

**MENDELOVA UNIVERZITA V BRNĚ
AGRONOMICKÁ FAKULTA**

DIPLOMOVÁ PRÁCE

BRNO 2017

EVA MUSILOVÁ



**Sledování obsahu ftalátů v obalech a jejich migrace
z obalů do masných výrobků**

Diplomová práce

Vedoucí práce:
prof. Ing. Alžběta Jarošová, Ph.D.

Vypracovala:
Bc. Eva Musilová

ZADÁNÍ PRÁCE

ČESTNÉ PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem práci: „Sledování obsahu ftalátů v obalech a jejich migrace z obalů do masných výrobků“ vypracovala samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a v souladu s platnou Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací.

Jsem si vědoma, že se na moji práci vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona.

Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněnými zájmy univerzity, a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu nákladů spojených se vznikem díla, a to až do jejich skutečné výše.

V Brně dne:.....

.....
podpis

PODĚKOVÁNÍ

Tímto bych chtěla poděkovat paní prof. Ing. Alžbetě Jarošové, Ph.D. za cenné rady a vstřícný přístup při vedení diplomové práce a dále paní Ing. Soni Bogdanovičové, Ph.D. za vstřícnost při konzultacích a odborné vedení při analýzách vzorků.

Děkuji také své rodině a přátelům za trpělivost a podporu během studia, zejména pak panu Mgr. Ondřeji Lalinskému za odborné vedení při statistickém zpracování dat a panu Mgr. Jakubu Kellarovi za korekturu a dohled při cizojazyčném překladu.

ABSTRAKT

Diplomová práce na téma „Sledování obsahu ftalátů v obalech a jejich migrace z obalů do masných výrobků“ se zabývá analýzou textilních barevně potišťovaných obalů určených k balení masných výrobků na obsah dibutylftalátu (DBP) a di-2-ethylhexylftalátu (DEHP) a monitorováním jejich migrace do modelových masných výrobků v průběhu skladování (osmadvacet dnů). Koncentrace DBP a DEHP v obalech dosahovala hodnot $24,0 \mu\text{g.dm}^{-2}$ a $103,3 \mu\text{g.dm}^{-2}$ původního vzorku. V díle masných výrobků nebyly tyto ftaláty detekovány. Po zabalení do obalů a skladování činila nejvyšší hodnota koncentrace DBP na konci této doby $11,1 \text{ mg.kg}^{-1}$ a koncentrace DEHP byla $28,2 \text{ mg.kg}^{-1}$ původního vzorku. Na základě průběžných výsledků měření lze s přibývajícím dobou skladování pozorovat trend rostoucí koncentrace těchto ftalátů v masných výrobcích, přičemž specifické migrační limity podle nařízení Komise (EU) č. 10/2011 o materiálech a předmětech z plastů určených pro styk s potravinami (pro DBP $0,3 \text{ mg.kg}^{-1}$ a pro DEHP $1,5 \text{ mg.kg}^{-1}$) byly v průběhu skladování překročeny u všech vzorků masných výrobků.

Klíčová slova: dibutylftalát, di-2-ethylhexylftalát, estery kyseliny ftalové, migrace, masné výrobky, obaly, doba skladování

ABSTRACT

This diploma thesis on the topic „Monitoring of phthalates content in packaging and their migration from the packaging to the meat products“ deals with analysis of textile colour-printed packaging intended for packaging of meats products to find out dibutylphthalate (DBP) and di-2-ethylhexylphthalate (DEHP) content and also deals with monitoring migration of these phthalates into model meat products during storage (for twenty-eight days). The values of concentration of DBP and DEHP in packaging reached $24.0 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$ and $103.3 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$ of the original sample. Sample of meat product was analyzed before packaging and no phthalates were detected. After packaging and storage the highest value of DBP concentration at the end of the storage period was $11,1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ and concentration of DEHP was $28,2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ of the original sample. Based on the results from measurements with increasing storage time increased concentrations of these substances in meat products. In accordance with the specific migration limits (for DBP $0,3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ and for DEHP $1,5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) mentioned in Commission Regulation (EU) no. 10/2011 on plastic materials and articles intended to come into contact with food have been exceeded in all samples of meat products during storage.

Key words: dibutylphthalate, di-2-ethylhexylphthalate, phthalic acid esters, migration, meat products, packaging, storage period

OBSAH

1	ÚVOD	10
2	CÍL PRÁCE	11
3	LITERÁRNÍ PŘEHLED	12
3.1	Obecná charakteristika esterů kyseliny ftalové	12
3.2	Fyzikálně-chemické vlastnosti esterů kyseliny ftalové	14
3.3	Estery kyseliny ftalové jako kontaminanty potravin z obalů	15
3.3.1	Potravinové kontaminanty z obalových materiálů.....	15
3.3.2	Obalové materiály, které mohou být zdrojem esterů kyseliny ftalové	19
3.3.3	Obsah ftalátů v potravinách	21
3.3.4	Ftaláty v životním prostředí	23
3.4	Zdravotní vlivy esterů kyseliny ftalové na lidský organismus	24
3.4.1	Expozice a biomonitoring ftalátů.....	25
3.4.2	Metabolismus a toxikokinetika ftalátů.....	26
3.4.3	Akutní toxicita ftalátů	27
3.4.4	Chronická toxicita ftalátů.....	30
3.5	Legislativní omezení týkající se ftalátů	35
3.6	Substituty ftalátů v obalových materiálech	37
3.6.1	Přehled alternativních plastifikátorů	37
3.6.2	Fyzikálně-chemické vlastnosti alternativních plastifikátorů	39
3.6.3	Toxikologické informace o alternativních plastifikátorech	40
3.7	Možnosti analytického stanovení ftalátů v potravinách	40
3.7.1	Extrakce	41
3.7.2	Purifikace	42
3.7.3	Separace a detekce	43
3.7.4	Riziko kontaminace vzorků	44

4	MATERIÁL A METODY	46
4.1	Materiál	46
4.1.1	Chemikálie	46
4.1.2	Přístroje a pomůcky	46
4.1.3	Obalový materiál.....	47
4.1.4	Dílo a masné výrobky	47
4.2	Metody	48
4.2.1	Stanovení ftalátů v obalových materiálech.....	48
4.2.2	Stanovení ftalátů v díle a masných výrobcích	49
4.2.3	Statistické zpracování dat	50
5	VÝSLEDKY A DISKUZE	52
5.1	Koncentrace ftalátů v obalových materiálech	52
5.2	Koncentrace ftalátů v díle a masných výrobcích	56
5.2.1	Migrace DBP z obalů do masných výrobků v průběhu skladování.....	61
5.2.2	Migrace DEHP z obalů do masných výrobků v průběhu skladování	62
5.2.3	Diskuze	63
6	ZÁVĚR	66
7	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	69
8	SEZNAM TABULEK	76
9	SEZNAM OBRÁZKŮ	77
10	SEZNAM ZKRATEK	78

1 ÚVOD

Estery kyseliny 1,2-benzendikarboxylové (tzv. ftaláty) jsou rozličnou skupinou látek majících široké využití v různých průmyslových aplikacích, díky čemuž se staly ubikvitárními kontaminanty prostředí. Jejich expozice (skrže ingesci, inhalaci či kontaktem s pokožkou) má negativní dopady na lidské zdraví, proto jsou v současné době v popředí zájmu různých toxikologických výzkumů a studií. Dle nich působí ftaláty toxicky na reprodukční systém a také ovlivňují ten endokrinní, přičemž mohou mj. hrát roli v procesu karcinogeneze a teratogeneze u zvířat. Nejčastěji se vyskytujícími a zároveň nejtoxičtějšími jsou dibutylftalát (DBP) a di-2-ethylhexylftalát (DEHP), které poté budou předmětem analýzy masných výrobků, protože nejvýznamnějším zdrojem expozice ftaláty jsou potraviny.

Ftaláty jsou většinou bezbarvé kapaliny málo rozpustné ve vodě, ale poměrně dobře rozpustné v organických rozpouštědlech či látkách tukové povahy. Používány jsou jako aditiva (např. pro stabilizaci potiskových barev) a zejména jako plastifikátory v plastových materiálech, ze kterých se následně mohou vyrábět také potravinářské obaly. Vzhledem k tomu, že ftaláty nejsou chemicky vázány k polymerní matici, ze které jsou obaly vyrobeny, mohou se z ní uvolňovat a migrovat do potravin či se vypařovat. Migrace ftalátů z obalů do potravin je legislativně omezena nařízením Komise (EU) č. 10/2011, o materiálech a předmětech z plastů určených pro styk s potravinami. Toto nařízení stanovuje, že se z obalů nesmí uvolňovat jejich vlastní složky v množství přesahujícím celkový migrační limit, což je nejvýše $10 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-2}$ povrchu, který je ve styku s potravinou, nebo nejvýše $60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ potraviny nebo potravinového simulantu. Předpis rovněž definuje nejvyšší povolené množství určité látky přecházející z obalu do potraviny nebo potravinového simulantu – tzv. specifický migrační limit, který pro DBP činí $0,3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ a pro DEHP $1,5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$.

2 CÍL PRÁCE

Cílem diplomové práce na téma „Sledování obsahu ftalátů v obalech a jejich migrace z obalů do masných výrobků“ bylo:

- zpracovat literární rešerši podávající informace o esterech kyseliny ftalové (tzv. ftalátech) z hlediska jejich vlastností, výskytu, zdravotních účinků na lidský organismus, dále uvést možnosti jejich nahrazení a analytického stanovení, a legislativní souvislosti;
- stanovit obsah dibutylftalátu (DBP) a di-2-ethylhexylftalátu (DEHP) v textilních barevných obalech a porovnat, zda jsou v souladu s legislativními limity
- vyrobit modelový masný výrobek v daném počtu vzorků a stanovit výše zmíněné ftaláty v díle před naražením do obalů;
- do příslušných textilních obalů naplnit modelový masný výrobek, skladovat jej po danou dobu a následně analyzovat na obsah DBP a DEHP v příslušných časových intervalech;
- zpracováním výsledků analýz zjistit, zda dochází k uvolňování DBP a DEHP z obalů a migraci do masných výrobků a zda existuje závislost koncentrace těchto ftalátů ve vzorcích na době jejich skladování.

3 LITERÁRNÍ PŘEHLED

3.1 Obecná charakteristika esterů kyseliny ftalové

Ftaláty (PAEs) jsou dialkyl nebo alkyl/aryl estery kyseliny ftalové (benzen-1,2-dikarboxylová kyselina) získávané synteticky esterifikací ftalové kyseliny různými alkoholy. V závislosti na použitých alkoholech (jejich délce a větvení) jsou získávány molekuly s různými fyzikálně-chemickými vlastnostmi (Latini, 2005; Ventrice et al., 2013).

Ftaláty lze rozdělit do tří skupin dle molekulové hmotnosti (Staples, 2003):

- *ftaláty s vysokou molekulovou hmotností* (HMWPE) – např. diisononylftalát (DINP), diisodecylftalát (DIDP) jsou plastifikátory v polyvinylchloridových (PVC) obalech, zdravotnických potřebách aj.; tvoří až 80 % ftalátů používaných v Evropě (Staples, 2003; Ventrice et al., 2013)
- *ftaláty se střední molekulovou hmotností* (MMWPE) – působí jako rozpouštědla v některých PVC produktech (ale pouze v kombinaci s jinými plastifikátory) jako jsou podlahy, nebo mohou být užity jako rozpouštědla či plastifikátory v kosmetickém či farmaceutickém průmyslu (Staples, 2003)
- *ftaláty s nízkou molekulovou hmotností* (LMWPE) – např. dibutylftalát (DBP), benzylbutylftalát (BBP), bis(2-ethylhexyl)ftalát (DEHP); tyto jsou klasifikovány jako velice nebezpečné a jsou používány jako rozpouštědla v kosmetice nebo jako plastifikátory polymerů (Staples, 2003; Ventrice et al., 2013)

Estery kyseliny ftalové jsou široce využívány jako filmotvorné látky, rozpouštědla a denaturační činidla, zejména však jako změkčovadla, jež činí plasty pružnější, pevnější, průhlednější a odolnější, již od 30. let 20. století. Většina z milionů tun každoročně vyráběných ftalátů, zvláště DEHP a DINP, je využívána pro laminování polyvinylchloridu (PVC). Následkem tohoto širokého a masivního využívání PAEs je jejich ubikvitárnost v rozvinutém světě (Ventrice et al., 2013; Yang et al., 2015), což je potenciálním problémem při stanovení jejich obsahu ve vzorcích, neboť ftaláty jsou přítomny nejen v ovzduší laboratoří, ale také v používaných pomůckách – mohou tedy představovat kontaminaci (Guo a Kannan, 2012).

Nejpopulárnějším plastifikátorem je di-2-ethylhexylftalát, který představuje až 50% podíl světové produkce ftalátů, následovaný dibutylftalátem, diisodecylftalátem a diisononylftalátem. Ftaláty bývají v plastech nahrazovány adipáty, jako je např. di-2-

ethylhexyladipát (DEHA) a diisononyladipát (DINA), které mají rovněž plastifikační schopnosti (Cao, 2010; Hurst a Waxman, 2003; Yang et al., 2015).

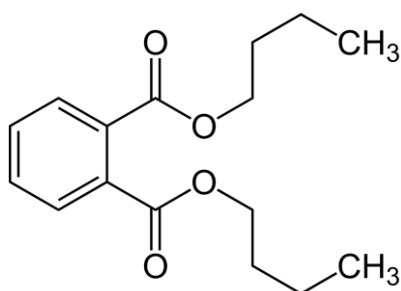
Obsah PAEs v plastových materiálech, jako jsou polyvinylchlorid (PVC), polyvinylacetát (PVA) a polyethylen (PE), kolísá od 10 až po 60 % hmotnosti. Tyto plasty jsou používány pro balení a zpracování nejen potravin (Yang et al., 2015). V potravinách se pak obvykle jejich obsah pohybuje ve velice nízkých koncentracích v rozmezí 0,1 – 100 ng.g⁻¹ potravin (Guo a Kannan, 2012).

Vzhledem k tomu, že PAEs nejsou chemicky vázány (vazba není kovalentní) na plastové matrice, mají tendenci se uvolňovat, vypařovat a migrovat do vzduchu, podzemních vod, půdy a poté skrze rostliny a živočichy vstupovat do potravinového řetězce. Vedle přirozených zdrojů se PAEs do potravin obecně dostávají z dalších dvou zdrojů – prvním je jejich ilegální použití jako potravinových aditiv (pro jejich emulgační schopnosti a korozivzdornost) a druhým je jejich migrace z obalového materiálu (zejm. do tučných potravin; ftaláty jsou totiž lipofilní) (Latini, 2005; Serrano et al., 2014; Yang et al., 2015).

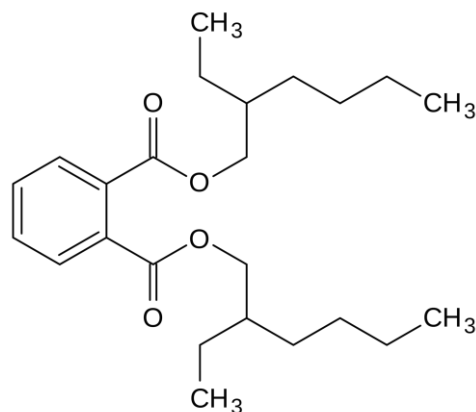
Přehled významných esterů kyseliny ftalové

Zde jsou uvedeny ftaláty významné jak z průmyslového, tak ze zdravotního hlediska – tj. potenciálně rizikové ftaláty.

- dimethylftalát (DMP)
- diethylftalát (DEP)
- dibutylftalát (DBP) – viz Obr. 2
- diisobutylftalát (DIBP)
- bis(2-ethylhexyl)ftalát či di-2-ethylhexylftalát (DEHP) – viz Obr. 1
- benzylbutylftalát (BBP)
- diisoktylftalát (DIOP)
- diisononylftalát (DINP)
- diisodecylftalát (DIDP)



Obr. 2 Struktura DBP (Wikipedie, 2015)



Obr. 1 Struktura DEHP (Wikipedie, 2015)

3.2 Fyzikálně-chemické vlastnosti esterů kyseliny ftalové

Většina ftalátů jsou téměř bezbarvé, za běžných teplot prostředí olejovité kapaliny bez zápachu. Diestery, jako jsou DMP a DEP, získané z alkoholů o nízké molekulové hmotnosti jsou kapaliny nízké viskozity. S rostoucí délkou alkylových postranních řetězců viskozita ftalátů roste. Body varu jednotlivých PAEs se velice různí od 190 do 530 °C a body tání se pohybují od 5 do -58 °C. Při nízkých teplotách prostředí se tedy mohou vyskytovat v pevném skupenství (Staples, 2003; Yang et al., 2015).

S rostoucí délkou alkylového řetězce se obecně snižuje rozpustnost PAEs ve vodě. Tato negativní korelace však platí zejména pro LMWPE (jako je DMP, DEP, DBP a BBP). Rozpustnost ve vodě lze posuzovat dle tzv. rozdělovacího koeficientu oktanol-voda (K_{ow}), tj. poměru rovnovážných koncentrací rozpuštěné látky ve dvoufázovém systému dvou omezeně mísitelných rozpouštědel n-oktanolu a vody (Yang et al., 2015). Největší hydrofilitu a tedy i rozpustnost ve vodě má ze všech esterů DMP. Estery s deseti, jedenácti a třinácti uhlíkovými atomy vykazují naopak nejvyšší hydrofobitu a tedy nejnižší rozpustnost ve vodě (méně než tisícina mg.l^{-1}) (Staples, 2003). $\log K_{ow}$ roste s prodlužujícím se alkylovým řetězcem, což indikuje ještě nižší hydrofilitu, než by se dalo předpokládat pouze na základě K_{ow} (Yang et al., 2015). Podobný klesající trend rozpustnosti ve vodě je pozorován při zvyšujícím se molárním objemu ftalátů. Dalším obecným pravidlem je vyšší rozpustnost ve vodě u molekul ftalátů s rozvětveným řetězcem oproti těm s přímým řetězcem. Většina dialkylftalátů je pak, kromě vody, rozpustná v běžných organických rozpouštědlech jako je diethylether, benzen, petrolether, chloroform a toluen (Staples, 2003). Rozpustnost PAEs ve vodě ovlivňuje

nejen bioakumulaci, biodegradační potenciál a toxicitu pro vodní prostředí, ale také jejich distribuci v potravinách a organismech (Yang et al., 2015).

Za určitých podmínek může dojít k hydrolyze PAEs – a sice v přítomnosti produktů alkoholů a kyselin. V acidických podmínkách probíhá reakce dosti omezeně a v neutrálním prostředí je téměř zanedbatelná. Naopak v alkalickém médiu probíhá hydrolyza o několik řádů rychleji než v kyselém prostředí, přičemž se její rychlost a rozsah snižuje s rostoucí délkou postranního uhlíkatého řetězce, jež také koresponduje se zvyšujícími se poločasy rozkladu PAEs (př. BBP více než 100 dní, DEHP až 2000 let) (Yang et al., 2015).

Těkavost sloučeniny a její schopnost se uvolňovat do okolního prostředí charakterizuje hodnota tlaku par. U PAEs laboratorní experimenty ukázaly zdánlivě klesající trend hodnot tlaků par s prodlužujícím se alkylovým řetězcem, příp. s rostoucím molárním objemem (Staples, 2003; Yang et al., 2015).

3.3 Estery kyseliny ftalové jako kontaminanty potravin z obalů

3.3.1 Potravinové kontaminanty z obalových materiálů

Náhodné či neúmyslné potravinové kontaminanty jsou látky, které jsou v potravinách přítomny, ale nebyly do nich záměrně přidány, přičemž mohou změnit vlastnosti potravin. Tyto látky se uvolněním do potravin nepřímo dostávají do potravinového řetězce. Některé z těchto látek mohou vážně ohrozit lidské zdraví. Mnohé z nich mohou interagovat se složkami potravin, zvláště s lipidy. Většina těchto substancí je přirozeně rozložena nebo z potravin nějakým způsobem odstraněna, ovšem reziduální množství se často i nadále v potravinách vyskytují (Deshpande, 2002).

Náhodné kontaminanty se do potravin mohou dostat z několika zdrojů. Prvním je skrze kontaminovanou půdu a zdroje vody především těžkými kovy, radioizotopy, pesticidy a jinými toxickými průmyslovými látkami. Druhým zdrojem může být výrobní proces, kde se na kontaminaci podílí látky použité v obalových materiálech (monomery, stabilizátory polymerů, plastifikátory aj.) a součásti použitých zařízení. Posledním z hlavních zdrojů jsou rostliny, na něž byly aplikovány pesticidy, a zvířata, která byla ošetřena veterinárními léky, hormony či jim byla přidána do krmiva jistá aditiva (Deshpande, 2002).

Balení potravin je důležitou cestou k uchování (skladování) potravin při různých teplotách, k prodloužení doby použitelnosti (trvanlivosti a spotřeby) a působí jako

ochrana potravin před vnějšími vlivy, jako je vzduch, světlo, vlhkost aj., které mohou snižovat či měnit jejich kvalitu (Fasano et al., 2012). Obalové materiály jsou obecně v blízkém kontaktu s potravinou, kterou obalují, často po dlouhou dobu a i při vyšších teplotách. Vzhledem k tomu, že takovéto podmínky představují riziko migrace složek obalů do potravin, mnoho států přijalo opatření ve formě legislativních předpisů či stanovení správné výrobní praxe pro kontrolu obalových materiálů, aby pokud možno nedošlo k ohrožení zdraví konzumentů (Deshpande, 2002).

V souvislosti s obaly potravin je vhodné zmínit nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1935/2004 o materiálech a předmětech určených pro styk s potravinami, které vychází ze zásady, že jakýkoliv materiál nebo předmět určený pro styk s potravinami musí být stabilní natolik, aby za obvyklých nebo předvídatelných podmínek použití nedocházelo k přechodu jeho složek do potravin v množstvích, která by mohla působit nepříznivě na lidské zdraví nebo způsobit nepřijatelnou změnu týkající se složení potravin nebo zhoršení jejich organoleptických vlastností. Každý materiál nebo předmět určený pro styk s potravinami musí být opatřen prohlášením o shodě, přičemž musí být k dispozici dokumentace prokazující tuto shodu (Nařízení EP a Rady (ES) 1935/2004).

Dalším legislativním předpisem, který se týká potravinářských obalů je nařízení Komise (EU) č. 10/2011 o materiálech a předmětech z plastů určených pro styk s potravinami. Nařízení se týká několika kategorií materiálů: materiálů a předmětů tvořených výhradně plasty, vícevrstevných plastových materiálů spojených adhezivními látkami, jednovrstevných či vícevrstevných plastových materiálů s povrchovou úpravou a potiskem, plastových částí těsnění víček a uzávěrů a plastových vrstev v předmětech z více materiálů (Nařízení Komise (EU) 10/2011).

V tomto předpisu jsou uvedeny rovněž definice některých důležitých pojmů – celkový migrační limit (nejvýše 10 mg na 1 dm² povrchu, který je ve styku s potravinou; u materiálů ve styku s potravinami pro kojence a malé děti nejvýše 60 mg.kg⁻¹ simulantu), simulant potravin, specifický migrační limit a celkový specifický migrační limit (Nařízení Komise (EU) 10/2011).

Při výrobě plastových vrstev je povoleno záměrně používat jen látky uvedené v seznamu povolených látek Unie (v příloze I tohoto nařízení). Těmito látkami jsou monomery či jiné výchozí látky, přísady (mimo barviv) a pomocné látky (kromě rozpouštědel), přičemž žádná z nich nesmí být klasifikována jako mutagenní, karcinogenní nebo toxická pro reprodukci (Nařízení Komise (EU) 10/2011).

