	endokrinní disruptor
EFSA	European Food Safety Authority (Evropský úřad pro bezpečnost potravin)
FDA	U. S. Food and Drug Administration, (Úřad pro kontrolu potravin a léčiv)
FSH	folikulostimulační hormon
GMO	geneticky modifikované organismy
HACCP	Hazard Analysis and Critical Control Points (Systém analýzy rizika a stanovení kritických kontrolních bodů)
IGF-I	růstový faktor podobný inzulinu
IMT	intramuskulární tuk
ISK	inseminační a kontrolní stanice
ISO	mezinárodní organizace pro normalizaci
LH	luteinizační hormon
LOQ	limit of quantification, hladina zjistitelnosti
p	hladina významnosti
<i>p.p.</i>	post partum (po porodu)
PTFE/SIL	polytetrafluoretylen/silikon
QTL	lokus kvantitativního znaku, úsek DNA, který ovlivňuje kvantitativní znaky
RNA	ribonukleová kyselina
ROS	tvorba volných kyslíkových radikálů (oxidační stres)
TDI	denní tolerovatelný příjem
VM	vepřové maso
ŽP	životní prostředí
ŽV	živočišná výroba