Ačkoli žádný z materiálů používaných v obalových materiálech není skutečně inertní, potřeba opatření a kontrol se zvýšila po rozšíření obalů z plastů, které nahradily dříve používané sklo a kovy (Deshpande, 2002). Plasty poskytují bezpečnou a pohodlnou možnost primárního balení potravin. Existují různé typy plastů, přičemž každý z nich má specifické vlastnosti a použití v potravinářském průmyslu, ku příkladu polykarbonát (vysoko a nízkodenzitní), polyethylen, styren, polypropylen atd. Tyto plasty jsou vyráběny z různých polymerů, kde jsou pro zlepšení elasticity, flexibility, barvy, odolnosti, tvrdosti aj. vlastností používána aditiva. Plastové složky i aditiva mohou v průběhu zpracování či skladování (a jiné manipulace), v důsledku zvýšení teploty či mechanickým namáháním, migrovat z obalu do potravin nebo nápoje (Fasano et al., 2012).

Kontaminanty z plastových obalových materiálů lze rozdělit do dvou základních skupin:

- *polymerizační rezidua* zahrnující monomery, oligomery (s molekulovou hmotností do 200), katalyzátory (zejména soli kovů a organických peroxidů), rozpouštědla, emulgátory a zvlhčovačla, nečistoty ze surovin, inhibitory nebo produkty rozkladných a vedlejších reakcí;
- *látky přidávané během zpracování a dokončování výroby obalů*, jako jsou antioxidanty, antiblokační činidla, antistatická činidla, tepelné a světelné stabilizátory, změkčovačla (plastifikátory), maziva, pigmenty, plnidla aj.

Ve srovnání s první skupinou kontaminantů, látky záměrně přidávané pro změnu vlastností polymerů se v konečném produktu vyskytují ve větších množstvích a jejich používání by mělo být pod přísným dohledem. Míra kontroly nad obalovým materiálem se liší dle jednotlivých států po celém světě. Mnoho států má pro zajištění ochrany zdraví konzumentů ve své legislativě zakotveny povinné migrační a extrakční testy finálních obalových materiálů (Deshpande, 2002).

K posouzení rizika kontaminace z obalových materiálů je nezbytná znalost dvou klíčových informací: nebezpečí nebo vlastní toxicity látky a známé či odhadnuté úrovně expozice u lidí. Úroveň migrace látek z obalového materiálu závisí na několika faktorech, přičemž mezi nejdůležitější patří:

- koncentrace kontaminantu či jeho reziduí v obalovém materiálu,
- tloušťka materiálu,
- teplota prostředí,

- doba kontaktu obalu s potravinou,
- výše mobility dané látky v obalu daná interakcemi s dalšími složkami materiálu,
- typ potravin, s níž je obal v kontaktu (suchá, vlhká, s obsahem tuku, kyselá, s obsahem alkoholu aj.),
- rozpustnost látky v dané potravíně (Deshpande, 2002).

Látky migrující z obalových materiálů mohou v potravíně způsobit nežádoucí změnu chuti nebo vůně, nebo mohou být potenciálně toxické. Pro stanovení detekčních limitů mohou být potřebná data získávána buď přímou analýzou dané potravin, která byla v kontaktu s obalem, či nepřímo – stanovením migrujících látek za použití potravinových simulantů. V tomto ohledu je nutno zajistit správnost analytického postupu (potvrzením chemické identity migrujících látek, vyloučením interferencí a kontaminace v průběhu stanovení atd.) a také vhodnou citlivost metody a přiměřené detekční limity umožňující odhad adekvátních hodnot příjmu konkrétních migrujících látek (Deshpande, 2002).

Nepřímé testování spočívá nejprve v expozici obalového materiálu potravinovému simulantu s předepsaným složením za specifických podmínek (daný poměr expozice povrchu ku objemu a poměr času a teploty), které by měly odpovídat zamýšlenému konečnému použití spotřebitelem. Poté se použitý potravinový simulant testuje na obsah migrujících složek z obalového materiálu. Potravinovými simulanty jsou látky sloužící jako náhražky pro potraviny kyselé, s vyšším obsahem tuku, alkoholu a vody (Deshpande, 2002).

V příloze III nařízení Komise (EU) č. 10/2011 jsou specifikovány jednotlivé potravinové simulanty a jejich použití při migračních zkouškách. V seznamu simulantů jsou ethanol s 10 % obj. jako simulant s označením A, ethanol s 20 % obj. jako C, ethanol s 50 % obj. jako D₁, 3% kyselina octová jako simulant B, jakýkoli rostlinný olej (obsahující méně než 1 % nezmýdelnitelné hmoty) pod označením D₂ a poly(2,6-difenyl)-1,4-fenylenoxid jako simulant E. Pro potraviny lipofilního charakteru jsou určeny simulanty D₁ (emulze oleje ve vodě) a D₂ (volný povrchový tuk) (Nařízení Komise (EU) 10/2011). Obvykle se ale obecně uvádí čtyři základní potravinové simulanty – destilovaná voda, roztok kyseliny octové, roztok ethanolu a rektifikovaný olivový olej. Nutno ještě zmínit, že u posledně jmenovaného simulantu se k výsledkům analýz připočítává ještě korekční faktor, protože bylo zjištěno, že tento simulant má větší extrakční kapacitu než

samotná tučná potravina. Informace získané z migračních testů mohou pak být použity pro odhad dietární expozice dané látky (Deshpande, 2002).

3.3.2 Obalové materiály, které mohou být zdrojem esterů kyseliny ftalové

Ke kontaminaci potravin ftaláty může dojít během jejich výroby, zpracování, balení do obalů, skladování, transportu, ale i při přípravě před konzumací. Nejnovější studie ukázaly, že expozice DEHP u lidí se podstatně snížila, jestliže byl limitován kontakt přijímaných potravin s obaly (Guo a Kannan, 2012; Schechter et al., 2013).

Mezi nejčastější typy obalových materiálů, které mohou být zdrojem kontaminace PAEs, patří

- 1) textilní,
- 2) recyklované,
- 3) plastové.

Textilní obaly

U tohoto typu obalů jde spíše o kontaminaci ftaláty z potiskových barev u potištěných materiálů, případně z textilií potažených vrstvami obsahujícími ftaláty (Deshpande, 2002).

Změkčovadla, jako jsou DBP a DEHP, jsou součástí potiskových barevných směsí (až 8 %) pro zlepšení povrchové adheze a tím i flexibility a odolnosti potisku. V závislosti na obalovém materiálu se poté i vnější potisk obalu potraviny může stát zdrojem ftalátů. Nejnovější současné technologie (např. systémy s UV zářením) však už přinášejí možnost použití barevných potiskových směsí s minimem či nulovým obsahem ftalátů (Cao, 2010).

Recyklované materiály

Ve srovnání s recyklovanými relativně inertními materiály (sklo, plechovky) s sebou recyklované plasty (a také papír) přinášejí mnoho problémů z hlediska používání pro balení potravin. Recyklují se různé plasty, ve kterých mohly být skladovány různé látky představující potenciální kontaminaci (Deshpande, 2002).

Plastové obaly a materiály používané k jejich výrobě

Jako nejrozšířenější moderní typ obalového materiálu přinášejí mnoho výhod, ale i rizik v podobě mnoha chemických látek, které se mohou do potravin balených v plastových

obalech uvolnit. Migrace aditiv používaných při výrobě plastových obalů vyvolává největší obavy týkající se bezpečnosti potravin (Deshpande, 2002).

Jako zdroje ftalátů v potravinách byly identifikovány mj. obaly z měkčených PVC materiálů – balicí folie, PVC víčka u sklenic, těsnění u víček, potrubí pro dojení mléka, ale třeba i barvy používané k tištění na obaly, lepidla, pásové dopravníky a další (Serrano et al., 2014; Schechter et al., 2013). Potraviny mohou být rovněž kontaminovány ftaláty z PVC rukavic používaných pracovníky ve výrobě či prvovýrobě pro manipulaci s nimi (Guo a Kannan, 2012).

Potrubí z PVC je běžně užíváno při dojení a transportu mléka mezi sběrnými a skladovacími nádržemi na farmách a ve zpracovatelských závodech (mlékárnách). Stejně jako v jiných PVC produktech i zde mohou být při výrobě používány ftaláty (zejm. DEHP) jako plastifikátory. Jak již bylo zmíněno v kapitole týkající se obecné charakteristiky, ftaláty nejsou kovalentně vázány k polymeru a mohou tedy migrovat do mléka, a to zejména při vyšších teplotách (Cao, 2010).

Tenká potravinářská folie je široce využívána pro balení velkého množství a druhů potravin. Na trhu je dostupných několik typů filmů – dle chemického základu existují PVC folie, polyvinylidenchloridové (PVDC) folie, polyethylenové (PE) folie, celofán, celulozoacetátové folie a další. Plastifikátory ve foliích rovněž nejsou chemicky vázány a mohou se uvolňovat do jimi zabalených potravin, se kterými jsou v kontaktu (zvláště pokud se jedná o potraviny s vyšším obsahem tuku) (Cao, 2010).

Měkčené PVC se běžně používá jako těsnění v uzávěrech na lemu sklenic. V různých státech se používají různé plastifikátory, přičemž mezi nimi mohou být i ftaláty. Studie materiálů používaných pro styk s potravinami (FCM) provedená Evropským úřadem pro bezpečnost potravin (EFSA) prokázala, že používání PVC těsnění pro kovová víčka obalů importovaných potravin má souvislost s vysokými obsahy ftalátů v těchto potravinách. Jejich koncentrace mohou dosahovat 20 až 825 mg.kg⁻¹ pro DEHP, 15 až 150 mg.kg⁻¹ pro DINP, 55 až 380 mg.kg⁻¹ pro DIDP v potravinách s vyšším obsahem tuku (Cao, 2010; Rodgers et al., 2014).

Materiál, jehož podstatou je polyethyltereftalát (PET), vzniká reakcí kyseliny tereftalové a ethylenglykolu, případně mohou být pro zisk lahví se silnějšími stěnami do procesu zakomponovány také látky jako je kyselina isoftalová a dimethyltereftalát. Používán je zejména pro výrobu tzv. PET lahví (pro balení vody, nápojů aj. potravin). Reakce při polymerizaci je nekompletní a z materiálu se mohou uvolňovat rezidua monomerů. Je však nutno zdůraznit, že výsledný polymer i rezidua monomerů

(tereftalová a isoftalová kyselina) mají ve srovnání s pojednávanými ftaláty (estery kyseliny ftalové) z chemického hlediska odlišné struktury. V prvním případě jde o para a meta-ftalovou kyselinu, v druhém o estery ortho-ftalové kyseliny (Cao, 2010).

V japonské studii z roku 2001 byl zjištěn vyšší obsah ftalátů v potravinách, které byly připravovány za použití PVC rukavic než v těch, při jejichž přípravě nebyly rukavice použity. Jednorázové rukavice z PVC používané při přípravě jídel jsou tedy považovány za další možný zdroj DEHP, kterého obsahují poměrně velké množství (Cao, 2010; Heudorf et al., 2007).

Další obalové materiály

Přítomnost ftalátů byla rovněž zjištěna v různých papírových obalech a kartonech. Hlavními zdroji jsou ale v těchto materiálech opět potiskové barvy a lepidla, která mohou obsahovat až 0,5 % DBP. Papíry a kartony vyráběné z recyklovaných materiálů mohou být taktéž zatíženy obsahem ftalátů z předchozích materiálů, z nichž nebyly při recyklaci dokonale odstraněny potisky a lepidla (Cao, 2010).

Také při výrobě hliníkových folií s papírovou vrstvou je používáno lepidlo pro spojení hliníkové a papírové části. Na povrch se ještě může aplikovat speciální vrstva pro zvýšení odolnosti proti otěru a zlepšení tiskařských vlastností. Tato vrstva, většinou plastová, může také obsahovat ftaláty (Cao, 2010).

3.3.3 Obsah ftalátů v potravinách

V přehledu studií zabývajících se stanovením obsahu ftalátů v potravinách byl sledován obsah DEHP, DINP, DIDP, DMP, DEP, DBP a DOP ve vzorcích různých potravin – masa, tuků a olejů, mléka a mléčných výrobků (smetana, sýry, jogurty), vajec, produktů rybolovu, obilných výrobků (těstoviny, rýže, chléb), ovoce, zeleniny, koření, nápojů a vody (Serrano et al., 2014).

Ve vzorcích masa byly zastoupeny hovězí, drůbeží a vepřové maso, příp. jiné druhy masa. Vzorky drůbežího masa obsahovaly všechny výše zmíněné ftaláty kromě DIDP. Více než polovina měření ukázala na obsah DEHP vyšší než $300 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, zatímco hodnoty koncentrací ostatních zjišťovaných ftalátů byly nízké. Ve srovnání s ostatními druhy masa, byl obsah DEHP v hovězím mase proměnlivý a pohyboval se v rozmezí od hodnot srovnatelných s detekčními limity až po $1100 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$. Ve vepřovém mase byla zjištěna ve všech vzorcích detekovatelná množství DEHP, avšak jen v několika případech se hodnoty blížily limitní hranici $300 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$. Při analýze směsných vzorků masa (hovězí,

drůbeží, vepřové a jiná masa) byla průměrná koncentrace DEHP poměrně vysoká (175,8 – 758,3 $\mu\text{g.kg}^{-1}$). Ostatní ftaláty byly ve směsných vzorcích přítomny pouze v nízkých koncentracích (Serrano et al., 2014). V jiné studii byly rovněž analyzovány vzorky masa, přičemž nejvyšší koncentrace DEHP (300 ng.g^{-1}) byla ve vepřovém mase. U masných výrobků činily koncentrace DBP průměrně 0,7 ng.g^{-1} a koncentrace DEHP 101,8 ng.g^{-1} , přičemž z individuálních vzorků byl např. v šunce detekován DEHP v množství 1,158 ng.g^{-1} (Schechter et al., 2013).

Při analýze tuků (včetně másla, margarínů a sádla) a olejů byla detekována přítomnost všech zjišťovaných ftalátů. Přes polovina vzorků obsahovala DEHP v koncentracích vysoko nad migračními limitními hodnotami (404 – 5591,7 $\mu\text{g.kg}^{-1}$). Hodnoty pro DBP a BBP dosahovaly hodnot až 3287, a 11083 $\mu\text{g.kg}^{-1}$. Další ftaláty byly přítomny pouze v nízkých koncentracích (Serrano et al., 2014). V jiné studii byl zjištěn poměrně vysoký obsah DEHP ve vzorcích olivového oleje, který činil 300 ng.g^{-1} (Schechter et al., 2013).

Co se týče mléčných výrobků – v žádném ze vzorků smetany nebyly detekovány DEP, DMP, DOP, DINP a DIDP, avšak byly zjištěny vysoké koncentrace DEHP, které byly v rozmezí 413,1 do 1300 $\mu\text{g.kg}^{-1}$. Ostatní ftaláty byly přítomny pouze v nízkých koncentracích. Ve vzorcích sýrů byly detekovány všechny ftaláty, vyjma DOP a DIDP, přičemž hodnoty koncentrace DEHP byly v rozmezí od 139,2 do 2270,6 $\mu\text{g.kg}^{-1}$. Obsah DEHP se ve vzorcích mražených krémů blížil hranici 300 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, přičemž některé hodnoty tento limit překračovaly. Nízké koncentrace ftalátů byly zjištěny v jogurtech a mléku. Ve vzorcích jogurtů byl zjištěn pouze výskyt DEHP, BBP a DMP, přičemž dva posledně jmenované byly přítomny v koncentracích od detekčního limitu po 8,4 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ a od detekčního limitu po 11,7 $\mu\text{g.kg}^{-1}$. V mléce byly kromě DINP a DIDP detekovány všechny ostatní zjišťované ftaláty, a to v koncentracích nižších než 50 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (Serrano et al., 2014).

Obilné produkty jako těstoviny a rýže byly konzistentně kontaminovány nízkými koncentracemi všech zmíněných ftalátů, které u všech vzorků byly detekovány. Všechny tyto ftaláty vyjma DINP a DIDP byly také nalezeny ve vzorcích chleba a pečiva. Nejvyšší zde byly obsahy DBP a DEHP, jehož hodnoty se u několika málo vzorků blížily 300 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, případně jej i překročily (Serrano et al., 2014). Další studie stanovila obsah DEP ve vzorcích chleba na 78,8 ng.g^{-1} (Schechter et al., 2013).

V ovoci a zelenině byly obecně v přehledu studií zjištěny nízké koncentrace ftalátů. DINP a DIDP nebyly ve vzorcích detekovány. Koncentrace DEP se v čerstvé zelenině

pohybovala mezi limitem detekce a $9 \mu\text{g.kg}^{-1}$, v ovoci od limitu detekce k $48,1 \mu\text{g.kg}^{-1}$. Hodnoty koncentrací DMP byly mezi $10,3$ až $13,5 \mu\text{g.kg}^{-1}$ v ovoci. Obsah ftalátů v konzervované zelenině a ovoci byl srovnatelný s obsahem v čerstvých produktech. Avšak zelenina a ovoce ve sklenicích obsahovala výrazně více ftalátů ($490,6 \mu\text{g.kg}^{-1}$ u nakládaných okurek, $181,7 \mu\text{g.kg}^{-1}$ u džemů) než čerstvá produkce (Serrano et al., 2014).

Jako celek mají nápoje a voda obecně nízký obsah ftalátů. Nejvyšší koncentrace byla zjištěna pro DBP v pivě ($155,8 \mu\text{g.kg}^{-1}$) a pro DEHP v džusu ($183 \mu\text{g.kg}^{-1}$). Balená voda obsahovala nejvýše $12 \mu\text{g.kg}^{-1}$ DEHP. Obsah ftalátů v produktech rybolovu je obecně nízký, avšak koncentrace DEHP jsou variabilní od $13 \mu\text{g.kg}^{-1}$ u evropských produktů rybolovu až po $928,6 \mu\text{g.kg}^{-1}$ u kanadských mražených produktů rybolovu. V koření dosahovala nejvyšší koncentrace DEHP $2,6 \mu\text{g.kg}^{-1}$. Obsahy DBP a BBP ovšem také v některých vzorcích koření překročily migrační limit $300 \mu\text{g.kg}^{-1}$. Ve vzorcích vajec byly ftaláty rovněž v nízkých koncentracích, přičemž DOP, DINP a DIDP nebyly přítomny vůbec (Serrano et al., 2014). Cao (2010) uvádí, že dominantním (ne-li jediným) zdrojem kontaminace vody balené v plastových lahvích je kontaminace životního prostředí, protože se ftaláty při výrobě plastových lahví pro balení vody nepoužívají a koncentrace ftalátů bývají v balených vodách velice nízké.

3.3.4 Ftaláty v životním prostředí

Vzhledem k vlastnostem ftalátů, vysokému objemu jejich produkce v minulosti a širokému využití (zejména ke změkčování PVC materiálů) jsou k nalezení v mnoha složkách životního prostředí, v nichž jsou nejčastěji detekovanými ftaláty DEHP a DBP. Odhad výskytu těchto významných polutantů je založen, kromě analýz, také na znalostech jejich fyzikálně-chemických vlastností (Peijnenburg a Struijs, 2006). K úniku ftalátů do prostředí dochází jak při jejich výrobě, tak při výrobě materiálů obsahujících ftaláty, dále při používání a likvidaci těchto materiálů (poměrně vysoký obsah v komunálním odpadu), kde ftaláty nejsou kovalentně chemicky vázány k základnímu polymeru a mohou se z něj tedy uvolňovat (Fromme et al., 2002; Velíšek a Hajšlová, 2009).

Protože tenze par ftalátů je téměř zanedbatelná, jejich vypařování do atmosféry je rovněž zanedbatelné. Vyšší koncentrace částic ftalátů ve vzduchu (až desítky mg.kg^{-1}) je pouze v blízkosti průmyslových závodů vyrábějících plasty a v uzavřených prostorech,

kde jsou umístěny materiály obsahující ftaláty (Fromme et al., 2002; Velíšek a Hajšlová, 2009).

Ve vodě se ftaláty rozpouštějí jen obtížně, přičemž existuje negativní korelace mezi jejich rozpustností ve vodě a rostoucí molekulovou hmotností. DEHP má schopnost vázat se na ve vodě rozpuštěné organické částice a kumulovat se na nich. Sedimenty mohou obsahovat 0,21 – 8,44 mg.kg⁻¹ suchého podílu DEHP a 0,06 – 2,08 mg.kg⁻¹ suchého podílu DBP. Ke kontaminaci vody může docházet srážkami či odpadními vodami. V povrchové vodě může koncentrace DBP a DEHP být 0,12 – 8,80 a 0,33 – 97,8 mg.l⁻¹. Opět v blízkosti průmyslových závodů jsou vyšší koncentrace ftalátů ve vodách a sedimentech (desetiny až tisíce µg.kg⁻¹). Z průmyslových a odpadních vod (v nich 1,74 – 182 mg.l⁻¹ DEHP a 0,2 – 10,4 mg.l⁻¹ DBP) jsou poté ftaláty kontaminovány půdy. Kromě vody je možným zdrojem kontaminace půdy i kontaminovaný vzduch a některé zemědělské přípravky. Ftaláty se v půdě, stejně jako ve vodě, mohou adsorbovat na organické částice. Schopnost adsorpce se u ftalátů zvyšuje se zvyšující se relativní molekulovou hmotností. Vzhledem ke své perzistenci v prostředí a jen minimální rychlosti biodegradace se staly ubikvitárními polutanty nejen životního prostředí, ale i biologických systémů (Fromme et al., 2002; Velíšek a Hajšlová, 2009).

3.4 Zdravotní vlivy esterů kyseliny ftalové na lidský organismus

Ftaláty jsou předmětem vědeckých zkoumání, protože vykazují mnoho efektů na tkáň zvířecích modelů při krátkodobých i dlouhodobých laboratorních pokusech (např. vliv na biochemii buněk, vliv na varlata, role při vývoji aj.), přičemž za hlavní negativní účinky se považují jaterní a reprodukční toxicita a teratogenita (Benjamin et al., 2015; Staples, 2003; Ventrice et al., 2013). Toxicita jednotlivých ftalátů se pak liší v závislosti na jejich struktuře (Hauser a Calafat, 2005). Jsou považovány za karcinogeny pro zvířata a mohou u nich způsobit odumření plodu, jeho malformace, poškození varlat, mají antiandrogenní aktivitu, chovají se jako proliferátory peroxisomů a vykazují reprodukční toxicitu. Informace o rozsahu těchto negativních účinků PAEs a jejich aplikovatelnosti na člověka jsou nekompletní a poměrně kontroverzní (Latini, 2005).

Estery kyseliny ftalové vykazují nízkou nebo žádnou toxicitu po jednorázových expozicích (tzv. akutní toxicita). Dlouhodobé riziko z krátkodobých expozic je rovněž minimální či alespoň reverzibilní, protože mnoho dlouhodobých efektů je pozorováno jen při kontinuální expozici. Dlouhodobé efekty, jako je rakovina jater, se objevují jen

u laboratorních zvířat při celoživotní (nebo téměř celoživotní) expozici dávkám větším, než je $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ za den u esterů s vysokou molekulovou hmotností. Rakovina je zřejmě výsledkem mechanismu, který zahrnuje biochemické změny v jaterních buňkách potkanů a myši. Z hlediska mutagenity a genotoxicity nebyly při testování všech průmyslově významných ftalátů zjištěny žádné účinky tohoto typu (Heudorf et al., 2007; Staples, 2003).

Testy cytotoxicity DEHP na savčích buněčných kulturách ukazují na jejich lysozomální destabilizaci v relativně malých koncentracích (cca $10 \mu\text{M}$) této látky; dále byly zjištěny antiapoptotické vlastnosti DEHP, jeho interference s homeostázou mastných kyselin, schopnost zpomalovat růst buněk, měnit již v nízkých koncentracích (50 až $100 \mu\text{M}$) profily genové exprese a mj. také narušuje při vyšších koncentracích vazbu inzulínu (Peropadre et al., 2015).

3.4.1 Expozice a biomonitoring ftalátů

Expozice je klíčovým prvkem při posuzování potenciálního rizika nežádoucích účinků na zdraví člověka. Hydrolyza diesterů na monoestery zvyšuje jejich absorpci v organismu. Monoester je po absorpci metabolizován na látky vyloučitelné močí. Proto se expozice ftalátům posuzuje detekcí monoesterů a oxidativních metabolitů v moči, přičemž právě tyto látky jsou nejspolehlivějšími biomarkery expozice, protože ftaláty jsou močí vyloučeny z organismu primárně, a to už během několika hodin. Tento způsob analýzy bývá využíván v epidemiologických studiích zdravotních vlivů PAEs, jelikož zahrnuje různé způsoby expozice (ingesce, inhalace, dermální absorpce), přičemž poměr příspěvků jednotlivých způsobů se mění pro různé ftaláty (Rodgers et al., 2014; Staples, 2003).

Ftaláty s vysokou molekulovou hmotností musí být před absorpcí hydrolyzovány. Rychlost absorpce se u ftalátů obecně snižuje s narůstající molekulovou hmotností. Poměrně rychlá absorpce probíhá při inhalaci a zejména ingesci. Ovšem u hlodavců je hydrolyza PAEs mnohem efektivnější než u primátů (a pravděpodobně i u lidí) a je tedy u nich i výrazně vyšší absorpce PAEs (Staples, 2003).

Do lidského organismu se PAEs dostávají buď přímým kontaktem a používáním, nebo nepřímo skrze uvolňování do produktů (např. potravin – jsou velice významným zdrojem PAEs, proto je zde důležitý pravidelný monitoring jejich obsahu) či obecně jako kontaminanty životního prostředí. Člověk může být exponován inhalací, ingescí, kontaktem s pokožkou, a to v průběhu celého života včetně intrauterinního vývoje (Heudorf et al., 2007). Úroveň expozice u obyvatelstva je ovlivněna faktory jako jsou

geografické umístění, stravovací návyky, pohlaví, používané produkty k osobní péči a další. Z toxikologického hlediska akutní toxicita ftalátů není velká, rizika jsou spíše kumulativního rázu (chronická toxicita) (Rodgers et al., 2014).

Za primární zdroj PAEs pro člověka jsou považovány potraviny. Malá množství esterů kyseliny ftalové mohou do potravin migrovat z obalových materiálů nebo inkoustů (potisky na obalech). Expozice DEHP z potravin je podle nejnovějších studií v různých částech Evropy od 1,46 (Francie) do 14,00 (Německo) $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ tělesné hmotnosti za den. Tyto hodnoty naznačují, že příjem této látky je v evropských státech nižší než stanovené hodnoty tolerovatelného denního příjmu (Staples, 2003; Yang et al., 2015), přičemž u dětí je zjištěn příjem obecně vyšší než u dospělých lidí. Také zvyšující se BMI a obvod pasu koreluje s vyšší expozicí PAEs. U mužů se jedná zejména o vyšší expozici DEHP a DBP a u žen a dospívajících o DEP (Heudorf et al., 2007; Serrano et al., 2014). Dietární příjem PAEs velice úzce souvisí s druhem přijímaných potravin (tučné mléko, máslo, maso a masné výrobky) a s procesem jejich předchozí přípravy. Bylo prokázáno, že vaření a smažení skutečně může ovlivňovat (zvyšovat či snižovat) obsah PAEs v potravinách (Heudorf et al., 2007; Yang et al., 2015).

Evropským úřadem pro bezpečnost potravin (EFSA) byl stanoven tolerovatelný denní příjem (TDI) pro DBP 0,01, pro BBP 0,5, pro DEHP 0,05, pro DINP 0,15 a pro DIDP rovněž 0,1 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ tělesné hmotnosti za den (Cao, 2010). Tato instituce také uvedla, že expozice ftalátům skrze potraviny se pohybuje v rámci stanovených limitů (Ventrice et al., 2013).

Expozice DEHP u dětí sajících či žvýkajících hračky či jiné předměty denního užívání byla odhadnuta až na 85 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ tělesné hmotnosti za den. Vzhledem k zjištěné rychlosti uvolňování ftalátů z hraček a jejich předpokládané toxicitě bylo v roce 1999 v celé Evropské Unii zakázáno používání těchto látek při výrobě hraček určených spotřebitelům do tří let věku (Heudorf et al., 2007).

3.4.2 Metabolismus a toxikokinetika ftalátů

Po absorpci jsou mateřské diestery kyseliny ftalové u savců metabolizovány ve dvou krocích; prvním krokem je rychlá hydrolýza následovaná konjugací fáze II (Schechter et al., 2013). V prvním kroku vznikají za katalýzy lipázami a esterázami ve střevě aj. tkáních z diesterů hydrolýzou jedné z esterových vazeb příslušné monoestery. Zatímco tento krok znamená ve většině případů detoxifikaci xenobiotika, v případě ftalátů vzniká monoester s mnohem větší bioaktivitou (toxicitou) než původní sloučenina (Hauser a Calafat, 2005;

Lovekamp-Swan a Davis, 2003; Ventrice et al., 2013). Hlavními metabolity LMWPE jsou monoestery, MMWPE a HMWPE po hydrolyze na monoestery ještě dále podléhají enzymatické ω - a ω -1-oxidaci postranního lipofilního řetězce za vzniku hydrofilnějších oidačních metabolitů (Hauser a Calafat, 2005; Schecter et al., 2013). Druhá fáze metabolismu ftalátů, konjugace, je obvykle katalyzována enzymem UDP-glukuronosyl-transferázou (UDP-GT). Vzniká při ní hydrofilní glukuronidový konjugát, který je dále snadněji vyloučitelný močí (Ventrice et al., 2013).

V lidském organismu jsou ftaláty eliminovány většinou během několika hodin a vyloučeny během jednoho nebo dvou dnů močí a příp. stolicí (Benjamin et al., 2015). Mimo to jsou ale také detekovány v krevním séru, amniotické tekutině a mateřském mléce (Fasano et al., 2012). Monoestery nebo produkty jejich oxidace z první fáze se mohou vyloučit nezměněny, nebo dále podléhají degradaci v druhé fázi (Hausef a Calafat, 2005). Biologické poločasy ftalátů jsou v organismu v řádech hodin (Schecter et al., 2013).

DEHP je po příjmu organismem masivně metabolizován a transformován na mono(2-ethylhexyl)ftalát (MEHP), který je rovněž rychle a rozsáhle metabolizován dalšími oxidačními reakcemi a konečně eliminován z organismu skrze moč. Po 24 h je 67 % DEHP eliminováno ve formě pěti hlavních metabolitů renální exkrecí, dalších 3,8 % DEHP je eliminováno do 48 h ve formě čtyř hlavních metabolitů (Ventrice et al., 2013).

Při hodnocení clearance DEHP se často sleduje jako biomarker pouze primární monoesterový metabolit mono(2-ethylhexyl)ftalát s nejkratší dobou eliminace, který ale představuje pouze asi 10 % původního množství DEHP. Metabolity s delší dobou vyloučení jsou lepšími biomarkery pro evaluaci renální eliminace. Patří mezi ně mono(2-ethyl-5-karboxypentyl)ftalát (5cx-MEPP) a mono[(2-karboxymethyl)hexyl]ftalát (2cx-MMHP). Pro hodnocení krátkodobé expozice DEHP jsou vhodnými biomarkery oxidační metabolity mono(2-ethyl-5-hydroxyhexyl)ftalát (5-OH-MEHP) a mono(2-ethyl-5-oxohexyl)ftalát (5-oxo-MEHP) (Latini, 2005; Ventrice et al., 2013). Hydrolytickým metabolitem dalšího hojně sledovaného ftalátu DBP je monobutylftalát (MBP) (Hurst a Waxman, 2003).

3.4.3 Akutní toxicita ftalátů

Akutní toxicita je výsledkem krátkodobé expozice. Hodnoty LD₅₀ pro nejdůležitější komerčně využívané ftaláty jsou od 1 do 30 g.kg⁻¹ i vyšší, což odráží jejich malou akutní

toxicitu (Staples, 2003; Heudorf et al., 2007). Možné projevy akutní toxicity PAEs budou uvedeny dále.

3.4.3.1 Podráždění a senzibilizace

Kromě vlivu na reprodukční a endokrinní systém mohou ftaláty, jak naznačují experimentální a epidemiologická data, přispívat k rozvoji či zhoršování atopických alergických onemocnění. Mohou také být faktorem, který přispívá k hojnému výskytu IgE-zprostředkovaných atopických alergických onemocnění v rozvinutých zemích. Některé výzkumy předpokládají, že by určité ftaláty mohly dokonce ovlivňovat (prodlužovat, urychlit či zvýšit) specifickou imunitní odpověď (Lourenço et al., 2015).

Co se týče alergenů vyvolaných dermatitid a zánětlivých kožních onemocnění, velice zásadní je zde tvorba reaktivních forem kyslíku (ROS), které způsobují oxidativní stres. Podle některých pozorování by ftaláty mohly stát za zvýšenou tvorbou ROS a tedy, že by obecně mohla existovat spojitost mezi PAEs a oxidativním stresem. Některá vědecká zjištění rovněž navrhuji souvislost mezi zvýšenou koncentrací monoesterových ftalátových metabolitů v moči a zvýšeným počtem sérových markerů značících zánětlivý proces (Lourenço et al., 2015). V tomto kontextu bývá zmiňována endometrióza, zánětlivé onemocnění děložní sliznice, kdy by vyšší hladiny metabolitů HMWPE detekované v séru žen trpících tímto onemocněním mohly mít spojitost s jeho přítomností a rozvojem (Masumoto et al., 2008; Serrano et al., 2014).

Bylo rovněž vyzorováno, že produkty s ftaláty mohou vyvolat po dermální aplikaci podráždění pokožky či očí u hlodavců (Staples, 2003).

3.4.3.2 Změny metabolismu

Ftaláty prokazatelně způsobují změny metabolismu u laboratorních hlodavců. Jejich vlivem jsou indukovány některé enzymové systémy (CYP4A1, PCoA), zatímco některé jsou potlačeny. Tento efekt je pozorován primárně v játrech či v ledvinách, přičemž dochází k jejich zvětšení, které lze dokázat makroskopicky. Mikroskopická analýza ukázala, že jaterní buňky při expozici organismu některým PAEs obsahují větší množství peroxisomů a při biochemických testech mají zvýšenou enzymovou aktivitu. LMWPE takovéto změny metabolismu nevyvolávají. MMWPE vyvolávají slabé změny a HMWPE mají velkou schopnost vyvolat popsané změny metabolismu u hlodavců (Heudorf et al., 2007; Staples, 2003).

PAEs mohou interagovat s mnoha různými tkáněmi a orgány přímo nebo nepřímo skrze Na-I symportéry (interakce vedoucí k porušení metabolismu thyroidních hormonů)

a PPAR, což jsou receptory zprostředkovávající účinek proliferátorů peroxisomů (PP) v játrech (Ventrice et al., 2013). Nepřímé působení PAEs skrze interakci s Na-I symportéry je zásadním mechanismem endokrinní disrupce. Jak bylo pozorováno na zvířecích modelech, PAEs mohou snižovat expresi Na-I symportérů, jež jsou nezbytné pro normální fungování štítné žlázy (Rodgers et al., 2014).

Druhou možností ovlivnění metabolismu živočišného organismu je interakce s výše zmíněnými PPAR (nukleární receptorové proteiny), existujícími ve třech provedeních – isotypech α , β a γ (Peropadre et al., 2015). PPAR reguluje jako aktivovaný heterodimer s retinoidním X-receptorem (RXR) transkripci genů obsahujících prvky specifické odpovědi na proliferátory peroxisomů do DNA (Lovekamp-Swan a Davis et al., 2003). Pokud porovnáváme různé metabolity PAEs, MEHP je jednoznačně nejúčinnějším aktivátorem PPAR; naopak MBP nevykazuje v tomto ohledu příliš významnou aktivitu (Hurst a Waxman, 2003). Těmito receptory zprostředkované účinky proliferátorů peroxisomů (PP) zahrnují indukci mikrosomálních a peroxisomálních jaterních enzymů pro oxidaci mastných kyselin (isotyp PPAR- α) (Lovekamp-Swan a Davis et al., 2003). Jak bylo prokázáno u PPAR-deficientních myši, jsou tyto receptory také zodpovědné za hepatokarcinogenní účinky DEHP. Předpokládá se, že aktivace PPAR vyvolává oxidativní stres a produkci volných radikálů. Tento mechanismus může kromě jater mít vliv i na jiné orgány jako jsou vaječníky. PPAR také regulují homeostázu lipidů a glukosy a jsou zodpovědné za účinky antidiabetických thiazolidinedionů. Dále hrají důležitou roli ve vývoji a diferenciaci buněk, a to např. adipocytů (konkrétně PPAR- γ), proto jsou hojně přítomny v tukové tkáni (Hurst a Waxman, 2003; Ventrice et al., 2013).

Vzhledem k možné interakci ftalátů s tukovou tkání a endokrinním systémem vyvstává otázka, zda by mohly tyto látky mít vliv na metabolické poruchy, jako jsou obezita a diabetes. Podle výsledků některých lékařských studií by snížené množství thyroïdních hormonů u dospělých lidí mohlo mít souvislost s jejich expozicí MEHP a MBP (Rodgers et al., 2014). Zatímco DEHP působí přes PPAR-zprostředkovanou dráhu, DBP může ovlivňovat metabolismus steroidních látek pouze aktivací jaterních enzymů (Lovekamp-Swan a Davis, 2003). Preklinické studie na potkanech ukázaly schopnost DEHP ovlivňovat insulinovou signalizaci v tukové tkáni indukcí vysoce reaktivních forem kyslíku a lipidových peroxidů, kterážto v konečném důsledku vede ke glukosové intoleranci (Benjamin et al., 2015).

Přirozené ligandy PPAR jsou lipofilní karboxylové kyseliny a svůj účinek zprostředkovávají vazbou v mikromolárních koncentracích. Vazebná strana PPAR umí

rozpoznat celou řadu lipofilních ligandů skrze nescifické hydrofobní interakce. Proto i zde je zásadní otázkou pro další výzkumy dávka PAEs schopná vyvolat odezvu PPAR u lidí (Lovekamp-Swan a Davis, 2003).

3.4.4 Chronická toxicita ftalátů

Chronická toxicita je výsledkem dlouhodobé expozice. Mezi možné důsledky dlouhodobé expozice ftalátům patří následující stavy.

3.4.4.1 Rakovina

Obecně karcinogeny lze rozdělit do dvou kategorií, a to na DNA-reaktivní karcinogeny (genotoxické) a epigenetické karcinogeny. Skupina genotoxických karcinogenů zahrnuje karcinogeny, jež, na základě vlastní reaktivity nebo reaktivity zprostředkované metabolismem, chemicky interagují s molekulou DNA. Druhá skupina je složena z karcinogenů, u kterých nedochází k přímé interakci s genetickým materiálem, ale u nichž je základem karcinogenity jiný biologický proces. Toto rozdělení karcinogenů je významné z hlediska posuzování rizika pro lidské zdraví. Genotoxické karcinogeny mohou vyvolat mutagenní nebo prekancerózní účinek již při jednorázové expozici. Epigenetické karcinogeny naopak vyvolávají rakovinu po vícečetné až trvalé expozici (Staples, 2003).

Ftaláty patří do skupiny látek vyvolávajících proliferaci peroxisomů. Ovšem tento způsob vzniku rakoviny působením ftalátů nebyl zatím označen jako relevantní pro člověka (Staples, 2003), a to již z několika důvodů; zejména proto, že existují rozdíly nejen v hustotě PPAR- α , ale i v regulačních a signálních dráhách (Heudorf et al., 2007). Estery kyseliny ftalové jsou obecně považovány za slabé proliferátory peroxisomů. Co se týče rozdílnosti molekul LMWPE vykazují minimální nebo žádný potenciál pro indukci peroxisomální proliferace, MMWPE a HMWPE mají potenciál proliferátorů peroxisomů na vyšší úrovni, přičemž z tohoto ohledu nejvyšší sílu vykazují DEHP, DINP a DIDP (Staples, 2003).

Dle klasifikace Mezinárodní agentury pro výzkum rakoviny (IARC) ftaláty ani jejich metabolity nepůsobí jako činitelé přímo poškozující deoxyribonukleovou kyselinu (DNA) (Staples, 2003). Ovšem je možné, že jsou schopny způsobit epigenetické změny, které poté přechází v genetickou expresi, která se projevuje histonovou modifikací a dalšími změnami (methylace, demethylace). Přejít do genetické exprese by mohl mít nepříznivé účinky a dědičné epigenetické změny mohou pozměnit expresi DNA po několika generacích (Rodgers et al., 2014).

Studie prováděné na lidských buněčných kulturách prsní žlázy zjistily, že expozice BBP vedla k demethylaci promotorového regionu pro estrogení receptor α . Tento buněčný receptor je nezbytný pro normální funkci estrogenu u obou pohlaví. V jiné studii způsobil DBP hypomethylaci protoonkogenu c-myc v jaterních buňkách. Při testech na myších zase došlo k methylaci DNA ve varlatech a zvýšení exprese methyltransferázy působením DEHP (Rodgers et al., 2014). DEHP (klasifikován IARC jako potenciálně karcinogenní pro člověka, skupina 2B) při studiích na myších a potkanech indukoval po expozicích vysokým dávkám této látky výrazné zvětšení jater (hyperplazii) a rakovinu jater (Hauser a Calafat, 2005; Peropadre et al., 2015; Staples, 2003); dále byl také při těchto testech zjištěn u samců zvýšený výskyt benigních tumorů Leydigových buněk ve varlatech (s více než dvakrát větší incidencí než u kontrolní skupiny zvířat) a benigní tumory slinivky (Rodgers et al., 2014). Přesněji se ale spíše jedná o MEHP (monoesterový metabolit DEHP), který aktivuje nukleární transkripční faktor pro PPAR- α (Hurst a Waxman, 2003). I DBP je asociován s aktivitou tumorového promotoru (Heudorf et al., 2007).

3.4.4.2 Reprodukční a vývojová toxicita

Reprodukční toxicita a vývojové vady byly pozorovány u potomků laboratorních zvířat vystavených během nitroděložního vývoje ftalátům se střední až nízkou molekulovou hmotností. Tato skupina ftalátů má tedy teratogenní účinky spojené s fyziologickými poruchami homeostázy (Staples, 2003; Yang et al., 2015). Zjištěné poruchy a vady jsou ve studiích na zvířatech označovány jako tzv. ftalátový syndrom (Rodgers et al., 2014). Vývojová toxicita zahrnuje poruchy vývoje skeletu na hlavě, v páteři, ocasu a u žeber. Kromě toho samci potkana vykazovaly nedokonalé vyvinutí urogenitálního traktu. Při studiích vývojové toxicity DEHP a MMWPE byly pozorovány poruchy vývoje u hlodavčího fetu, které se lišily dle stadia vývoje v době expozice a dle výše expoziční dávky (Staples, 2003). Již při nízkých dávkách těchto látek byla u narozených mláďat zjištěna nižší tělesná hmotnost, nižší hmotnost varlat, snížená produkce spermií, nižší testikulární hladina zinku, nesestoupená varlata a jejich malformace jakou je atrofie semenotvorných tubulů, hyperplazie Leydigových buněk aj. (Benjamin et al., 2015; Schechter et al., 2013). Expozice dávkám vysokým (nad 500 mg.kg⁻¹) během březosti vyúsťuje v kraniofaciální abnormality (rozštěp patra, odhalený mozek, neúplná tvorba lebky nebo páteře) a skeletální abnormality v podobě neúplně vyvinutých kostí (Staples, 2003).

Výsledkem reprodukční toxicity PAEs je poškození testikulární tkáně vyúsťující v nedostatečnou produkci spermatu, či ve snížení jeho kvality a motility. Nejpravděpodobnější je zde působení PAEs na Sertoliho buňky (které jsou zodpovědné za výživu zárodečných buněk), na buňky Leydigovy či přímo na spermatogonie. Na molekulární úrovni může jít o přerušení produkce testosteronu a insl3 (protein insuline-like-3, zahrnut v procesu sestupu varlat) v Leydigových buňkách varlat. Tyto dva komponenty jsou nezbytné během děložního vývoje pro změnu fenotypu z ženského do mužského. Inhibice produkce testosteronu může být způsobena snížením exprese genů klíčových v biosyntéze steroidů (Rodgers et al., 2014; Staples, 2003). Při pozorování vlivu PAEs na dospívající samčí jedince potkana, byla zjištěna větší citlivost než u dospělců, ale byly také pozorovány vyšší regenerační schopnosti (Matsumoto et al., 2008).

Při pokusech na samicích hlodavců bylo vyzorováno, že podávání vysokých dávek DEHP a HMWPE může způsobit poruchu estrálního cyklu (jeho prodloužení), dále potlačení či zpoždění ovulace, redukcii velikosti granulosoých buněk (a tím pádem i preovulačních folikulů) nebo např. sníženou hladinu estradiolu v séru, která poté vede ke zvýšení sérové hladiny FSH a absenci „vlny“ LH, nezbytné pro ovulaci. Kromě toho ještě může dojít ke snížení hladiny progesteronu v séru. Tyto změny mohou vyústit v hypoestrogenní, anovulační cykly, a tedy ve sníženou fertilitu dospělých hlodavců. Mechanismem působení jsou změny enzymů, které se účastní tvorby pohlavních hormonů ve vaječnicích (Hausef a Calafat, 2005; Staples, 2003). Steroidní (pohlavní) hormony mohou být ovlivňovány několika různými mechanismy, zahrnujícími jak receptory zprostředkované, tak na receptorech nezávislé reakce. MEHP, metabolit DEHP, účinkuje právě skrz receptorově zprostředkovanou signální dráhu a ovlivňuje produkci estradiolu ve vaječnicích. Dráhy, které se účastní produkce ovariálních hormonů u hlodavců jsou pravděpodobně dosti podobné těm lidským (Lovekamp-Swan a Davis, 2003).

Některé studie uvádějí, že DBP je schopen ovlivňovat dobu pohlavního dospívání u samic potkanů a také ovlivňovat poměr pohlaví u potomků. Bylo také prokázáno, že DEHP inhibuje růst folikulů skrze oxidativní stres a u dospívajících potkaních samců vykazuje antiandrogenní efekt (Yang et al., 2015). Studie prováděné *in vitro* na lidských buněčných kulturách ukázaly schopnost DEHP a MEHP inhibovat produkci testosteronu u varlat dospělých mužů (Benjamin et al., 2015). V tomto ohledu lze dobře pozorovat závislost toxicity na struktuře molekul PAEs (zejména tedy na délce a větvení postranního

řetězce), kdy některé vykazují testikulární toxicitu a jiné nikoliv; stejně tak jsou s tímto typem toxicity spojovány monoesterové metabolity, mateřské diesterové molekuly ji obecně nevykazují (Hausef a Calafat, 2005).

Prospektivní studie prováděné u těhotných žen ukázaly, že by ftaláty mohly snižovat schopnost otěhotnění a zvyšovat riziko potratu a předčasného porodu (Lovekamp-Swan a Davis, 2003; Yang et al., 2015). Další klinické studie zjistily, že hned několik ftalátů nebo jejich metabolitů dokáže prostoupit placentální bariérou a dostat se do těla plodu, kde by příp. mohly způsobovat jeho zdravotní komplikace jako je anémie, toxémie, preeklampsie (Benjamin et al., 2015; Lovekamp-Swan a Davis, 2003). V souvislosti s tím jsou ftaláty při dlouhodobé expozici podezřelé z negativních vlivů na reprodukční systém a jsou považovány za endokrinní disruptory s teratogenními účinky (Yang et al., 2015). Symptomy pozorované u mužů a chlapců a spojované s ftaláty mají, obdobně jako tomu bylo u zvířecích studií, své označení – tzv. syndrom testikulární dysgeneze (Rodgers et al., 2014).

3.4.4.3 Endokrinní disrupce

Endokrinní disruptory jsou látky se schopností změnit působení hormonů v organismu interferencí s funkcí endokrinního systému zodpovědného za růst, pohlavní vývoj a mnoho dalších nezbytných fyziologických funkcí u obou pohlaví. Existují, jak již bylo předesláno v předchozím textu, jisté podobnosti a odlišnosti v odezvě na působení ftalátů u žen a u mužů (Latini, 2005). Již v předchozí části zmíněné účinky PAEs na vyvíjející se reprodukční trakt souvisejí s endokrinním systémem (se žlázami s vnitřní sekrecí). Některé ftaláty mohou interagovat ale i s jinými částmi tohoto systému. Některé PAEs jsou slabými aktivátory estrogenových receptorů v tkáňových kulturách, ovšem o estrogeny se nejedná. Androgenní receptory ale neaktivují, ani se na ně neváží. Některé ftaláty však vykazují určitou interferenci v procesech, kterých se účastní testosteron, přičemž pak dochází k jeho nižší produkci. Jsou proto považovány (zejména DEHP, DBP, BBP a DINP) za antiandrogenní (Rodgers et al., 2014; Staples, 2003).

Co se týče dalších účinků PAEs na endokrinní systém, tyto látky zřejmě jistým mechanismem působí poruchy normální hladiny thyroxinu, čímž se mohou podílet na vzniku thyroidní dysfunce, která ale v konečném důsledku vlastně může také vyústit v poruchy reprodukce. Dle některých vědeckých studií souvisí prenatální expozice se změnami doby porodu (často je předčasný), se změnami hladin hormonů u kojenců

a neurobehaviorálních výstupů kojenců a větších dětí (Rodgers et al., 2014; Serrano et al., 2014).

3.4.4.4 Astma

Expozice PAEs vdechováním je často v klinických studiích spojována s respiračními potížení u dětí i dospělých lidí (Rodgers et al., 2014). Důležitou roli by mohlo hrát jejich široké použití v různých krytinách, podlaha a jiném stavebním materiálu a materiálech předmětů denního užívání. PAEs by tak mohly indukovat či zhoršovat astma. Existují spekulace, že DEHP a jeho metabolity mají strukturní podobnost s některými prostaglandiny (látkami fungujícími jako mediátory zánětlivé reakce organismu) a tromboxany (Hauser a Calafat, 2005; Staples, 2003).

Expozice ftalátům je dávana do souvislosti s poškozením plicní funkce. Ukázalo se, že MEHP indukuje u potkanů bronchiální hypersenzitivitu a u předčasně narozených dětí zvyšuje riziko bronchiálního astmatu. Při studiích plicní tkáně novorozeneckých potkanů exponovaných DEHP byla pozorována podobnost mezi histologickými charakteristikami této tkáně a autoptických vzorků plicní tkáně, který je typická pro předčasně narozené děti trpící bronchopulmonární dysplazií (chronická plicní choroba) (Hauser a Calafat, 2005; Latini, 2005).

3.4.4.5 Neurotoxická

Starší literatura uvádí, že estery kyseliny ftalové nejsou neurotoxické, protože primáti nejsou tak senzitivní ke ftalátům jako hlodavci. K tomuto stavu by mohla přispívat např. nižší absorpce a odlišné metabolické dráhy. Existují také strukturální rozdíly v buněčných odezvách na biochemické vlivy PAEs u primátů a u lidí. I když se tyto rozdíly vztahují přímo k nebezpečí vzniku rakoviny, mohou rovněž ovlivňovat citlivost k jiným vlivům PAEs pozorovaným u zvířat (Staples, 2003).

V novějších studiích na potkaních prepubertálních samcích bylo demonstrováno, že při příjmu DEHP se snižuje hladina kyseliny γ -aminomáselné (GABA) v mozku, a naopak se zvyšuje hladina aspartátu v mozku a gonadotropinu v krvi, zatímco u prepubertálních samic se hladiny GABA a aspartátu zvýšily. Takovéto změny byly dány do souvislosti s modifikacemi gonadotropinu. Následné studie ukázaly antiandrogenní účinek DEHP u potkanů. Tato pozorování naznačují, že vlivy PAEs na endokrinní systém mohou souviset s dalšími neurologickými či psychiatrickými onemocněními (Ventrice et al., 2013).

3.5 Legislativní omezení týkající se ftalátů

Vzhledem k tomu, že ftaláty představují potenciální riziko pro zdraví lidí i zvířat a jsou na seznamu přednostních polutantů, omezil Evropský úřad pro bezpečnost potravin (EFSA) použití DBP, DIDP, BBP, DEHP a DINP nejen v materiálech a produktech určených pro styk s potravinami (Rodgers et al., 2014; Yang et al., 2015).

Předpisy EU vyžadují testování účinku na lidské zdraví a životní prostředí a sdílení informací o chemických látkách v rámci chemické legislativy a politiky registrace, evaluace (hodnocení), autorizace (povolování) a omezování chemických látek (nařízení REACH). Látky vzbuzující mimořádné obavy jsou hodnoceny pro omezení či povolení pouze pro určité použití (Rodgers et al., 2014).

Ftaláty, jak již bylo zmíněno v obecné charakteristice, tvoří stabilní a ireverzibilní vazby s polymerem, který je obsahuje, a na základě toho existuje možnost, že se při prodlouženém kontaktu s lipofilním prostředím nebo potravinami uvolní z matrice a budou migrovat do potravin. Proces migrace může být urychlen zahřátím (Ventrice et al., 2013). Pro ochranu lidského zdraví tak stanovila EU limity pro mnoho látek používaných v obalových materiálech a vydala také předpisy specifikující migrační testy za použití potravinových simulantů pro zjištění jejich možné migrace do potravin. Specifické migrační limity pro jednotlivé kontaminanty nebo jejich skupiny jsou právně zakotveny v nařízení 10/2011 (Fasano et al., 2012). Tyto hodnoty činí pro DBP 0,3, pro DEHP 1,5 a pro BBP 30 mg.kg⁻¹ potravinového simulantu (pro srovnání specifický migrační limit pro alternativní plastifikátor DEHA je 18 mg.kg⁻¹ potravinového simulantu). Tolerovatelný denní příjem byl stanoven pro DBP 0,01 a pro DEHP 0,05 mg.kg⁻¹ tělesné hmotnosti za den (Yang et al., 2015).

V příloze I nařízení Komise (EU) č. 10/2011 o materiálech a předmětech z plastů určených pro styk s potravinami je uveden Seznam Unie povolených látek pro výrobu polymerů, kde v souvislosti s materiály přicházejícími do kontaktu s potravinami existují omezení týkající se DBP, BBP, DEHP, dialkylftalátů s nasycenými rozvětvenými primárními alkyly C₈-C₁₀ a dialkylftalátů s nasycenými rozvětvenými primárními alkyly C₉-C₁₁. Všechny zmíněné ftaláty mohou být dle tohoto předpisu použity jako přísada nebo pomocná látka pro výrobu polymerů. Pro jednotlivé ftaláty jsou poté uvedena omezení a specifikace (Nařízení Komise (EU) 10/2011).

DBP lze použít pouze jako plastifikátor v materiálech a předmětech určených pro opakované použití přicházejících do styku s beztukovými potravinami a v koncentracích

do 0,05 % konečného výrobku jako pomocnou látku v polyoleofinech (Nařízení Komise (EU) 10/2011).

BBP může být užit pouze jako plastifikátor materiálů pro výrobu předmětů pro opakované použití a také při výrobě materiálů a předmětů pro jedno použití, které jsou ovšem určeny pro styk s beztukovými potravinami (mimo počáteční a pokračovací kojeneckou výživu). Kromě zmíněných dvou možností použití může být ještě technickým pomocným materiálem tvořícím max. 0,1% podíl v konečném výrobku (Nařízení Komise (EU) 10/2011).

Stejně jako DBP i DEHP může být použit pouze jako plastifikátor u výrobků pro opakované použití určených pro styk s beztukovými potravinami a jako pomocná technická substance v koncentraci do 0,1 % konečného produktu. Pro jednorázové aplikace (uzávěry, těsnění) je zakázán (Nařízení Komise (EU) 10/2011; Ventrice et al., 2013).

Výše zmíněné nařízení nahrazuje směrnici 2002/72/ES a obsahuje seznam látek povolených pro výrobu materiálů a předmětů určených pro styk s potravinami, zejména přísad a monomerů a také omezení jejich použití.

Dalším legislativním předpisem zabývajícím se ftaláty je nařízení EP a Rady (ES) č. 1907/2006 o registraci, hodnocení, povolování a omezování chemických látek a o zřízení Evropské agentury pro chemické látky (REACH). Hlavním cílem tohoto nařízení je zlepšit znalosti o nebezpečích a rizicích souvisejících s existujícími chemickými látkami a dále zajistit vysoký stupeň ochrany lidského zdraví (Nařízení EP a Rady (ES) 1907/2006; Ventrice et al., 2013).

Při posuzování nejběžněji používaných ftalátů DINP, DIDP nebyla shledána nutnost klasifikovat tyto látky jako nebezpečné pro zdraví. Avšak na základě principu předběžné opatrnosti tedy bylo stanoveno (a uvedeno v příloze XVII v seznamu omezení výroby, uvádění na trh a používání některých nebezpečných látek, směsí a předmětů), že se DINP, DIDP a DnOP nesmí používat samostatně nebo ve směsích v měkčených materiálech z plastu sloužících k výrobě hraček a předmětů pro péči o děti (výrobky k usnadnění spánku, hygieny, krmení či sání), které mohou být dětmi vkládány do úst, v koncentraci vyšší než 0,1 % hmotnostních (Nařízení EP a Rady (ES) 1907/2006; Ventrice et al., 2013).

Ftaláty s nízkou molekulovou hmotností, jako jsou DBP, BBP, DEHP a DIBP jsou v příloze XIV nařízení REACH klasifikovány jako velmi nebezpečné látky (Ventrice et al., 2013). Na základě studií na zvířatech náleží do kategorie 1B (látky toxické pro

reprodukcí). Kvůli tomuto nemohou být používány jako plastifikátory v koncentraci vyšší než 0,1 % při výrobě hraček a výrobků péče o dítě (Nařízení EP a Rady (ES) 1907/2006). Zakázány jsou v kosmetice a zdravotnických zařízeních. Na základě nařízení REACH mohou být od roku 2015 ftaláty s nízkou molekulovou hmotností vyráběny a prodávány pouze po speciálním povolení (Ventrice et al., 2013).

Co se týče české legislativy, ftalátů se týká vyhláška č. 409/2005 Sb. o hygienických požadavcích na výrobky přicházející do přímého styku s vodou a na úpravu vody, která omezuje v předmětech určených pro styk s vodou obsah DEHP tak, aby jeho koncentrace nepřekročila 0,008 mg.l⁻¹ vody (Vyhláška 409/2005 Sb.). Vyhláška č. 38/2001 Sb. o hygienických požadavcích na výrobky určené pro styk s potravinami stanovuje pro tyto plastifikátory úhrnný specifický migrační limit 0,20 mg.dm⁻² (Vyhláška 38/2001 Sb.).

3.6 Substituty ftalátů v obalových materiálech

Alternativní plastifikátory jsou obvykle málo těkavé, hydrofobní látky. Trend užívání těchto látek se zvyšuje a stoupá tedy i objem jejich výroby. V současnosti existuje mnoho různých alternativních plastifikátorů, které zahrnují adipáty, benzoáty, citráty, cyklohexandikarboxylové kyseliny, epoxidované rostlinné oleje, fosfátové estery, tereftaláty a mnoho dalších (Bui et al., 2015; Rodgers et al., 2014).

Některé ze zmíněných látek, které mohou nahradit ftaláty, ale mohou být primárně vyráběny k jinému použití. Pro většinu těchto substitutů jsou dostupné informace o jejich vlastnostech a toxikologických studiích, ovšem nejsou ještě zcela sumarizovány. Alternativní plastifikátory by měly být ideálně metabolizovány s nižší závažností účinků na lidské zdraví (Bui et al., 2015).

3.6.1 Přehled alternativních plastifikátorů

Adipáty

Do této skupiny patří dibutyladipát (DBA), di(2-ethylhexyl)adipát (DEHA), diisononyladipát (DINA) a diisodecyladipát (DIDA). Adipáty jsou používány jako plastifikátory PVC materiálů s velice dobrými vlastnostmi při nízkých teplotách, protože vykazují nižší viskozitu ve srovnání s ftaláty (Bui et al., 2015). Di(2-ethylhexyl)adipát je používán v nízkých množstvích ve výrobě PVC filmů, které poté mohou být zdrojem kontaminace potravin v nich zabalených. Bylo totiž zjištěno, že DEHA se z plastového polymeru uvolňuje ve větším stupni než DEHP. Karcinogenita této látky nebyla dosud

prokázána u laboratorních potkanů, ale byla vyzorována při studiích na myších, kdy se jednalo o nádory jater a adenomy (Fasano et al., 2012; Rodgers et al., 2014).

Benzoáty

Jsou používány zejména jako aditiva v PVC podlahových materiálech. Zástupci jsou di(ethylenglykol)dibenzoát (DEGDB) a di(propylenglykol)dibenzoát (DPGDB) (Bui et al., 2015).

Sebakáty

Tyto látky jsou odvozeny od kyseliny sebakové (1,8-oktyldikarboxylová kyselina) a patří mezi ně dibutylsebakáty (DBS) a bis(2-ethylhexyl)sebakáty (DOS), které jsou běžně užívané ve flexibilních PVC materiálech vyžadujících nižší těkavost plastifikátoru (Bui et al., 2015).

Citráty

Citráty jsou získávány z kyseliny citronové, jež je běžným metabolitem rostlin a živočichů. Acetyltributylcitrát (ATBC) je používán do materiálů určených pro styk s potravinami a je také běžným aditivem v kosmetice a zdravotnických potřebách. Nahrazuje ftaláty ve výrobcích určených pro děti (Bui et al., 2015; Chiellini et al., 2013). ATBC má potenciál uvolňovat se z plastů a vykazuje zdravotní efekt ve formě zvýšené hmotnosti jater, zvýšeném množství T-lymfocytů a snížené tělesné hmotnosti u plodů laboratorních hlodavců při intrauterinní expozici (Rodgers et al., 2014).

Cyklohexandikarboxylové kyseliny

Velice slibnou alternativou k ftalátům jako jsou DEHP a DINP v hračkách a potravinářském obalovém materiálu je di(isononyl)cyklohexan-1,2-dikarboxylát (DINCH) (Chiellini et al., 2013). Dlouhodobá expozice DINCH je spojována se zvýšenou hmotností štítné žlázy u obou pohlaví laboratorních hlodavců a zvýšenou hmotností jater a varlat u samců (Rodgers et al., 2014).

Fosfátové estery

Tato skupina látek zahrnující bis(2-ethylhexyl)fosfát (DEHPA), tris(2-ethylhexyl)fosfát (TEHPA) a trikresylfosfát (TCP) nachází využití zejména jako aditiva v podlahových krytinách a obloženích a lepidlech díky své vysoké odolnosti vůči zapálení a hoření (Bui et al., 2015).

Tereftaláty

Bis(2-ethylhexyl)tereftalát (DEHT) je strukturním isomerem DEHP a je používán jako jeho alternativa v plastových hračkách a pomůčkách pro děti, dále v materiálech z vinylu, různých filmech a uzávěrech nápojových obalů (Bui et al., 2015).

Trimelítáty

Trimelítáty, jako je tris(2-ethylhexyl)trimelítát (TOTM), nacházejí využití v materiálech s vysokoteplotní aplikací (PVC kabely) a ve výrobě zdravotnických pomůcek. Jsou odvozeny od kyseliny benzen-1,2,4-trikarboxylové. Materiály s použitím těchto plastifikátorů mají výrazně vylepšenou extrakční a migrační rezistenci (Bui et al., 2015; Chiellini et al., 2013).

Deriváty rostlinných olejů

Acetáty hydrogenovaných monoglyceridů ricinového oleje (COMGHA) nahradily DEHP a DINP, ale také fungují jako substituty pro DBP a BBP v PVC materiálech, filmech, lepidlech, tiskařských barvách, tmelech a kosmetice. Dalším zástupcem této skupiny alternativních plastifikátorů je epoxidovaný sójový olej (ESBO), který má schopnost zabránit autokatalytickému rozkladu polymeru při vysokých teplotách, což z něj dělá důležité aditivum v PVC produktech (těsnění u obalů potravin) (Bui et al., 2015).

Další látky

Mezi plastifikátory patří také fenylester alkylsulfonové kyseliny (ASE) a glyceroltriacetát (GTA) a trimethylpentanyldiisobutyrate (TXIB). GTA se používá v nátěrech s celulosovým základem a je slučitelný s přírodní i syntetickou pryží. Může být rovněž použit jako náhrada DBP a BBP v lepidlech, barvách a potahových vrstvách a byl schválen jako aditivum do potravinářských obalů (Bui et al., 2015).

3.6.2 Fyzikálně-chemické vlastnosti alternativních plastifikátorů

Mezi běžně používanými ftaláty a jejich substituty existují jisté strukturní podobnosti. Jedná se zejména o přítomnost vedlejších uhlíkatých řetězců o různé délce a počtu (obvykle jsou to dva až tři řetězce o osmi až deseti uhlících) napojených na funkční skupinu nebo strukturu (benzen, cyklohexan, fosfát atd.) skrze esterifikaci (Bui et al., 2015).

DEHA, DIDA a DINCH jsou poměrně hydrofobní, obdobně jako DEHP nebo např. DINP mají COMGHA, TOTM nebo ESBO podobnou lipofilitu, avšak vykazují nižší

hodnoty log K_{ow} . GTA, DEHPA, DPGDB a DEGDB patří do skupiny alternativních plastifikátorů s poměrně nízkou hodnotou log K_{ow} . Tyto látky mají kratší uhlíkové řetězce a v důsledku toho jsou více hydrofilní. U fosfátových plastifikátorů hydrofilní fosfátové skupiny podstatně snižují jejich hydrofobicitu navzdory relativně dlouhým uhlíkatým řetězcům (o osmi uhlících) (Bui et al., 2015).

3.6.3 Toxikologické informace o alternativních plastifikátorech

Téměř u všech látek, které byly uvedeny výše jako příklady alternativních plastifikátorů k ftalátům, nebyla zjištěna prakticky žádná akutní toxicita ani genotoxicita. Jen několik z nich (ESBO, DEHPA, TEHPA) způsobovalo při experimentech na zvířatech podráždění očí. Co se týče karcinogenity pro člověka, pro většinu alternativních plastifikátorů neexistují nebo není dostatek relevantních a průkazných údajů na základě dostupných studií. Reprodukční toxicita byla prokázána pouze pro TCP, která je právě kvůli tomu klasifikována jako toxická látka. V mnoha případech byly zjištěny důkazy o potenciální endokrinní disrupci způsobované těmito látkami. Jedná se zejména o ATBC, TEHPA a TCP. U ABTC, TCP a GTA byla rovněž na zvířecích modelech zjištěna neurotoxicita (Bui et al., 2015).

3.7 Možnosti analytického stanovení ftalátů v potravinách

Estery kyseliny ftalové jsou semivolatilní (mohou se vyskytovat v plynné i kapalně formě), stabilní a nepolární či málo polární látky široce rozšířené v životním prostředí. Protože nejde o čisté chemické látky, ale o směs několika isomerů, je jejich analýza složitější. Bylo vyvinuto několik metod pro jejich determinaci ve velice široké škále matricí, zahrnujících vodu, půdu, sedimenty, prach, vzduch a biologické materiály včetně potravin (Staples, 2003).

Obecně lze říci, že kvantitativní metody stanovení PAEs v potravinách jsou většinou založeny na chromatografických technikách. Mezi všemi analytickými metodami, 33% podíl představuje plynová chromatografie v kombinaci s hmotnostní spektrometrií (GC-MS), vysokoúčinná kapalinová chromatografie v kombinaci s hmotnostní spektrometrií (HPLC-MS) zaujímá asi 16 % stanovení. Významnými menšinovými metodami jsou detekce pomocí senzorů a UV-VIS spektroskopie (Yang et al., 2015).

Proces analýzy ftalátů ve vzorcích potravin zahrnuje přípravu vzorku, extrakci, purifikaci, separaci a instrumentální detekci (Guo a Kannan, 2012). Extrakce a purifikace

jsou z hlediska možnosti kontaminace kritickými kroky rozhodujícími pro konečné hodnoty detekčních limitů metod stanovení (Cao, 2010).

3.7.1 Extrakce

Pro analýzu jsou obvyklé před separací a kvantifikací vyžadovány extrakce a přečišťování. Obsah ftalátů je obecně v potravinách nízký a někdy nižší než detekční limity příslušných analytických metod. Interference s maticí jsou poměrně velké a je velice obtížné je zcela eliminovat. Vzhledem k tomu, že ftaláty jsou ubikvitární, vzorky potravin jsou náchylné ke kontaminaci během analýzy. Ultrastopové analyty mají tendenci ke ztrátě během přípravy vzorku (Yang et al., 2015).

Pro zajištění požadované citlivosti a přesnosti analytického stanovení PAEs je zcela nezbytné použít efektivních technik přípravy vzorku. V současnosti se v tomto ohledu uplatňují trendy integrace extrakce a přečišťování (purifikace), miniaturizace a automatizace přípravy vzorků a omezování použití organických rozpouštědel a minimalizace množství použitého vzorku (Yang et al., 2015).

Bylo vyvinuto několik extrakčních metod pro prekoncentrování a/nebo přečištění PAEs ve vzorcích potravin. Nejrozšířenějšími postupy přípravy vzorků jsou extrakce z kapaliny do kapaliny (LLE) a extrakce na pevné fázi (SPE) (Farajzadeh et al., 2012). Metoda extrakce na pevné fázi je jednou z široce využívaných technik pro izolaci a obohacování analytů z různých matic. Na základě rozdělovacího koeficientu dochází k separaci mezi pevným sorbentem a mobilní fází. Efektivita extrakce může být ovlivněna mnoha faktory – např. složením absorpčního materiálu, tvarem a velikostí sorbentu (Yang et al., 2015).

Modifikací výše zmíněných extrakčních metod vznikly mikroextrakce na pevné fázi (SPME), založená na rovnováze mezi množstvím analytu extrahovaného tenkou vrstvou sorbentu a jeho koncentrací ve vzorku, a mikroextrakce na kapalně fázi (LPME) (Farajzadeh et al., 2012; Yang et al., 2015).

Nejnovějšími moderními metodami jsou pak (dle Yang et al., 2015):

- *extrakce na molekulárně imprintované pevné fázi (MISPE)*, kdy se analyty a strukturální analogy selektivně váží s molekulárními imprinty a poté mohou být izolovány z komplexních maticí;
- *magnetická extrakce na pevné fázi (MSPE)*, která vznikla modifikací konvenční SPE použitím magnetických nanosorbentů;
- *disperzní mikroextrakce z kapaliny do kapaliny (DLLME)*;

- *QuEChERS* vyznačující se zjednodušeným postupem a zahrnující kroky jako homogenizace vzorku, extrakce acetonitrilem, dehydratace síranem hořečnatým, odstranění nečistot primárním-sekundárním aminem (PSA) a analýza supernatantu pomocí GC-MS nebo LC-MS.

Dalšími možnými metodami použitelnými při analýze PAEs v potravinách mohou být disperzní SPE, mikroextrakce kapalnou fází s využitím dutého vlákna (HF-LPME) a membránová extrakce (Yang et al., 2015).

Vzorky potravin lze kategorizovat do dvou skupin – první jsou kapalné a druhou jsou pevné či polopevné vzorky. Vzhledem k různicím se typům vzorků potravin není možné používat jednu metodu či stejné dílčí procesy analýzy pro všechny tyto typy (Guo a Kannan, 2012).

Metodami extrakce z kapalných potravin neobsahujících lipidy (voda, ovocné šťávy a jiné nápoje) jsou extrakce z kapaliny do kapaliny (LLE) pomocí organických rozpouštědel, dále extrakce na pevné fázi (SPE) a mikroextrakce na pevné fázi (SPME) (Guo a Kannan, 2012). Extrakce z kapaliny do kapaliny se obvykle provádí s nepolárními organickými rozpouštědly, jako je hexan, dichlormethan nebo isooktan, a vyžaduje jejich velkou spotřebu, přičemž samotný průběh je poměrně dlouhý. Následuje fázová separace na centrifuze a odejmutí vody přidavkem bezvodého síranu sodného a krok odpařování pro zakoncentrování vzorku extraktu. SPME představuje rychlou extrakci bez použití rozpouštědel. Vlákná sorbentu mohou být ponořena přímo do vzorku kapalné potravin nebo je lze umístit do „headspace“ vialky nad tento vzorek (Cao, 2010; Guo a Kannan, 2012; Kim et al., 2016).

Metody pro extrakci ftalátů z pevných či polopevných vzorků potravin by měly být co nejjednodušší. Obvykle je použita extrakce z pevné fáze do kapaliny (SLE) ve skleněné baňce za mechanického třepání. Průběh extrakce je obdobný jako u kapalných potravin. Po ní následuje purifikační gelová permeační chromatografie (GPC) či LLE (Guo a Kannan, 2012).

3.7.2 Purifikace

Metody stanovení ftalátů v potravinách mohou být rozděleny do dvou kategorií dle obsahu tuku v matrici – s obsahem tuku pod 1 % a s vysokým obsahem tuku. Při stanovení u první kategorie jsou ftaláty extrahovány společně s dalšími složkami vzorku (koextrakty), jako jsou steroly, pigmenty, flavanoidy, vosky, mastné kyseliny atd. Po extrakci je nutné přečištění kolonovou chromatografií nebo extrakcí na pevné fázi.

Separace ftalátů od koextrahovaných složek vzorku je při přečišťování založena na rozdílných polaritách těchto skupin látek (Staples, 2003).

U matric s vysokým obsahem tuku je hlavním problémem koextrakce tuků. Protože obě skupiny látek mají obdobnou polaritu, je složité oddělit je pomocí metod založených na kolonové chromatografii nebo extrakcí na pevné fázi. Tuková matrice může být odstraněna přečištěním gelovou permeační chromatografií (GPC), kdy dochází k dělení molekul dle jejich velikosti. Větší molekuly nemohou projít póry v gelu a jsou eluovány před menšími molekulami, které projít mohou. Na koloně GPC jsou separovány od lipidů ftaláty o molekulové hmotnosti od 200 do 400 Da. Mobilní fází může být v poměru 1:1 směs dichlormethanu a cyklohexanu, cyklohexanu a ethylacetátu nebo dichlormethanu a hexanu (Guo a Kannan, 2012; Staples, 2003). Alternativou k GPC může být LLE za pomoci acetonitrilu a hexanu, které separují lipidy od ftalátů. Ve srovnání s GPC se při LLE spotřebovává méně rozpouštědel, čímž se redukuje výše kontaminace ftaláty z procesu (Guo a Kannan, 2012).

3.7.3 Separace a detekce

Analýza ftalátů je většinou prováděna plynovou chromatografií (GC) a to zejména v kombinaci s hmotnostní detekcí (MS). Ftaláty od nejtěkavějšího DMP po didodecylftalát (DDP) mohou být analyzovány kapilární plynovou chromatografií (CGC), protože jsou dostatečně těkavé a termostabilní. V rámci této práce využita vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC) může být užita jako vhodná alternativa k přechozí, zejména při analýze isomerních směsí (Staples, 2003). Dochází zde ale k velké spotřebě organických rozpouštědel. Pro obě metody je nutné podrobit vzorek purifikaci v rámci přípravy (Ni et al., 2015), ovšem je nutno zmínit speciálně vyvinutou techniku GC-MS s dávkovačem v kombinaci s termální desorpcí, která umožňuje přímou injekci extraktu do odpařovací části dávkovače bez předchozí separace lipidů (Frankhauser-Noti a Grob, 2006).

Velký potenciál mají i multidimenzní chromatografické metody (např. GC×GC s detektorem doby průletu TOF-MS). Excelentní alternativou k HPLC-MS (HPLC-MS/MS) je ultra-vysokoúčinná kapalinová chromatografie (UHPLC) v kombinaci s MS/MS detektorem (Yang et al., 2015). Možností je i kapilární elektrokinetická chromatografie (EKC) – rychlá, efektivní separační metoda s minimální spotřebou rozpouštědel (Ni et al., 2015).

Plynová chromatografie (GC)

Metoda je používána, v kombinaci s detektory hmotnostního spektra (MS; MS/MS), detektory elektronového záhytu (ECD) a plamenově-ionizačními (FID) detektory, v analýze PAEs pro svou vysokou reprodukovatelnost a specifitu (Guo a Kannan, 2012; Otero et al., 2015; Yang et al., 2015).

Proces analýzy se skládá z nanesení vzorku (nejčastěji nástřik vzorku bez děliče toku), separace (zpravidla v nepolární nebo středně polární koloně), detekce a kvantifikace (tzv. metodou vnitřního standardu, vnějšího standardu nebo kalibrační křivkou) (Yang et al., 2015).

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC)

HPLC je rozšířena v analýze tepelně nestabilních a netěkavých organických látek. Metoda se používá jako alternativa k GC pro analýzu isomerních směsí ftalátů (jak již bylo zmíněno výše). Je ovšem ve srovnání s GC méně citlivá. Výhodami jsou ale lepší selektivita informací o molekulových hmotnostech a spolehlivější kvantifikace PAEs v isomerních směsích, kratší doba analýz a jednodušší postup čištění (Staples, 2003; Yang et al., 2015).

Proces analýzy sestává ze stejných kroků jako tomu bylo u GC. Pro separaci PAEs je používána kolona C18. Díky rozdílům ve fyzikálně-chemických vlastnostech jednotlivých ftalátů je obvyklá gradientová eluce a použití mobilní fáze methanol-voda obsahující malé množství kyseliny mravenčí nebo octové. Častou náhradou methanolu je acetonitril pro svou vyšší eluční schopnost a nižší koeficient viskozity. Detektory diodového pole (DAD) a UV-VIS, donedávna běžně používané pro analýzu PAEs, jsou nahrazovány detektory hmotnostními (MS) (Yang et al., 2015).

3.7.4 Riziko kontaminace vzorků

Ke kontaminaci vzorků ftaláty z vnějšího prostředí může dojít v průběhu celé analýzy – tzn. při vzorkování, přípravě vzorků i chromatografické analýze (např. z nosného plynu, promývacího rozpouštědla, z těsnění a víček vialek, sept injektorů atd.). Ftaláty jsou tak široce rozšířené, že se vyskytují v laboratorním vzduchu, sorbentech, plastech a na povrchu skleněných a kovových pomůcek aj. (Marega et al., 2012; Staples, 2003). I organická rozpouštědla o vysoké čistotě rovněž obsahují PAEs (v množství kolem 1 ng.ml^{-1}). HPLC je oproti GC náchylnější ke kontaminaci díky své komplexitě (Yang et al., 2015).

Pro vyloučení kontaminace PAEs během analytického procesu je vhodné vyloučit veškeré plastové pomůcky, purifikovat organická rozpouštědla oxidem hlinitým, opláchnout skleněné nádoby organickým rozpouštědlem testovaným na PAEs oproti blanku, veškeré laboratorní pomůcky uchovávat v desikátoru s oxidem hlinitým a veškeré použité pomůcky a chemikálie otestovat na obsah ftalátů (Yang et al., 2015).

4 MATERIÁL A METODY

4.1 Materiál

4.1.1 Chemikálie

Během analýzy byly používány následující chemikálie:

- organická rozpouštědla (o čistotě p.a., $\geq 99,9$ %) – n-hexan a aceton (od firmy Penta s.r.o., ČR), dichlormethan, cyklohexan (od firmy Lach-Ner, s.r.o., ČR) a acetonitril (o čistotě HPLC gradient grade; od firmy Sigma-Aldrich spol. s.r.o., ČR);
- kyselina sírová (o čistotě min. 96 % a min. 65 %, od firmy Lach-Ner, s.r.o., ČR);
- dusík (od firmy SIAD Czech, spol. s r.o., ČR);
- deionizovaná voda (vyrobená v zařízení s komerčním názvem Demiwa ros od firmy Watek s.r.o., ČR);
- standardy dibutylftalátu a bis(2-ethylhexyl)ftalátu (od firmy Supelco v rámci Sigma-Aldrich Co. LLC, USA).

4.1.2 Přístroje a pomůcky

V rámci práce v laboratoři byly použity tyto pomůcky a zařízení:

- mixér FP 8010, Catler (od firmy FAST ČR, a.s. divize Catler, ČR);
- lyofilizátor Alpha 1-2 LD plus, řada Christ (od firmy Pragolab s.r.o., ČR);
- orbitální třepačka GFL 3005 (od firmy GFL mbH, Německo);
- analytické váhy ABJ 220-4M (od firmy Kern & Sohn GmbH, Německo);
- ultrazvuková lázeň PS 10000 A (od firmy Notus-Powersonic s.r.o., SR);
- filtrační papír (dekontaminovaný v acetonu v režimu 3×24 h; od firmy Papírna Perštejn spol. s r.o. Keseg & Rathouský, ČR);
- třepačka VORTEX IKA MS 2 (od firmy INDEX-Werke GmbH & Co. KG Hahn & Tessky, Německo);
- centrifuga D-78532 universal 32 R (od firmy Andreas Hettich GmbH & Co.KG, Německo);
- rotační vakuová odparka IKA RV 05-ST (od firmy INDEX-Werke GmbH & Co. KG Hahn & Tessky, Německo);
- termostat EVATERM (od firmy Labicom s.r.o., ČR);
- Hamiltonovy mikrostříkačky

- laboratorní nádobí
- sestava GPC (od firmy Ecom spol. s.r.o., ČR) zahrnující:
 - isokratickou pumpu LCP 400
 - UV-VIS detektor LCD 2083
 - kolonu MAG 3 (10×500 mm) s náplní Bio-Beads S-X3 a zrnitostí 200-400
 - mobilní fázi jako směs dichlormethanu a cyklohexanu v poměru 1:1;
- sestava HPLC Agilent 1100 Series (od firmy Agilent Technologies INC., USA) zahrnuje:
 - automatický dávkovač (10 µl vzorku)
 - isokratickou pumpu
 - kolonu ZORBAX Eclipse XDB-C8 (4,6×150 mm, 5 µm)
 - mobilní fázi ve formě acetonitrilu (100%) o průtoku 0,8 ml.min⁻¹
 - UV detektor s vlnovou délkou 224 nm
 - software Agilent Chemstation for LC and LC/MS systems (16 min/analýza)

4.1.3 Obalový materiál

Analyzovány na obsah DBP a DEHP byly obaly určené k balení masných výrobků. Obsah byl sledován v celkem pěti různých obalových materiálech (s označením A, B, C, D a E). Jednalo se o textilní obaly s barevným potiskem. Analýza byla provedena u každého typu obalu dvakrát (celkem tedy 10 analýz) a probíhala v laboratořích Ústavu technologie potravin Mendelovy univerzity v Brně v rámci projektu IGA AF IP 10/2014.

4.1.4 Dílo a masné výrobky

Do pěti různých obalů (A, B, C, D a E), které byly předem zanalyzovány na obsah DBP a DEHP bylo naplněno dílo modelového masného výrobku typu Gothajský salám s 30% tučností. Modelový výrobek byl vyroben v masném poloprovozu na Ústavu technologie potravin Mendelovy univerzity v Brně ve 150 kusech o hmotnostech v rozmezí 350 až 400 g. V díle byl před naplněním do obalů rovněž stanoven obsah DBP a DEHP. Po naplnění obalů dílem byl výrobek skladován při teplotě 4 °C po dobu 28 dní. Poté byla prováděna analýza masných výrobků na obsah DBP a DEHP po prvním, sedmém, čtrnáctém, jednadvacátém a osmadvacátém dni skladování (vždy šest opakování, n = 6). Pro každý typ obalu bylo tedy zanalyzováno 30 masných výrobků

(celkem 150 stanovení) v laboratořích Ústavu technologie potravin Mendelovy univerzity v Brně.

4.2 Metody

4.2.1 Stanovení ftalátů v obalových materiálech

Jak již bylo předesláno v předchozí kapitole o možnostech analytického stanovení ftalátů v potravinách, proces analýzy ftalátů zahrnuje přípravu vzorků, extrakci, purifikaci, separaci a instrumentální detekci. Metoda analýzy obalů na obsah dibutylftalátu a bis(2-ethylhexyl)ftalátu, použitá při zpracování této práce, byla převzata od Gajdůškové et al. z roku 1996.

Z jednotlivých testovaných obalů byly odebrány vždy dva vzorky o ploše 10×10 cm (1 dm^2) a dezintegrovány na drobné částičky. Tyto byly poté kvantitativně převedeny do Erlenmayerových baněk, kam byla následně přidána směs rozpouštědel cyklohexanu a dichlormethanu v poměru 1:1 a tato suspenze byla po dobu 72 h vyluhována.

Po vyluhování následovala trojnásobná extrakce ekvimolární směsí dichlormethanu a hexanu, přičemž nejprve byla doba procesu 60 min a dále vždy 30 min. Po každé extrakci následovala filtrace a vakuové odpařování (při $40 \text{ }^\circ\text{C}$) s následným dosušením dusíkem. Hexanem o objemu 2 ml, 2 ml a 1 ml byl získaný extrakt opakovaně kvantitativně převeden do vialek. V závislosti na zbarvení a zakalení získaných extraktů byly tyto následně zpracovány a uchovány v chladu.

Čirý extrakt byl pouze dosušen a po přidavku acetonitrilu připraven k vlastní analýze. Zbarvený či zakalený extrakt byl odstředěn na centrifuze (10 min , $1000 \text{ otáček} \cdot \text{min}^{-1}$, $4 \text{ }^\circ\text{C}$), kde došlo k rozdělení vrstev vzorku. Ze svrchní vrstvy bylo do čisté vialky odebráno 1,5 ml odděleného extraktu a poté dosušeno. Extrakt v původní vialce byl znovu podroben totožnému procesu odstředění, dosušení a odebrání 1,5 ml ze svrchní vrstvy. Odstředěný extrakt v čisté vialce byl dosušen a doplněn na objem 1 ml acetonitrilem. Pokud byly extrakty zvláště silně zbarvené či zakalené, byly před přidáním acetonitrilu pro konečnou analýzu přesušeny dusíkem až na objem 1 ml za přidavku koncentrované kyseliny sírové (96 %) do vyčerení.

Při přečišťování kyselinou sírovou bylo nutné dodržet následující postup – po přidavku kyseliny byla vialka se vzorkem dána na orbitální třepačku (10 min) a odstředěna na centrifuze (za výše zmíněných podmínek). Svrchní vrstva s hexanem byla mikrostříkačkou odebrána a do vialky byl přidán hexan (1 ml) a kyselina sírová (2 ml, 65%). Vzorek byl opět ponechán na třepačce a následně na centrifuze (za totožných

podmínek jako v předchozím kroku). Svrchní frakce s hexanem byla nyní převedena do čisté vialky. Tento poslední krok byl následně proveden dvakrát stejným způsobem. Opakovaně oddělená svrchní frakce hexanu byla dosušena pod dusíkem a po přidavku acetonitrilu uchován v chladu pro následnou analýzu metodou HPLC.

Před jakoukoli manipulací a prací se vzorky obalů i masných výrobků bylo laboratorní nádobí a pomůcky důkladně umyty, vypláchnuty třikrát destilovanou vodou a po dokonalém vyschnutí třikrát vypláchnuty po celém vnitřním povrchu hexanem.

4.2.2 Stanovení ftalátů v díle a masných výrobcích

Metoda analýzy vzorků masných výrobků na obsah dibutylftalátu a bis(2-ethylhexyl)ftalátu, použitá při zpracování této práce, byla převzata od Jarošové et al. z roku 1999. Vzorky masných výrobků byly nejprve celé zhomogenizovány, z nich byl dále vytvořen tzv. reprezentativní vzorek, který byl poté rozvážen (po 20 až 30 g) do hliníkových misek, jež byly uloženy v mrazicí skříni (o teplotě min. -18 °C) pečlivě zabalené v plastovém sáčku.

Dalším krokem byla lyofilizace těchto vzorků (0,08 mBar, 36 h) a jejich následné kvantitativní převedení do Erlenmayerových baněk pro trojnásobnou extrakci. Extrakce probíhala 60, 30 a 30 min na třepačce za použití ekvimolární směsi hexanu a acetonu. Po každém cyklu byly extrakty přefiltrovány do čistých titračních baněk. Po posledním cyklu byly filtráty zakoncentrovány vakuovým odpařováním (při 40 °C) a dosušeny pod dusíkem.

Přečištění extraktů od balastních látek bylo provedeno metodou GPC. Nejprve bylo nutné provést promytí kolony před analýzou (po dobu 30 min, rychlostí 0,2 ml.min⁻¹) a kalibraci za účasti standardů DBP (1 ml) a DEHP (1 ml). Standardy byly po rozpuštění v acetonitrilu a jeho následném odpaření pod dusíkem smíchány v čisté vialce s mobilní fází, což byla směs dichlormethanu a cyklohexanu v poměru 1:1, na objem 2 ml. Průtok po nanesení takto připravených standardů do nástřikového prostoru přístroje odpovídal 1 ml.min⁻¹. Zjištěný eluční čas standardů obou ftalátů byl rozhodující pro správné oddělení odpovídající ftalátové frakce při následném přečišťování vzorků.

Extrakt vlastních vzorků (0,5 g) byl pro GPC rozpuštěn v mobilní fázi (na objem 2 ml) a důkladně promíchán na vortexu. Z tohoto objemu byl vnesen do nástřikového prostoru přístroje 1 ml (průtok 1 ml.min⁻¹). Požadovaná ftalátová frakce byla zachytávána do čistých srdcových baněk, zakoncentrována na odparce a dosušena pod dusíkem. Získané přečištěné vzorky byly kvantitativně převedeny do čistých vialek hexanem (po

1,5; 1,5 a 1 ml), který byl následně odpařen na objem 1 ml. K tomuto objemu byl přidán 1 ml koncentrované kyseliny sírové (96%) a vialky se nechaly 10 min třepat na třepačce. Pro oddělení fází bylo nutné odstředění (10 min, 1000 otáček.min⁻¹, 4 °C), odebrání a odstranění svrchní hexanové vrstvy mikrostríkačkou, přidání 1 ml hexanu a 2 ml ředěné kyseliny sírové (65%). Cyklus třepání a odstřeďování se poté opakoval, přičemž byla svrchní hexanová frakce odebrána a převedena do čisté vialky. Tento krok zahrnující třepání, odstřeďování, přidavku hexanu a kyseliny sírové a převedení hexanové frakce do vialky se dvakrát opakoval za totožných podmínek. Sesbíraná hexanová frakce ve vialce byla dosušena pod dusíkem a zbylá frakce ftalátů rozpuštěna 1 ml acetonitrilu. Takto připravené vzorky byly před následnou analýzou pomocí HPLC uchovány v chladu.

Vlastní stanovení DBP a DEHP bylo provedeno pomocí HPLC na reverzní fázi s UV detekcí (224 nm). Na základě kalibrační křivky o pěti bodech (koncentrace 0,2; 0,5; 1; 5 a 10 mg.l⁻¹) byla provedena kvantifikace obsahu DBP a DEHP ve vzorcích za současného využití hodnot ploch píků. Kvalifikace výstupů byla provedena dle elučních časů za daných podmínek. Analýza jednoho vzorku (o objemu při nástřiku 10 µl) probíhala vždy duplicitně. Detekční limit pro DBP a DEHP v obalových materiálech byl stanoven na 0,1 mg.kg⁻¹ původního vzorku a pro DBP a DEHP s tukovou maticí na 0,2 mg.kg⁻¹ původního vzorku (výsledek nižší označen jako nedetekovaný – ND). Nutno zmínit, že před každou analýzou i po ní byla kolona promyta mobilní fází (acetonitrilem).

4.2.3 Statistické zpracování dat

Základní statistické zpracování dat (pro získání aritmetického průměru, směrodatné odchylky a rozptylu; tabulky a grafy) bylo provedeno v programu Microsoft Office Excel 2016. Aritmetický průměr je součtem naměřených údajů dělený jejich počtem. Směrodatná odchylka a rozptyl se vztahují k aritmetickému průměru tak, že udávají rozptýlenost dat kolem něj. Rozptyl je průměrná kvadratická odchylka měření od aritmetického průměru a směrodatná odchylka je odmocninou z rozptylu (Hendl, 2012).

Pokročilá analýza (T-test) byla provedena rovněž v programu Microsoft Office Excel 2016, mimo regresní analýzy, která byla provedena v programu Origin 8.5.1, který používá pro regresi Levenberg-Marquardtův algoritmus. Z regresní analýzy byla získána regresní křivka, koeficient korelace a koeficient determinace. Lineární regrese je metodika, která slouží k popsání závislosti jedné proměnné (y) na druhé proměnné (x) prostřednictvím lineární regresní rovnice. Koeficient determinace je poměrem vysvětlené

ku celkové variabilitě proměnné y . Nabývá hodnot v intervalu $\langle 0;1 \rangle$. Koeficient korelace je číselnou charakteristikou vyjadřující míru závislosti mezi dvěma proměnnými a nabývá hodnot v intervalu $\langle -1;1 \rangle$, přičemž hodnoty blízké číslu $+1$ ukazují na přímou závislost veličin, hodnoty kolem 0 ukazují na nezávislost (Hendl, 2012).

Při vyhodnocování celkové koncentrace DBP a DEHP bylo nutné slučování naměřených veličin. Výsledná veličina je součtem či rozdílem naměřených veličin a pro směrodatnou odchylku výsledné veličiny platí: $s_u = \sqrt{(s_x^2 + s_y^2)}$, kde u je výsledná veličina, s_x a s_y jsou směrodatné odchylky aritmetických průměrů naměřených veličin (Jezbera, 2012).

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

5.1 Koncentrace ftalátů v obalových materiálech

Pro zjištění koncentrace ftalátů (DBP a DEHP) bylo zanalyzováno pět obalů masných výrobků paralelně. Bylo tedy provedeno deset analýz. Hodnoty koncentrací DBP a DEHP ve sledovaných obalech ($n = 5$) jsou uvedeny v Tab. 1 – 5 v $\mu\text{g.dm}^{-2}$ a mg.kg^{-1} , dále jsou v tabulce uvedeny hodnoty pro minimum a maximum, směrodatnou odchylku, rozptyl u každého vzorku pro DBP a DEHP. Tab. 6 uvádí přehled zjištěných koncentrací DBP a DEHP v obalech A – E.

Tab. 1 Koncentrace DBP a DEHP v obalu A (v $\mu\text{g.dm}^{-2}$ a mg.kg^{-1})

Obal A						
	průměr		minimum	maximum	směrodatná odchylka	rozptyl
	$\mu\text{g.dm}^{-2}$	mg.kg^{-1}				
DBP	4,4	4,4	4,2	4,5	0,1	0,0
DEHP	19,1	19,1	18,4	19,8	0,7	0,5

Tab. 2 Koncentrace DBP a DEHP v obalu B (v $\mu\text{g.dm}^{-2}$ a mg.kg^{-1})

Obal B						
	průměr		minimum	maximum	směrodatná odchylka	rozptyl
	$\mu\text{g.dm}^{-2}$	mg.kg^{-1}				
DBP	8,3	8,5	8,1	8,4	0,2	0,0
DEHP	16,8	17,4	15,9	17,6	0,9	0,7

Tab. 3 Koncentrace DBP a DEHP v obalu C (v $\mu\text{g.dm}^{-2}$ a mg.kg^{-1})

Obal C						
	průměr		minimum	maximum	směrodatná odchylka	rozptyl
	$\mu\text{g.dm}^{-2}$	mg.kg^{-1}				
DBP	24,0	24,6	19,4	28,5	4,6	21,1
DEHP	103,3	106,2	98,6	108,1	4,8	22,8

Tab. 4 Koncentrace DBP a DEHP v obalu D (v $\mu\text{g}.\text{dm}^{-2}$ a $\text{mg}.\text{kg}^{-1}$)

Obal D						
	průměr		minimum	maximum	směrodatná odchylka	rozptyl
	$\mu\text{g}.\text{dm}^{-2}$	$\text{mg}.\text{kg}^{-1}$				
DBP	15,1	18,6	14,3	15,9	0,8	0,6
DEHP	26,5	32,7	22,7	30,3	3,8	14,4

Tab. 5 Koncentrace DBP a DEHP v obalu E (v $\mu\text{g}.\text{dm}^{-2}$ a $\text{mg}.\text{kg}^{-1}$)

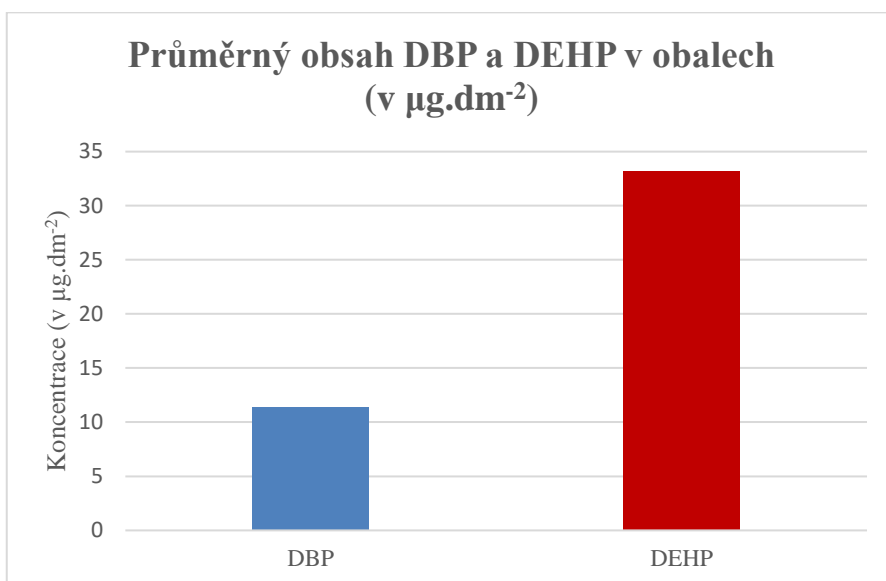
Obal E						
	průměr		minimum	maximum	směrodatná odchylka	rozptyl
	$\mu\text{g}.\text{dm}^{-2}$	$\text{mg}.\text{kg}^{-1}$				
DBP	5,3	6,6	5	5,5	0,3	0,1
DEHP	0,3	0,4	0,1	0,5	0,2	0,0

Tab. 6 Přehled koncentrací DBP a DEHP v obalech A – E (v $\mu\text{g}.\text{dm}^{-2}$ a $\text{mg}.\text{kg}^{-1}$)

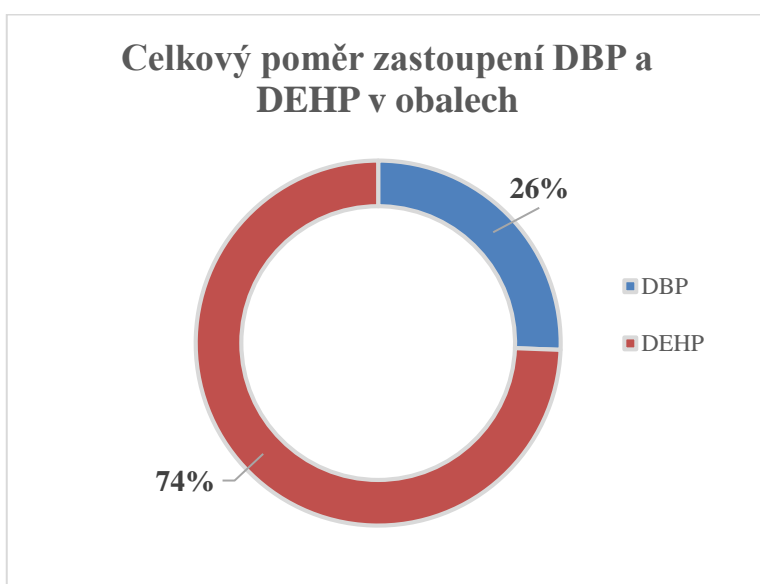
obal	průměrná koncentrace			
	DBP		DEHP	
	$\mu\text{g}.\text{dm}^{-2}$	$\text{mg}.\text{kg}^{-1}$	$\mu\text{g}.\text{dm}^{-2}$	$\text{mg}.\text{kg}^{-1}$
A	4,4	4,4	19,1	19,1
B	8,3	8,5	16,8	17,4
C	24,0	24,6	103,3	106,2
D	15,1	18,6	26,5	32,7
E	5,3	6,6	0,3	0,4

Hodnoty koncentrací DBP ve sledovaných obalech se pohybovaly mezi 4,4 a 24,6 $\text{mg}.\text{kg}^{-1}$ (4,4 – 24,0 $\mu\text{g}.\text{dm}^{-2}$) původního vzorku. Nejvyšší koncentrace DBP byla naměřena u obalu C, nejnižší u obalu A. Rozmezí pro hodnoty koncentrací DEHP bylo od 0,4 do 106,2 $\text{mg}.\text{kg}^{-1}$ (0,3 – 103,3 $\mu\text{g}.\text{dm}^{-2}$) původního vzorku. Nejvyšší obsah DEHP byl detekován u obalu C, nejnižší u obalu E.

Mezi obsahem DBP a DEHP v obalech masných výrobků ($n = 5$) byl statistickým zpracováním dat (T-testem) zjištěn statisticky vysoce významný rozdíl ($p < 0,001$). Na Obr. 3 jsou uvedeny průměrné hodnoty koncentrace DBP a DEHP v $\mu\text{g}.\text{dm}^{-2}$ zjištěné v analyzovaných obalech. Tyto hodnoty činily pro DBP 11,4 $\mu\text{g}.\text{dm}^{-2}$ a pro DEHP 33,2 $\mu\text{g}.\text{dm}^{-2}$. Na Obr. 4 je znázorněno procentuální zastoupení obsahu sledovaných ftalátů v obalech, které činilo pro DBP 26 % a pro DEHP 74 %.



Obr. 3 Průměrná koncentrace DBP a DEHP v obalech (A – E) masných výrobků (v µg.dm⁻²)



Obr. 4 Poměr zastoupení obsahu DBP a DEHP v obalech (A – E) masných výrobků

Koncentrace vybraných ftalátů zjištěné ve sledovaných obalech masných výrobků nepřekračovaly obecný migrační limit 10 mg.dm⁻² nebo 60 mg.kg⁻¹ stanovený nařízením Komise (EU) č. 10/2011.

Studie Aurely et al. (1999) zkoumala obsah ftalátů v obalech různých druhů potravin. Zanalyzováno bylo celkem 29 vzorků obalů, přičemž polovina z nich obsahovala nejméně 5 mg.kg⁻¹ ftalátů, s nejvyššími hodnotami pro DIBP (450 mg.kg⁻¹) a DBP (200 mg.kg⁻¹). V této studii byla zmíněna teorie, že zdrojem ftalátů ve sledovaných

obalech byly zřejmě lepidla používaná pro spojení či uzavření obalů. Dále tato skupina analyzovala na obsah ftalátů papírové barevné obaly cukru. Zjištěn byl výskyt DBP v množství 56 – 64 mg.kg⁻¹. Cukr byl po naplnění do těchto obalů skladován při pokojové teplotě po dobu čtyř měsíců, přičemž v něm byl následně detekován obsah DBP v množství 0,5 – 1,0 mg.kg⁻¹.

Balafas et al. (1999) analyzovali obalové materiály mléčných produktů, pečených výrobků, pečiva, cukrovinek aj. shromážděných během 12 měsíců na obsah DMP, DEP, DBP, BBP, DEHP a DOP. Všechny vzorky (136) obsahovaly alespoň jeden z těchto ftalátů, přičemž výsledný celkový obsah ftalátů v analyzovaných obalech byl 5 – 8160 µg.g⁻¹. Nejčastěji se vyskytoval DEHP (2 – 7058 µg.g⁻¹), dále DBP (ND – 4750 µg.g⁻¹) a BBP (ND – 2716 µg.g⁻¹). Nejvyšší koncentrace ftalátů byly zjištěny v potištěných obalech z polyethylenu, kde by nejvýznamnějším zdrojem (mimo ostatních složek a výrobních procesů) mohly být tiskařské inkousty.

Bogdanovičová et al. (2015) analyzovali obalové folie masných výrobků s cílem zjistit, zda existují rozdíly mezi obsahem DBP a DEHP v potištěných a nepotištěných částech těchto folií. Analyzovali celkem 22 vzorků obalových folií. Obsah ftalátů se u potištěných vzorků pohyboval od 2,18 do 81,33 µg.dm⁻² a u nepotištěných vzorků od 2,25 do 69,88 µg.dm⁻². Vzhledem k vysoké variabilitě v obsahu ftalátů, z výsledků nebyl zjištěn průkazný rozdíl v obsahu DBP a DEHP mezi potištěnými a nepotištěnými vzorky obalových folií.

Skupina Fierens et al. (2012) rovněž potvrdila, že DEHP patří k nejvíce zastoupeným ftalátům v obalech. Studie, která se zabývala kontaminací ftaláty na Belgickém trhu sledovala ve 400 vzorcích potravinářských obalů přítomnost osmi ftalátů a to DMP, DEP, DIBP, DBP, BBP, DEHP, DCHP a DOP. Vzorky byly rozděleny do 11 skupin, přičemž v téměř v každé skupině byly nejvyšší koncentrace DEHP a následoval DIBP, DBP a BBP.

Studie prováděná skupinou Hayashi et al. (2010) srovnávala kontaminaci ftaláty (konkrétně DEHP) u rýže z konvenčního a organického zemědělství. Výsledkem byl vyšší obsah DEHP u rýže pěstované konvenčně. Zdrojem vyššího obsahu ftalátů bylo podle nich rozšířené používání plastových folií k balení rýže z konvenčního zemědělství.

Vápenka et al. (2016) sledovali obsah kontaminantů ve 132 vzorcích potravinářských papírových obalů. Tyto zahrnovaly 69 nepotištěných vzorků papírových a kartonových obalů (8 z nich s polyethylenovou vrstvou), 12 nepotištěných vzorků pečicích papírů, 10 vzorků papírových obalů se speciálním olejivzdorným potiskem, 31 vzorků potištěných

papírových obalů bez polymerní vrstvy a 10 vzorků potištěných papírových obalů s polyethylenovou či polypropylenovou vrstvou. Analýzou byla zjištěna přítomnost 101 extrahovatelných kontaminantů zahrnujících mj. i látky původem z potiskových barev či lepidel (plastifikátory a rozpouštědla) nebo speciálních vrstev (rozpouštědla aj.). Mezi těmito látkami bylo téměř ve všech vzorcích testovaných obalových materiálů identifikováno také deset ftalátových plastifikátorů. Nejčastěji byl detekován DIBP, DBP a DEP. Nejvyšší obsah byl DBP (628 mg.kg^{-1}) a DIBP (108 mg.kg^{-1}). Na základě výsledků lze konstatovat, že při zamýšleném použití těchto obalů v potravinářství by mohly být překročeny příslušné legislativní limity až pro čtyři estery kyseliny ftalové (DMP, DEP, DBP a DIBP).

Vyšší obsah ftalátů v obalech s potiskem potvrzuje i studie Xueho et al. (2010), ve které bylo analyzováno třináct potištěných obalových materiálů určených pro styk s potravinami. Za účelem srovnání byly analyzovány 4 vzorky obalových materiálů bez potisku. Výsledky prokazovaly vyšší obsah ftalátů v obalech s potiskem než bez potisku. Proto byly dále analyzovány i tiskařské barvy (8 druhů) určené k tištění potravinářských obalů, přičemž byl zjištěn skutečně vysoký obsah ftalátů a tedy, že tyto barvy jsou významným zdrojem ftalátů.

Studie Zhanga et al. z roku 2008 nastínila, že také papírové obaly mohou obsahovat některé ftaláty používané z důvodu lepší přilnavosti barevného potisku na obal. Významné koncentrace DBP ($0,14 - 55 \text{ mg.kg}^{-1}$) a DINP ($0,09 - 20 \text{ mg.kg}^{-1}$) byly detekovány ve více než 60 % papírových obalů importovaných potravin.

5.2 Koncentrace ftalátů v díle a masných výrobcích

Modelovým masným výrobkem určeným pro sledování migrace ftalátů z obalů (s označením A – E) do tohoto typu potravin v závislosti na době skladování byl produkt typu „Gothajský salám“ s 30% tučností. Protože cílem pokusu bylo zjistit, zda jsou obaly zdrojem kontaminace masných výrobků, byl po jejich výrobě a před naplněním do příslušných obalů stanoven obsah ftalátů (DBP a DEHP) v díle ($n = 6$; výsledné hodnoty uvedeny v Tab. 7). Jak již bylo avizováno v předchozí části, obalů bylo pět (A – E) a pro každý z nich bylo vyrobeno třicet vzorků modelových masných výrobků, tedy celkově jich bylo k pokusu zabaleno 150, přičemž odběr vzorků těchto masných výrobků během následného skladování byl proveden první, sedmý, čtrnáctý, jednadvacátý a osmadvacátý den (vždy šest opakování, $n = 6$).

Migrace ftalátů byla sledována v níže uvedených vybraných obalech A, B, C, D a E (Tab. 1 – 6). Celkový migrační limit (10 mg.dm^{-2}) byl u všech vzorků splněn po celou dobu skladování, ovšem specifické migrační limity (SML) pro DBP ($0,3 \text{ mg.kg}^{-1}$) a DEHP ($1,5 \text{ mg.kg}^{-1}$) byly během skladování u některých obalů překročeny. Hodnoty koncentrací DBP a DEHP a základní statistické charakteristiky (průměr, minimum, maximum, směrodatná odchylka a rozptyl) obalů A, B, C, D a E jsou uvedeny v Tab. 1 – 6. Analýzou zjištěné hodnoty koncentrací DBP a DEHP (mg.kg^{-1}) ve vzorcích masných výrobků v průběhu skladování jsou společně se základními statistickými údaji (průměr, minimum, maximum, směrodatná odchylka a rozptyl) uvedeny v Tab. 8 – 12.

Tab. 7 Koncentrace DBP a DEHP (mg.kg^{-1}) v díle masného výrobku (ND – nedetekováno)

Koncentrace v díle (mg.kg^{-1})					
	průměr	minimum	maximum	směrodatná odchylka	rozptyl
DBP	ND	0,0	0,0	0,0	0,0
DEHP	ND	0,0	0,0	0,0	0,0

Tab. 8 Koncentrace DBP a DEHP (mg.kg^{-1}) v masných výrobcích v průběhu skladování – obal A

Koncentrace v masných výrobcích – obal A (mg.kg^{-1})						
		den skladování				
		1	7	14	21	28
DBP	průměr	0,4	1,3	2,1	3,1	3,4
	minimum	0,0	0,6	0,8	1,7	1,1
	maximum	1,3	2,4	3,9	5,6	5,8
	směrodatná odchylka	0,5	0,7	1,1	1,4	1,5
	rozptyl	0,3	0,5	1,2	1,9	2,2
DEHP	průměr	0,6	8,8	11,3	14,4	14,7
	minimum	0,1	6,3	7,6	9,7	4,2
	maximum	1,4	10,9	13,7	24,0	21,3
	směrodatná odchylka	0,4	1,9	2,3	4,9	5,4
	rozptyl	0,2	3,6	5,3	23,8	29,1

Tab. 9 Koncentrace DBP a DEHP (mg.kg^{-1}) v masných výrobcích v průběhu skladování – obal B

Koncentrace v masných výrobcích – obal B (mg.kg^{-1})						
		den skladování				
		1	7	14	21	28
DBP	průměr	0,2	0,7	1,8	2,9	4,3
	minimum	0,0	0,4	0,7	1,6	2,8
	maximum	0,7	1,1	2,5	3,6	5,6
	směrodatná odchylka	0,2	0,3	0,6	0,7	0,9
	rozptyl	0,1	0,1	0,4	0,4	0,8
DEHP	průměr	1,5	11,9	19,1	21,6	28,2
	minimum	0,0	6,4	13,8	8,4	18,3
	maximum	3,4	16,7	23,8	30,1	33,4
	směrodatná odchylka	1,4	4,1	3,6	7,0	4,9
	rozptyl	2,0	16,6	13,0	48,5	23,6

Tab. 10 Koncentrace DBP a DEHP (mg.kg^{-1}) v masných výrobcích v průběhu skladování – obal C (ND – nedetekováno)

Koncentrace v masných výrobcích – obal C (mg.kg^{-1})						
		den skladování				
		1	7	14	21	28
DBP	průměr	ND	0,2	4,4	6,6	8,3
	minimum	0,0	0,0	2,3	5,4	5,2
	maximum	0,2	0,3	5,9	7,5	9,6
	směrodatná odchylka	0,1	0,1	1,1	0,7	1,4
	rozptyl	0,0	0,0	1,2	0,5	2,0
DEHP	průměr	1,7	7,1	12,1	13,8	14,8
	minimum	1,1	4,0	8,1	8,8	10,1
	maximum	2,5	11,0	18,2	20,0	22,2
	směrodatná odchylka	0,4	2,3	3,7	4,3	4,4
	rozptyl	0,2	5,2	13,4	18,7	19,3

Tab. 11 Koncentrace DBP a DEHP (mg.kg^{-1}) v masných výrobcích v průběhu skladování – obal D

Koncentrace v masných výrobcích – obal D (mg.kg^{-1})						
		den skladování				
		1	7	14	21	28
DBP	průměr	0,3	0,4	4,7	5,2	6,1
	minimum	0,0	0,0	3,4	4,7	5,0
	maximum	0,6	0,9	5,7	5,7	6,7
	směrodatná odchylka	0,2	0,3	0,7	0,4	0,5
	rozptyl	0,1	0,1	0,5	0,1	0,3
DEHP	průměr	2,4	7,9	13,1	13,2	13,2
	minimum	1,6	5,3	10,7	10,6	10,6
	maximum	3,1	12,8	15,3	15,4	16,7
	směrodatná odchylka	0,6	2,7	1,6	1,6	2,1
	rozptyl	0,4	7,4	2,6	2,5	4,4

Tab. 12 Koncentrace DBP a DEHP (mg.kg^{-1}) v masných výrobcích v průběhu skladování – obal E

Koncentrace v masných výrobcích – obal E (mg.kg^{-1})						
		den skladování				
		1	7	14	21	28
DBP	průměr	0,3	0,6	6,8	8,0	11,1
	minimum	0,2	0,3	5,0	6,5	8,5
	maximum	0,8	1,3	8,7	9,3	13,8
	směrodatná odchylka	0,2	0,3	1,5	0,9	1,8
	rozptyl	0,0	0,1	2,1	0,9	3,1
DEHP	průměr	1,9	9,3	10,6	10,8	15,4
	minimum	1,2	6,1	7,4	8,6	12,0
	maximum	2,5	12,2	13,5	12,5	20,9
	směrodatná odchylka	0,5	2,1	2,3	1,3	2,9
	rozptyl	0,2	4,6	5,4	1,6	8,6

V díle modelového masného výrobku nebyly detekovány sledované ftaláty (Tab. 7). Stoupající koncentrace DBP a DEHP byla pozorována až po zabalení do obalů a skladování vzorků masných výrobků (Tab. 8 – 12). Na základě tohoto zjištění lze tedy konstatovat, že v tomto případě zdrojem kontaminace masných výrobků ftaláty (DBP a DEHP) byly použité obaly.

Ve vzorcích masných výrobků zabalených do obalu A byl zjištěn průměrný obsah DBP mezi 0,4 a 3,4 mg.kg⁻¹ původního vzorku. Průměrné hodnoty koncentrace DEHP se pohybovaly mezi 0,6 a 14,7 mg.kg⁻¹ původního vzorku. K překročení specifického migračního limitu pro DBP došlo už po prvním dni skladování, kdy koncentrace tohoto ftalátu činila 0,4 mg.kg⁻¹ původního vzorku. U DEHP k překročení SML došlo sedmý den skladování (8,8 mg.kg⁻¹ původního vzorku).

Mezi 0,2 do 4,3 mg.kg⁻¹ původního vzorku se pohybovala průměrná koncentrace DBP ve vzorcích masných výrobků zabalených do obalu B. Obsah DEHP zde činil průměrně 1,5 - 28,2 mg.kg⁻¹ původního vzorku. Specifický migrační limit byl překročen pro DBP sedmý den skladování (0,7 mg.kg⁻¹ původního vzorku). Pro DEHP byla již první den skladování masných výrobků naměřena koncentrace shodná s limitní hodnotou danou SML (1,5 mg.kg⁻¹ původního vzorku).

Ve vzorcích masných výrobků zabalených do obalu C byla průměrná koncentrace DBP 0,1 – 8,3 mg.kg⁻¹ původního vzorku a DEHP 1,7 do 14,8 mg.kg⁻¹ původního vzorku. Během skladování byl čtrnáctý den překročen SML pro DBP (4,4 mg.kg⁻¹ původního vzorku) a už prvním dnem skladování byl překročen SML pro DEHP, kdy koncentrace dosahovala 1,7 mg.kg⁻¹ původního vzorku.

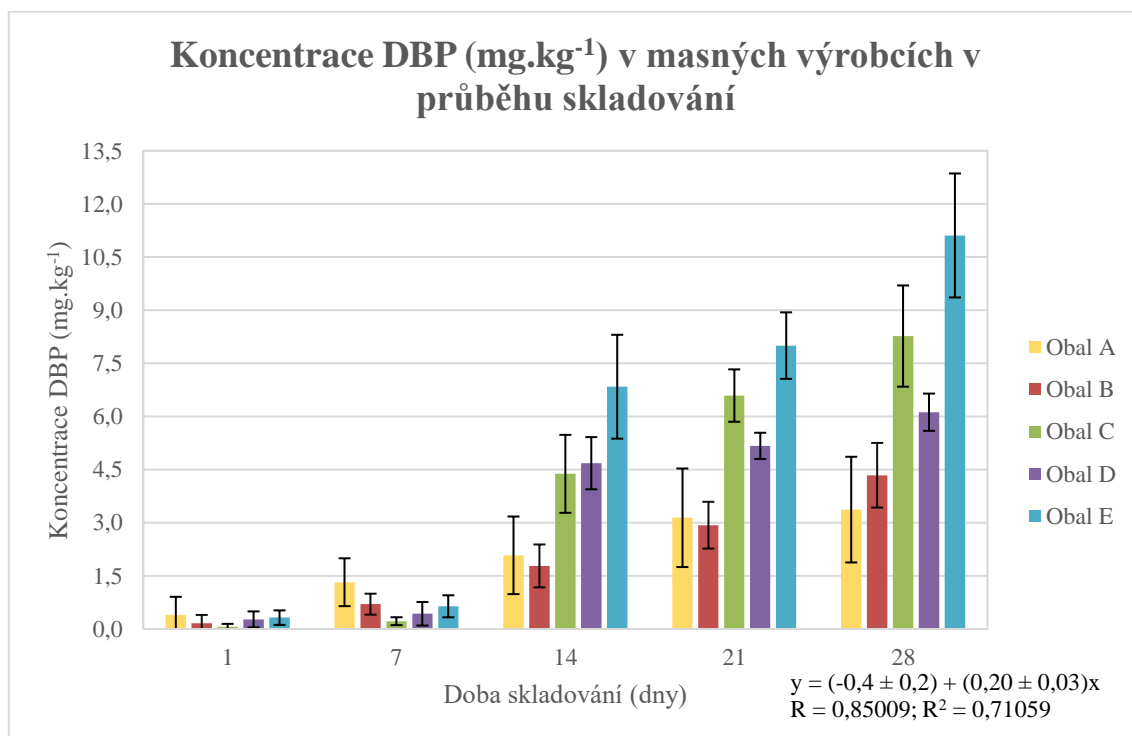
Průměrný obsah DBP ve vzorcích masných výrobků s obalem D byl mezi 0,3 a 6,1 mg.kg⁻¹; průměrná koncentrace DEHP se pohybovala mezi 2,4 do 13,2 mg.kg⁻¹. Koncentrace DBP 0,3 mg.kg⁻¹ shodná s hodnotou specifického migračního limitu pro DBP byla naměřena už po prvním dni skladování masných výrobků. U DEHP byl specifický migrační limit překročen po prvním dni skladování (2,4 mg.kg⁻¹ původního vzorku).

Ve vzorcích masných výrobků balených do obalu E se pohyboval průměrný obsah DBP a DEHP v rozmezí od 0,3 do 11,1 mg.kg⁻¹ a 1,9 do 15,4 mg.kg⁻¹. Koncentrace shodná s limitní hodnotou SML pro DBP (0,3 mg.kg⁻¹ původního vzorku) byla zjištěna po prvním dni skladování, přičemž SML pro DEHP byl také překročen (1,9 mg.kg⁻¹ původního vzorku).

Koncentrace DBP a DEHP v masných výrobcích v závislosti na době jejich skladování, a tedy vyjádření migrace těchto ftalátů z obalů (A – E) do modelových masných výrobků je znázorněna na Obr. 5 (DBP) a 6 (DEHP).

5.2.1 Migrace DBP z obalů do masných výrobků v průběhu skladování

Zjištěný obsah DBP byl u vzorků masných výrobků balených do obalu A na konci doby skladování (osmadvacátý den, Tab. 8) 8,5x vyšší, než na jejím začátku (první den). Koncentrace DBP se ve vzorcích balených do obalu B (Tab. 9) od prvního do posledního dne skladování zvýšila 21,5x. To u vzorků masných výrobků balených do obalu C byl obsah DBP osmadvacátý den skladování přibližně 138x vyšší, než tomu bylo po prvním dni skladování (Tab. 10). Koncentrace DBP (uvedené v Tab. 11) se ve vzorcích v obalu D v průběhu skladování (od prvního do osmadvacátého dne) zvýšila přibližně 20,5x. Co se týče změn obsahu DBP ve vzorcích s obalem E – na konci doby skladování byla jeho koncentrace 37x vyšší než po prvním dni skladování (Tab. 12). Závislost koncentrace DBP ve vzorcích masných výrobků na době jejich skladování (po prvním, sedmém, čtrnáctém, jednadvacátém a osmadvacátém dni) v jednotlivých obalech (a migrace DBP z obalů do masných výrobků) je znázorněna na Obr. 5.

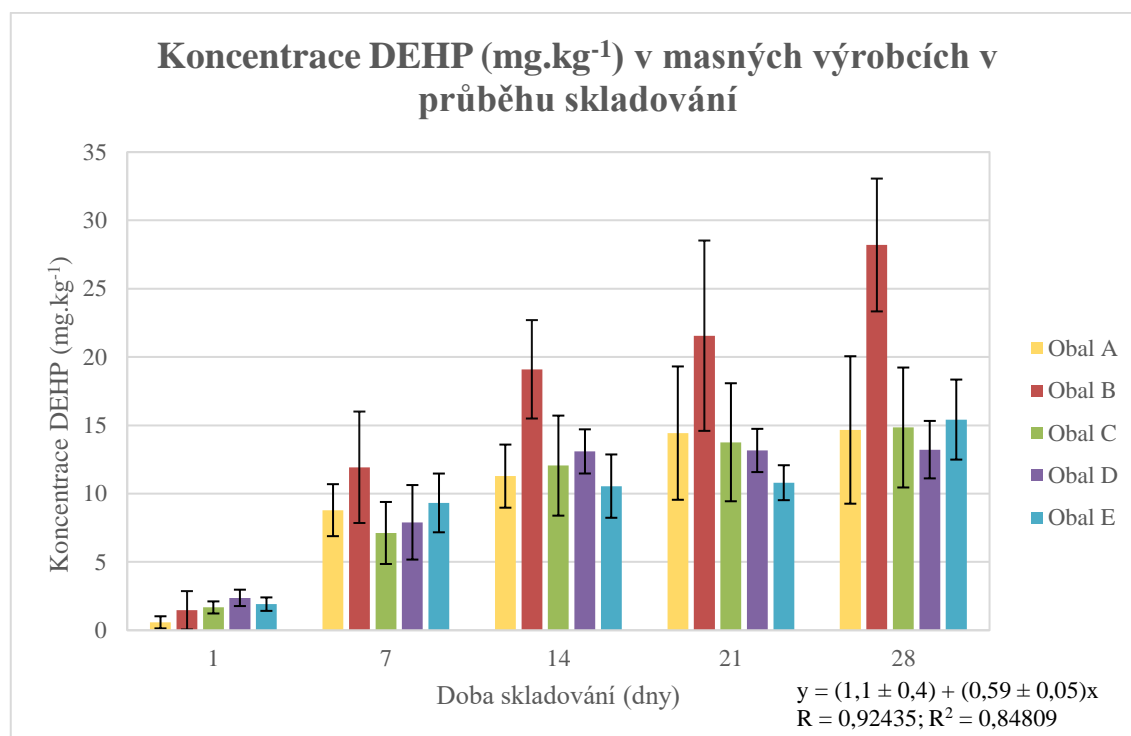


Obr. 5 Koncentrace DBP (mg.kg^{-1}) v masných výrobcích zabalených do obalů A – E v průběhu skladování (1., 7., 14., 21. a 28. den)

Migrace DBP z jednotlivých obalů (A – E) do masných výrobků v závislosti na době jejich skladování byla statistickou analýzou získaných dat (lineární regresí) označena jako statisticky vysoce významně průkazná ($p < 0,001$).

5.2.2 Migrace DEHP z obalů do masných výrobků v průběhu skladování

Zjištěný obsah DEHP byl u vzorků masných výrobků balených do obalu A byl na konci doby skladování (osmadvacátý den, v Tab. 8) 24,5x vyšší, než na jejím začátku (první den). Koncentrace DEHP se ve vzorcích balených do obalu B od prvního do posledního dne skladování zvýšila 18,8x. To u vzorků masných výrobků balených do obalu C byl obsah DEHP osmadvacátý den skladování přibližně 9x vyšší, než tomu bylo po prvním dni skladování. Hodnota koncentrace DEHP se ve vzorcích s obalem D v průběhu skladování (od prvního do osmadvacátého dne) zvýšila 5,5x. Co se týče změn obsahu DEHP ve vzorcích s obalem E – na konci doby skladování byla jeho koncentrace přibližně 8,5x vyšší než po prvním dni skladování. Na Obr. 6 je pak znázorněna závislost koncentrace DEHP ve vzorcích masných výrobků na době jejich skladování (po prvním, sedmém, čtrnáctém, jednadvacátém a osmadvacátém dni) v jednotlivých obalech (a migrace DEHP z obalů do masných výrobků).



Obr. 6 Koncentrace DEHP ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) v masných výrobcích zabalených do obalů A – E v průběhu skladování (1., 7., 14., 21. a 28. den)

Migrace DEHP z jednotlivých obalů (A – E) do masných výrobků v závislosti na době jejich skladování byla, stejně jako tomu bylo v případě DBP, statistickou analýzou získaných dat (lineární regresí) označena jako statisticky vysoce významně průkazná ($p < 0,001$).

5.2.3 Diskuze

Barros et al. (2011) sledovali migraci DEHP a DEHA do 18 vzorků různých druhů potravin s minimálním obsahem tuku 3 % zabalených do plastových folií. Výsledky prokazovaly kontaminaci těchto potravin sledovanými plastifikátory, přičemž byla upozorována korelace mezi jejich obsahem a prodlužující se délkou skladování ve foliích.

Skupina Bonini et al. (2008) sledovala obsah plastifikátorů v potravinářských obalových foliích a jejich migraci do potravinových simulantů. Testované vzorky zahrnovaly 12 folií a 6 sáčků pro zamrazování. Migrační testy probíhaly při teplotě 5 °C periodicky po 10, 20, 30, 40 a 60 dnech skladování v kontaktu s ethanolem (96%). Ve foliích bez obsahu PVC a zamrazovacích sáčcích z PE nebylo zjištěno měřitelné množství plastifikátorů. V dalších vzorcích byla detekována různá množství plastifikátorů – nejvíce ATBC (4 – 10 mg.dm⁻²) společně s DEHA (2 – 8 mg.dm⁻²), přičemž DBP byl zjištěn pouze ve stopových množstvích. Výsledky byly srovnány s legislativními limity (celkovým migračním limitem – 10 mg.dm⁻² a specifickým migračním limitem – pro adipáty 3 mg.dm⁻²), které velké množství testovaných vzorků překračovalo.

Migrace DEHP z PVC folie do potraviny určené k ohřevu v mikrovlnné troubě podle studie Chen et al. (2008) významně rostla po třiminutovém mikrovlnném ohřevu.

Také Fang et al. (2017) sledovali migraci DEHP a DBP z polypropylenových obalů do potravinových simulantů v závislosti na době ohřevu (od 1 do 5 minut) v mikrovlnné troubě a v závislosti na podmínkách pH (od 3 do 9). Každý obal byl naplněn 200 ml předem připraveného roztoku simulantu o daném pH (3, 5, 7, 9) a byl poté ohříván po dobu 1, 3 a 5 minut. Pro testování vlivu pH byly jako kontrolní skupina použity vzorky neohříváné. Ve většině neohříváných vzorků nebyl detekován DEHP, kromě vzorků s pH 3 (silně acidické podmínky). Koncentrace DEHP v ohříváných vzorcích pak dosahovala hodnot 33,3 µg.l⁻¹ (pH 5, 1 minuta ohřevu) a 159,8 µg.l⁻¹ (pH 3, 5 minut ohřevu). DBP byl detekován ve všech testovaných vzorcích nezávisle na tepelných podmínkách. V acidickém prostředí migroval DBP v množství 66,1 µg.l⁻¹ (bez záhřevu) a u ohříváných

vzorků dosahovaly koncentrace DBP 10,2 $\mu\text{g.l}^{-1}$ (pH 5, 1 minuta ohřevu) až 104,9 $\mu\text{g.l}^{-1}$ (pH 3, 5 minut ohřevu). Z výsledků vyplývá, že neexistuje významná interakce mezi dobou ohřevu a pH. Obecně lze říci, že se koncentrace DEHP a DBP zvyšovaly s prodlužující se dobou ohřevu. Tyto koncentrace také dosahovaly maxima při pH 3, přičemž při pH 5 a 7 byla migrace minimální. Při pH 9 pak u DEHP došlo opět ke zvýšení migrace ve srovnání s migrací při pH 5 a 7, avšak byla stále nižší než při pH 3. U DBP v zásaditých podmínkách nedošlo k významné změně ve výši migrace ve srovnání s migrací při pH 5 a 7.

Skupina Makkliang et al. (2015) pozorovala migraci ftalátů (DBP a DEHP) do potravin po jejich zabalení. Jako vzorky sloužily horká voda o teplotě 40 °C a 80 °C a kuřecí vývar o teplotě 81 °C naplněné do plastových obalů z polypropylenu a vysokodenzitního polyethylenu. Vzorky potravin byly ponechány v obalech po dobu 10 minut. Ve vodě o 40 °C nebyl detekován výskyt DBP, zatímco DEHP byl zjištěn v této vodě v obou typech plastových obalů v koncentraci 0,03 – 0,06 $\mu\text{g.ml}^{-1}$. Voda o 80 °C v polypropylenovém obalu byla kontaminována DEHP a několik vzorků této vody ve vysokodenzitním polyethylenu byly rovněž kontaminovány tímto ftalátem. Z těchto výsledků lze usuzovat na migraci při zvýšených teplotách. Ve vzorcích kuřecí polévky byl DEHP detekován pouze u těch balených v polypropylenových obalech v koncentracích mezi 0,02 a 0,07 $\mu\text{g.ml}^{-1}$. DBP nebyl detekován ve vzorcích kuřecích polévek v polypropylenovém obalu ani v obalu z vysokodenzitního polyethylenu. Výsledkem této studie je teorie, že migrace DBP a DEHP do testovaných vzorků horké vody a horké kuřecí polévky závisí na typu plastu, ze kterého byl vyroben obal a na teplotě.

Tsumura et al. (2001) sledovali obsah ftalátů ve vzorcích obědových polotovarů balených do plastových obalů. V celkovém počtu deseti vzorků nebyl detekován výskyt DBP. Množství DEHP bylo průměrně 198 ng.g^{-1} a v rozsahu hodnot mezi 45 a 517 ng.g^{-1} . Tato pracovní skupina sledovala také koncentrace DEHP v potravinách podávaných v nemocničním prostředí. Průměrnou zjištěnou hodnotu koncentrace DEHP 11,1 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ potraviny může mít na svědomí použití PVC rukavic při výrobě a přípravě těchto potravin, jež může přispívat ke vzrůstu obsahu DEHP v nich až o 600 μg za den.

Yang et al. (2017) studovali povrchovou migraci esterů kyseliny ftalové z polyethylenové folie do čtyř potravinových simulantů (isooktan, 10% ethanol, 3% kyselina octová, 10% roztok sacharózy). V první sérii migračních testů byly obaly naplněny 8 ml simulantů a byly skladovány při různých teplotách (-18 °C, 4 °C, 20 °C,

40 °C, 60 °C) po dobu 48 h pro zjištění vlivu teploty. V druhé sérii byly stejné typy vzorků skladovány 1 h, 3 h, 6 h, 12 h, 24 h, 48 h, 96 h, 192 h a 240 h při 40 °C pro zjištění vlivu délky skladování. Ve třetí sérii byly stejné typy vzorků skladovány 240 h při 40 °C pro zjištění vlivu použitého simulantu. DEHP a DBP byly ve vzorcích simulantů naplněných v obalech detekovány a úroveň jejich migrace významně rostla s teplotou a dobou skladování a také závisela na použitém simulantu. Teploty -18 °C a 4 °C byly zvoleny pro simulaci transportu a skladování. Teploty 20 °C, 40 °C a 60 °C byly použity pro simulaci pokojové teploty a vysokoteplotních podmínek. Úroveň migrace se (nezávisle na použitém simulantu) při nízkých teplotách významně nezvyšovala a byla mnohem nižší než za vyšších teplot, což indikuje, že teplota je významným faktorem migrace. Úroveň migrace DEHP a DBP z polyethylenových filmů do simulantů potravin se zvýšila s dobou jejich kontaktu. Nejvyšší úroveň migrace byla pozorována u vzorků s použitím isooktanu. Úroveň migrace DBP byla u všech simulantů vyšší než u DEHP za stejných podmínek. Výsledky indikují, že ftaláty v PE foliích snadněji migrují do lipofilních rozpouštědel.

Studie Zhanga a Gua z roku 2009 zabývající se migračním chováním ftalátů zjistila, že se migrace DEHP z PVC fólie do masa zvyšovala s rostoucí teplotou a časem. Nejrychlejší a nejintenzivnější migrace ($75,12 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-2}$) byla při půlhodinovém působení teploty 90 °C. Legislativně daný celkový migrační limit ($10 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-2}$) byl překročen u všech sledovaných kombinací času a teploty, s výjimkou kombinace 10 °C a < 41 hodin, kdy migrace nebyla zpozorována. Tato studie se také zabývala obsahem ftalátů v obalech a potravinách. Zjišťována byla konkrétně koncentrace DBP, která se v analyzovaných obalech pohybovala mezi 50,01 a 81 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ a v potravinách od 0,14 do 55 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Častým jevem bylo spojení vyššího obsahu DBP v souvislosti s potiskovými barvami.

6 ZÁVĚR

Cílem práce bylo stanovení DBP a DEHP ve vzorcích textilních barevně potištěných obalů, jejich naplnění vzorky modelového masného výrobku a sledování migrace výše zmíněných ftalátů do těchto vzorků, a to v závislosti na době jejich skladování.

Na obsah DBP a DEHP bylo analyzováno celkem pět textilních obalů (A, B, C, D a E) s barevným potiskem, určených k balení masných výrobků. Pro každý z nich bylo v masném poloprovozu Ústavu technologie potravin Mendelovy univerzity v Brně vyrobeno třicet modelových masných výrobků typu „Gothajský salám“ o 30% tučnosti (150 kusů). V díle byl před naplněním do obalů rovněž stanoven obsah DBP a DEHP. Po naplnění obalů (A – E) dílem byly vzorky skladovány při teplotě 4 °C po dobu 28 dní. V průběhu skladování byla prováděna analýza masných výrobků na obsah DBP a DEHP po jednom, sedmi, čtrnácti, jednadvaceti a osmadvaceti dnech.

Při analýze obalů byl z každého odebrán reprezentativní vzorek o velikosti 1 dm² a následně zpracován extrakcí organickými rozpouštědly (směsí n-hexanu a dichlormethanu), přečištěn koncentrovanou kyselinou sírovou a analyzován pomocí techniky HPLC s detektorem UV-záření při vlnové délce 224 nm. Z díla a masných výrobků byly odebrány reprezentativní vzorky, které byly poté zhomogenizovány, zlyofilizovány a extrahovány organickými rozpouštědly (směsí n-hexanu a acetonu). Při přípravě vzorků bylo dále nutné přečištění gelovou permeační chromatografií a koncentrovanou kyselinou sírovou. Následovalo opět stanovení DBP a DEHP pomocí HPLC s detektorem UV-záření (při 224 nm). Detekční limit pro DBP a DEHP pro obalové materiály byl 0,1 mg.kg⁻¹ původního vzorku a pro DBP a DEHP s tukovou matricí 0,2 mg.kg⁻¹ původního vzorku.

Migraci složek obalů legislativně omezuje nařízení Komise (EU) č. 10/2011 o materiálech a předmětech z plastů určených pro styk s potravinami, jenž stanovuje nejen celkový migrační limit (10 mg.dm⁻² či 60 mg.kg⁻¹ potraviny), ale také specifický migrační limit, který činí pro DBP 0,3 mg.kg⁻¹ a pro DEHP 1,5 mg.kg⁻¹.

Koncentrace DBP a DEHP se ve sledovaných textilních obalech pohybovala v rozmezí od 4,4 do 24,0 µg.dm⁻² a od 0,3 do 103,3 µg.dm⁻² původního vzorku, přičemž tyto hodnoty byly v souladu s celkovým migračním limitem daným výše zmíněným nařízením. Koncentrace v díle modelového masného výrobku byla dle očekávání pouze v rámci nedetekovatelných hodnot (< 0,2 mg.kg⁻¹). Stoupající koncentrace DBP a DEHP byla pozorována až po zabalení do obalů a skladování vzorků masných výrobků, lze tedy

konstatovat, že v tomto případě zdrojem kontaminace masných výrobků ftaláty (DBP a DEHP) byly použité obaly. Koncentrace DBP ve vzorcích modelových masných výrobků po zabalení a skladování byla od nedetekovatelných hodnot do $11,1 \text{ mg.kg}^{-1}$ původního vzorku a koncentrace DEHP činila $0,6 \text{ mg.kg}^{-1}$ – $28,2 \text{ mg.kg}^{-1}$ původního vzorku.

Tyto hodnoty koncentrací byly srovnány s příslušnými specifickými migračními limity (SML; uvedeny výše v rámci nařízení 10/2011), které byly překročeny během celé doby skladování (osmadvacet dní) u všech vzorků masných výrobků. SML pro DBP byl překročen u masných výrobků s obalem A po prvním dni skladování ($0,4 \text{ mg.kg}^{-1}$ původního vzorku), s obalem B sedmý den skladování ($0,7 \text{ mg.kg}^{-1}$ původního vzorku), s obalem C čtrnáctý den ($4,4 \text{ mg.kg}^{-1}$ původního vzorku). Koncentrace shodná s hodnotou specifického migračního limitu pro DBP ($0,3 \text{ mg.kg}^{-1}$) byla u masných výrobků s obalem D naměřena po prvním dni skladování a s obalem E byla zjištěna rovněž po prvním dni skladování. SML pro DEHP byl překročen u masných výrobků s obalem A sedmý den skladování ($8,8 \text{ mg.kg}^{-1}$ původního vzorku), s obalem C první den skladování ($1,7 \text{ mg.kg}^{-1}$ původního vzorku), s obalem D první den skladování ($2,4 \text{ mg.kg}^{-1}$ původního vzorku) a s obalem E byl limit překročen také po prvním dni skladování ($1,9 \text{ mg.kg}^{-1}$ původního vzorku). Koncentrace shodná s hodnotou specifického migračního limitu pro DEHP ($1,5 \text{ mg.kg}^{-1}$) byla u masných výrobků s obalem B naměřena již po prvním dni skladování.

Statistickým zpracováním získaných dat byl zjištěn statisticky průkazný rozdíl v obsahu DBP a DEHP v daných obalech, kde obsah DEHP byl podstatně vyšší, a vysoce významně průkazná migrace těchto ftalátů z obalů do masných výrobků v závislosti na době skladování.

Analýza obalů a masných výrobků probíhala v laboratořích Ústavu technologie potravin Mendelovy univerzity v Brně v rámci projektu IGA AF IP 10/2014 a získané výsledky jsou součástí disertační práce Bogdanovičová (2016).

Ftaláty jsou dle dostupných informací kontaminanty potravin s možnými negativními vlivy na lidské zdraví zahrnujícími mimo jiné toxicitu pro reprodukci a endokrinní disrupci. Potraviny jsou kontaminovány z obalů, při jejichž výrobě jsou ftaláty používány jako změkčovadla či látky usnadňující adhezi – plastové obaly, textilní a papírové obaly s plastovou vrstvou či potiskem aj. Protože nejsou v pevné vazbě s polymerní maticí, mohou se z ní uvolňovat. Vzhledem k těmto informacím je nutné jejich obsah v potravinách, které jsou nejvýznamnějším zdrojem expozice ftalátům pro člověka,

omezovat a kontrolovat. Vhodným řešením je zajisté také jejich nahrazování alternativními plastifikátory.

7 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

AURELA, B., H. KULMALA a L. SODERHJELM, 1999: Phthalates in paper and board packaging and their migration into Tenax and sugar. *Food Additives and Contaminants*. 16(12), 571-577. DOI: 10.1080/026520399283713. ISSN 0265-203x

BALAFAS D., SHAW K. J., WHITFIELD F. B., 1999: Phthalate and adipate esters in Australian packaging materials. *Food Chemistry*, 65(3): 279–287. DOI: 10.1016/S0308-8146(98)00240-4

BARROS, H. D., H. P. da S. ZAMITH, F. S. BAZÍLIO, L. J. de CARVALHO a S. de M. P. a ABRANTES, 2011: Identification of fatty foods with contamination possibilities by plasticizers when stored in PVC film packaging. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 31(2), 547-552. DOI: 10.1590/S0101-20612011000200041. ISSN 0101-2061

BENJAMIN, S., S. PRADEEP, M. SARATH JOSH, S. KUMAR a E. MASAI, 2015: A monograph on the remediation of hazardous phthalates. *Journal of Hazardous Materials* [online]. 298, 58-72 [cit. 2017-04-03]. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2015.05.004. ISSN 03043894. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304389415003921>

BOGDANOVIČOVÁ, S., A. JAROŠOVÁ a J. KAMENÍK, 2014: Detection of phthalic acid esters in the packaging films of meat products. *Acta Veterinaria Brno*. 83(10), S59-S64. DOI: 10.2754/avb201483S10S59. ISSN 0001-7213

BOGDANOVIČOVÁ, S., 2016: *Ftaláty v masných výrobkách v závislosti na době skladování a použitém obalu*. Brno. Disertační práce. Mendelova univerzita v Brně. Vedoucí práce Prof. Ing. Alžbeta Jarošová, Ph.D.

BONINI, M., E. ERRANI, G. ZERBINATI, E. FERRI a S. GIROTTI, 2008: Extraction and gas chromatographic evaluation of plasticizers content in food packaging films. *Microchemical Journal*. 90(1), 31-36. DOI: 10.1016/j.microc.2008.03.002. ISSN 0026265x

BUI, T. T., G. GIOVANOULIS, A. P. COUSINS, J. MAGNÉR, I. T. COUSINS a C. A. DE WIT, 2016: Human exposure, hazard and risk of alternative plasticizers to phthalate esters. *Science of The Total Environment* [online]. 541, 451-467 [cit. 2017-04-03]. DOI:

10.1016/j.scitotenv.2015.09.036. ISSN 00489697. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969715306963>

CAO, X., 2010: Phthalate Esters in Foods: Sources, Occurrence, and Analytical Methods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 9(1), 21-43. DOI: 10.1111/j.1541-4337.2009.00093.x. ISSN 15414337

DESHPANDE, S., 2002: *Handbook of food toxicology*. 1. Boca Raton: Marcel Dekker, 903 s. Food science and technology. ISBN 08-247-0760-5

FANG, H., J. WANG a R. A. LYNCH, 2017: Migration of di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) and di-n-butylphthalate (DBP) from polypropylene food containers. *Food Control*. 73, 1298-1302. DOI: 10.1016/j.foodcont.2016.10.050. ISSN 09567135. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956713516306041>

FANKHAUSER-NOTI, A. a K. GROB, 2007: Blank problems in trace analysis of diethylhexyl and dibutyl phthalate: Investigation of the sources, tips and tricks. *Analytica Chimica Acta*. 582(2), 353-360. DOI: 10.1016/j.aca.2006.09.012. ISSN 00032670

FARAJZADEH, M. A., D. DJOZAN, M. REZA, A. MOGADDAM a J. NOROUZI, 2012: Determination of phthalate esters in cow milk samples using dispersive liquid-liquid microextraction coupled with gas chromatography followed by flame ionization and mass spectrometric detection. *Journal of Separation Science*. 35(5-6), 742-749. DOI: 10.1002/jssc.201100853. ISSN 16159306

FASANO, E., F. BONO-BLAY, T. CIRILLO, P. MONTUORI a S. LACORTE, 2012: Migration of phthalates, alkylphenols, bisphenol A and di(2-ethylhexyl)adipate from food packaging. *Food Control*. 27(1), 132-138. DOI: 10.1016/j.foodcont.2012.03.005. ISSN 09567135

FIERENS, T., K. SERVAES, M. VAN HOLDERBEKE, L. GEERTS, S. DE HENAUW, I. SIOEN a G. VANERMEN, 2012: Analysis of phthalates in food products and packaging materials sold on the Belgian market. *Food and Chemical Toxicology*. 50(7), 2575-2583. DOI: 10.1016/j.fct.2012.04.029. ISSN 02786915

FROMME, H., T. KÜCHLER, T. OTTO, K. PILZ, J. MÜLLER a A. WENZEL, 2002: Occurrence of phthalates and bisphenol A and Fin the environment. *Water Research*. 36(2), 1429-1438. ISSN 0043-1354.

GAJDŮŠKOVÁ V., JAROŠOVÁ A., ULRICH R., 1996: Occurrence of phthalic acid esters in food packaging materials. *Potravinářské Vědy*. Brno: Veterinary Research Institute. 14, 99–108.

GUO, Y. a K. KANNAN, 2012: Challenges encountered in the analysis of phthalate esters in foodstuffs and other biological matrices. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 404(9), 2539-2554. DOI: 10.1007/s00216-012-5999-2. ISSN 1618-2642

HAUSER, R. a A. M. CALAFAT, 2005: Phthalates and human health. *Occupational and Environmental Medicine*. 62(11), 806-818. DOI: 10.1136/oem.2004.017590. ISSN 1351-0711

HAYASHI, K., A. NAKAE, Y. FUKUSHIMA, et al., 2010: Contamination of rice by etofenprox, diethylphthalate and alkylphenols: effects on first delivery and sperm count in mice. *The Journal of Toxicological Sciences*. 35(1), 49-55. DOI: 10.2131/jts.35.49. ISSN 0388-1350. Dostupné také z: <http://joi.jlc.jst.go.jp/JST.JSTAGE/jts/35.49?from=CrossRef>

HENDL, J., 2012: *Přehled statistických metod: analýza a metaanalýza dat*. 4. Praha: Portál. ISBN 978-80-262-0200-4

HEUDORF, U., V. MERSCH-SUNDERMANN a J. ANGERER, 2007: Phthalates: Toxicology and exposure. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 210(5), 623-634. DOI: 10.1016/j.ijheh.2007.07.011. ISSN 14384639

HURST, C. H. a D. J. WAXMAN, 2003: Activation of PPAR and PPAR by Environmental Phthalate Monoesters. *Toxicological Sciences*. 74(2), 297-308. DOI: 10.1093/toxsci/kfg145. ISSN 1096-6080

CHEN, M.-L., J.-S. CHEN, C.-L. TANG a I.-F. MAO, 2008: The internal exposure of Taiwanese to phthalate — An evidence of intensive use of plastic materials. *Environment International*. 34(1), 79-85. DOI: 10.1016/j.envint.2007.07.004. ISSN 01604120

CHIELLINI, F., M. FERRI, A. MORELLI, L. DIPAOLA a G. LATINI, 2013: Perspectives on alternatives to phthalate plasticized poly(vinyl chloride) in medical devices applications. *Progress in Polymer Science*. 38(7), 1067-1088. DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2013.03.001. ISSN 00796700

JAROŠOVÁ A., GAJDŮŠKOVÁ V., RAZSYK J., ŠVELA K. 1999. Di-2-ethylhexyl phthalate and di-n-butyl phthalate in the tissues of pigs and broiler chicks after their oral administration. *Veterinary medicine*, 44: 61–70.

JEZBERA, D., 2012: *Úvod do fyzikálních měření*. Hradec Králové [online]. [cit. 2017-04-08]. Dostupné také z: http://lide.uhk.cz/prf/ucitel/jezbeda1/uvod_do_fyzikalnich_mereni-01-2012.pdf

KIM, J. W., Y.-M. KIM, H. M. MOON, A. HOSAKA, C. WATANABE, N. TERAMAE, E. K. CHOE a S.-W. MYUNG, 2016: Comparative study of thermal desorption and solvent extraction-gas chromatography–mass spectrometric analysis for the quantification of phthalates in polymers. *Journal of Chromatography A* [online]. 1451, 33-40 [cit. 2017-04-03]. DOI: 10.1016/j.chroma.2016.05.014. ISSN 00219673. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967316305908>

LATINI, G., 2005: Monitoring phthalate exposure in humans. *Clinica Chimica Acta*. 361(1-2), 20-29. DOI: 10.1016/j.cccn.2005.05.003. ISSN 00098981

LOURENÇO, A.C.S., V. GALBIATI, D. CORTI, A. PAPALE, A. J. MARTINO-ANDRADE a E. CORSINI, 2015: The plasticizer dibutyl phthalate (DBP) potentiates chemical allergen-induced THP-1 activation. *Toxicology in Vitro*. 29(8), 2001-2008. DOI: 10.1016/j.tiv.2015.08.011. ISSN 08872333

LOVEKAMP-SWAN, T. a B. J. DAVIS, 2002: Mechanisms of Phthalate Ester Toxicity in the Female Reproductive System. *Environmental Health Perspectives*. 111(2), 139-145. DOI: 10.1289/ehp.5658. ISSN 0091-6765

MAKKLIANG, F., P. KANATHARANA, P. THAVARUNGKUL a C. THAMMAKHET, 2015: Development of magnetic micro-solid phase extraction for analysis of phthalate esters in packaged food. *Food Chemistry*. 166, 275-282. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.06.036. ISSN 03088146. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814614009224>

MAREGA, M., K. GROB, S. MORET a L. CONTE, 2013: Phthalate analysis by gas chromatography–mass spectrometry: Blank problems related to the syringe needle. *Journal of Chromatography A* [online]. 1273, 105-110 [cit. 2017-04-03]. DOI: 10.1016/j.chroma.2012.11.076. ISSN 00219673. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967312018298>

MATSUMOTO, M., M. HIRATA-KOIZUMI a M. EMA, 2008: Potential adverse effects of phthalic acid esters on human health: A review of recent studies on reproduction. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 50(1), 37-49. DOI: 10.1016/j.yrtph.2007.09.004. ISSN 02732300

Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1907/2006 o registraci, hodnocení, povolování a omezování chemických látek, o zřízení Evropské agentury pro chemické látky, o změně směrnice 1999/45/ES a o zrušení nařízení Rady (EHS) č. 793/93, nařízení Komise (ES) č. 1488/94, směrnice Rady 76/769/EHS a směrnic Komise 91/155/EHS, 93/67/EHS, 93/105/ES a 2000/21/ES

Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1935/2004 o materiálech a předmětech určených pro styk s potravinami a o zrušení směrnic 80/590/EHS a 89/109/EHS.

Nařízení Komise (EU) č. 10/2011 o materiálech a předmětech z plastů určených pro styk s potravinami.

NI, X., X. XING, Y. CAO a G. CAO, 2016: Determination of phthalates in food packing materials by electrokinetic chromatography with polymeric pseudostationary phase. *Food Chemistry* [online]. 190, 386-391 [cit. 2017-04-03]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.05.134. ISSN 03088146. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S030881461500878X>

OTERO, P., S. K. SAHA, S. MOANE, J. BARRON, G. CLANCY a P. MURRAY, 2015: Improved method for rapid detection of phthalates in bottled water by gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography B* [online]. 997, 229-235 [cit. 2017-04-03]. DOI: 10.1016/j.jchromb.2015.05.036. ISSN 15700232. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1570023215300313>

PEIJNENBURG, W.J.G.M. a J. STRUIJS, 2006: Occurrence of phthalate esters in the environment of the Netherlands. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 63(2), 204-215. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2005.07.023. ISSN 01476513.

PEROPADRE, A., P. FERNÁNDEZ FREIRE, J. M. PÉREZ MARTÍN, Ó. HERRERO a M. J. HAZEN, 2015: Endoplasmic reticulum stress as a novel cellular response to di (2-ethylhexyl) phthalate exposure. *Toxicology in Vitro*. 30(1), 281-287. DOI: 10.1016/j.tiv.2015.10.009. ISSN 08872333

RODGERS, K. M., R. A. RUDEL a A. C. JUST, 2014: Phthalates in Food Packaging, Consumer Products, and Indoor Environments. SNEDEKER, M. S., ed. *Toxicants in Food Packaging and Household Plastics: Exposure and Health Risks to Consumers* [online]. 1. London: Springer London, s. 31-59 [cit. 2016-02-04]. DOI: 10.1007/978-1-4471-6500-2_2. ISBN 978-1-4471-6500-2. Dostupné z: http://link.springer.com/10.1007/978-1-4471-6500-2_2

SERRANO, S. E., J. BRAUN, L. TRASANDE, R. DILLS a S. SATHYANARAYANA, 2014: Phthalates and diet: a review of the food monitoring and epidemiology data. *Environmental Health*. 13(1), 13-43. DOI: 10.1186/1476-069X-13-43. ISSN 1476-069x

SCHECTER, A., M. LORBER, Y. GUO, et al., 2013: Phthalate Concentrations and Dietary Exposure from Food Purchased in New York State. *Environmental Health Perspectives*. 121(4), 473–479. DOI: 10.1289/ehp.1206367. ISSN 0091-6765

STAPLES, C. A., ed., 2003: *Phthalate esters*. 1. Berlin: Springer. ISBN 978-354-0366-119

TSUMURA, Y., S. ISHIMITSU, A. KAIHARA, K. YOSHII, Y. NAKAMURA a Y. TONOGAI, 2001: Di(2-ethylhexyl) phthalate contamination of retail packed lunches caused by PVC gloves used in the preparation of foods. *Food Additives and Contaminants*. 18(6), 569-579. DOI: 10.1080/02652030120071. ISSN 0265-203x

VÁPENKA, L., A. VAVROUŠ, K. KEJLOVÁ, J. DOBIÁŠ a J. SOSNOVCOVÁ, 2016: Contaminants in the paper-based food packaging materials used in the Czech Republic. *Journal of Food and Nutrition Research*. 55(4), 361–373. ISSN 1336-8672.

VELÍŠEK, J. a J. HAJŠLOVÁ, 2009: *Chemie potravin*. 3. vyd. Tábor: OSSIS. ISBN 978-80-86659-17-6.

VENTRICE, P., D. VENTRICE, E. RUSSO a G. DE SARRO, 2013: Phthalates: European regulation, chemistry, pharmacokinetic and related toxicity. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 36(1), 88-96. DOI: 10.1016/j.etap.2013.03.014. ISSN 13826689

Vyhláška Ministerstva Zdravotnictví č. 38/2001 Sb. o hygienických požadavcích na výrobky určené pro styk s potravinami a pokrmy

Vyhláška Ministerstva Zdravotnictví č. 409/2005 Sb. o hygienických požadavcích na výrobky přicházející do přímého styku s vodou a na úpravu vody

Wikipedie, 2015: Otevřená encyklopedie: Bis(2-ethylhexyl) ftalát [online]. [citováno 5. 02. 2017]. Dostupný z WWW: <[https://cs.wikipedia.org/wiki/Bis\(2-ethylhexyl\)_ftal%C3%A1t#/media/File:Bis\(2-ethylhexyl\)phthalate.png](https://cs.wikipedia.org/wiki/Bis(2-ethylhexyl)_ftal%C3%A1t#/media/File:Bis(2-ethylhexyl)phthalate.png)>

Wikipedie, 2015: Otevřená encyklopedie: Dibutyl ftalát [online]. [citováno 5. 02. 2017]. Dostupný z WWW: <https://cs.wikipedia.org/wiki/Dibutyl_ftal%C3%A1t#/media/File:Dibutylphthalate_Structural_Formulae_V.1.svg>

XU, Q., X. YIN, M. WANG, et al., 2010: Analysis of Phthalate Migration from Plastic Containers to Packaged Cooking Oil and Mineral Water. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 58(21), 11311-11317. DOI: 10.1021/jf102821h. ISSN 0021-8561

XUE M. G., WANG S. F., HUANG C. X., XIA N. N., 2010: The Analysis of Organic Contaminants in Printing Paper Food Packaging Materials. *Proceedings of the 17th iapri world conference on packaging*. Scientific Research Publishing, USA, 360–363. ISBN: 978-1-935068-36-5

YANG, J., Y. LI, Y. WANG, J. RUAN, J. ZHANG a C. SUN, 2015: Recent advances in analysis of phthalate esters in foods. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* [online]. 72, 10-26 [cit. 2017-04-03]. DOI: 10.1016/j.trac.2015.03.018. ISSN 01659936. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165993615001764>

YANG, J., Y. LI, X. WU, L. REN, J. ZHANG, Y. WANG, Y. ZHANG a C. SUN, 2017: Gas chromatography-triple quadrupole tandem mass spectrometry for successive single-surface migration study of phthalate esters from polythene film. *Food Control*. 73, 1134-1143. DOI: 10.1016/j.foodcont.2016.10.029. ISSN 09567135. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956713516305734>

ZHANG, K., G.O. NOONAN a T.H. BEGLEY, 2008: Determination of 2,6-diisopropylnaphthalene (DIPN) and n -dibutylphthalate (DBP) in food and paper packaging materials from US marketplaces. *Food Additives*. 25(11), 1416-1423. DOI: 10.1080/02652030802163380. ISSN 1944-0049

ZHANG, S.H. a GUO K. Q., 2009: Migration amount of Di-2-ethylhexyl phthalate from food-grade PVC film into meat at three temperatures. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 25(1): 291–293.

8 SEZNAM TABULEK

Tab. 1 Koncentrace DBP a DEHP v obalu A	52
Tab. 2 Koncentrace DBP a DEHP v obalu B	52
Tab. 3 Koncentrace DBP a DEHP v obalu C	52
Tab. 4 Koncentrace DBP a DEHP v obalu D	53
Tab. 5 Koncentrace DBP a DEHP v obalu E.....	53
Tab. 6 Přehled koncentrací DBP a DEHP v obalech A – E.....	53
Tab. 7 Koncentrace DBP a DEHP (mg.kg ⁻¹) v díle masného výrobku	57
Tab. 8 Koncentrace DBP a DEHP (mg.kg ⁻¹) v masných výrobcích v průběhu skladování – obal A.....	57
Tab. 9 Koncentrace DBP a DEHP (mg.kg ⁻¹) v masných výrobcích v průběhu skladování – obal B	58
Tab. 10 Koncentrace DBP a DEHP (mg.kg ⁻¹) v masných výrobcích v průběhu skladování – obal C	58
Tab. 11 Koncentrace DBP a DEHP (mg.kg ⁻¹) v masných výrobcích v průběhu skladování – obal D.....	59
Tab. 12 Koncentrace DBP a DEHP (mg.kg ⁻¹) v masných výrobcích v průběhu skladování – obal E	59

9 SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1 Struktura DEHP (Wikipedie, 2015).....	14
Obr. 2 Struktura DBP (Wikipedie, 2015)	14
Obr. 3 Průměrná koncentrace DBP a DEHP v obalech (A – E) masných výrobků	54
Obr. 4 Poměr zastoupení obsahu DBP a DEHP v obalech (A – E) masných výrobků ..	54
Obr. 5 Koncentrace DBP ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) v masných výrobcích zabalených do obalů A – E v průběhu skladování (1., 7., 14., 21. a 28. den).....	61
Obr. 6 Koncentrace DEHP ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) v masných výrobcích zabalených do obalů A – E v průběhu skladování (1., 7., 14., 21. a 28. den).....	62

10 SEZNAM ZKRATEK

- 2cx-MMHP – mono[(2-karboxymethyl)hexyl]ftalát
5cx-MEPP – mono(2-ethyl-5-karboxypentyl)ftalát
5-OH-MEHP – mono(2-ethyl-5-hydroxyhexyl)ftalát
5-oxo-MEHP – mono(2-ethyl-5-oxohexyl)ftalát
ASE – fenylester alkylsulfonové kyseliny
ATBC – acetyltributylcitrát
BBP – benzylbutylftalát
BMI – index tělesné hmotnosti
CGC – kapilární plynovou chromatografií
COMGHA – acetáty hydrogenovaných monoglyceridů ricinového oleje
DAD – detektory diodového pole
DBA – dibutyladipát
DBP – dibutylftalát
DIBP – diisobutylftalát
DBS – dibutylsebakáty
DDP – didodecylftalát
DEGDB – di(ethylenglykol)dibenzoát
DEHA – di-2-ethylhexyladipát
DEHP – bis(2-ethylhexyl)ftalát
DEHPA – bis(2-ethylhexyl)fosfát
DEHT – bis(2-ethylhexyl)tereftalát
DEP – diethylftalát
DIDA – diisodecyladipát
DIDP – diisodecylftalát
DINA – diisononyladipát
DINCH – di(isononyl)cyklohexan-1,2-dikarboxylát
DINP – diisononylftalát
DIOP – diisoktylftalát
DLLME – disperzní mikroextrakce z kapaliny do kapaliny
DMP – dimethylftalát
DNA – deoxyribonukleová kyselina
DOS – bis(2-ethylhexyl)sebakát

DPGDB – di(propylenglykol)dibenzoát
ECD – detektory elektronového záchytu
EFSA – Evropský úřad pro bezpečnost potravin
EKC – kapilární elektrokinetická chromatografie
ESBO – epoxidovaný sójový olej
FCM – materiál pro styk s potravinami
FID – plamenově-ionizační
GABA – kyselina γ -aminomáselná
GC – plynová chromatografie
GPC – gelová permeační chromatografie
GTA – glyceroltriacetát
HF-LPME – mikroextrakce kapalnou fází s využitím dutého vlákna
HMWPE – ftaláty s vysokou molekulovou hmotností
HPLC – vysokoúčinná kapalinová chromatografie
IARC – Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny
IgE – imunoglobulin E
KOW – rozdělovací koeficient oktanol-voda
LC – kapalinová chromatografie
LD50 – střední smrtelná dávka
LLE – extrakce z kapaliny do kapaliny
LMWPE – ftaláty s nízkou molekulovou hmotností
LPME – mikroextrakce na kapalně fází
MBP – monobutylftalát
MEHP – mono(2-ethylhexyl)ftalát
MISPE – extrakce na molekulárně imprintované pevné fází
MMWPE – ftaláty se střední molekulovou hmotností
MS – hmotnostní spektrometrie
MSPE – magnetická extrakce na pevné fází
Na-I – sodíko-jódové
ND – nedetekováno
PAEs – estery kyseliny ftalové
PE – polyethylen
PET – polyethylentereftalát
PP – proliferátory peroxisomů

PPAR – receptory zprostředkovávající účinek proliferátorů peroxisomů
PSA – primární-sekundární amin
PVA – polyvinylacetát
PVC – polyvinylchlorid
PVDC – polyvinylidenchlorid
QuEChERS – metoda rychlá, jednoduchá, levná, efektivní, robustní a bezpečná
REACH – registrace, evaluace (hodnocení), autorizace (povolování) a omezování chemických látek
ROS – reaktivní formy kyslíku
RXR – retinoidní X-receptor
SML – specifický migrační limit
SPE – extrakce na pevné fázi
SPME – mikroextrakce na pevné fázi
TCP – trikresylfosfát
TDI – tolerovatelný denní příjem
TEHPA – tris(2-ethylhexyl)fosfát
TOF – detektor doby průletu
TOTM – tris(2-ethylhexyl)trimelitát
TXIB – trimethylpentanyldiisobutyrát
UDP-GT – uridin-5'-difosfo-glukuronosyl-transferáza
UHPLC – ultra-vysokoúčinná kapalinová chromatografie
UV-VIS – ultrafialová a viditelná oblast světelného spektra