



**Ftaláty v potišťených a nepotišťených obalech masných  
výrobků**  
Diplomová práce

*Vedoucí práce:*  
prof. Ing. Alžbeta Jarošová, Ph.D.

*Vypracovala:*  
Bc. Veronika Lavingrová



## Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci: FTALÁTY V POTIŠTĚNÝCH A NEPOTIŠTĚNÝCH OBALECH 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**

Chtěla bych touto cestou poděkovat vedoucí mé diplomové práce prof. Ing. Alžbetě Jarošové, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady, připomínky, trpělivost a ochotu, kterou mi poskytla v průběhu vypracovávání této práce. Dále bych chtěla poděkovat Ing. Soni Bogdanovičové Ph.D. za metodické vedení, pomoc a za poskytnutí informací.

Poděkování patří rovněž mé rodině za vytvoření podmínek pro studium a za jejich podporu po celou dobu studia.

## ABSTRAKT

Diplomová práce pojednává o problematice esterů kyseliny ftalové v potištěných a nepotištěných obalech masných výrobků. Celkem bylo analyzováno 30 vzorků plastových obalových materiálů pro masné výrobky. Velikost odebíraných vzorků byla vždy 1 dm<sup>2</sup>.

Koncentrace dibutyl ftalátu (DBP) v potištěných vzorcích se pohybovaly v rozmezí od nedetekovatelných hodnot (< 0,1) do 72,6 µg.dm<sup>-2</sup> povrchu vzorku. V případě obalů bez potisku byly zjištěny koncentrace od nedetekovatelných hodnot (< 0,1) do 67,7 µg.dm<sup>-2</sup> povrchu vzorku. U di-2-ethylhexyl ftalátu (DEHP) byly naměřeny koncentrace od nedetekovatelných hodnot (< 0,1) do 98,7 µg.dm<sup>-2</sup> povrchu vzorku, zatímco u obalových materiálů bez potisku se naměřené hodnoty pohybovaly od nedetekovatelných hodnot (< 0,1) do 60,3 µg.dm<sup>-2</sup> povrchu vzorku.

***Klíčová slova:** estery kyseliny ftalové, PAE, dibutyl ftalát, DBP a di-2-ethylhexyl ftalát, DEHP, obalové materiály*

## ABSTRACT

The diploma thesis is focused on the determination of the content of phthalates (PAE) in printed and non-printed plastic packaging materials for meat products. There were analyzed 30 package samples. The sample area was 1 dm<sup>2</sup>.

Concentrations of dibutyl phthalate (DBP) ranged from undetectable values (< 0.1) to 72.6 µg.dm<sup>-2</sup> of the sample surface in printed packaging materials. In non-printed wraps it was from undetectable values (< 0.1) to 67.7 µg.dm<sup>-2</sup> of the sample surface. Concentrations of di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) ranged from undetectable values (< 0.1) to 98.7 µg.dm<sup>-2</sup> of the sample surface in printed packaging materials. In non-printed wraps it was from undetectable values (< 0.1) to 60.3 µg.dm<sup>-2</sup> of the sample surface.

***Keywords:** phthalate esters, PAEs, dibutyl phthalate, DBP, di-2-ethylhexyl phthalate, DEHP, packaging materials*

## **OBSAH**

<b>1 ÚVOD.....</b>	<b>8</b>
<b>2 CÍL PRÁCE.....</b>	<b>9</b>
<b>3 LITERÁRNÍ PŘEHLED .....</b>	<b>10</b>
3.1 Základní charakteristika ftalátů.....	10
3.2 Chemická struktura ftalátů .....	10
3.3 Fyzikální a chemické vlastnosti ftalátů .....	12
3.4 Využití ftalátů.....	13
3.5 Průnik ftalátů do životního prostředí.....	14
3.5.1 O vzduší .....	14
3.5.2 Voda.....	15
3.5.3 Půda .....	15
3.5.4 Potraviny.....	16
3.6 Migrace ftalátů do potravin z plastových obalů.....	16
3.7 Legislativa .....	17
3.8 Expozice.....	20
3.8.1 Dermální a inhalační expozice.....	20
3.8.2 Transplacentární expozice .....	21
3.8.3 Intravenózní expozice .....	21
3.8.4 Perorální expozice.....	22
3.9 Kumulace ve tkáních.....	23
3.10 Negativní účinky ftalátů na zdraví .....	24
3.10.1 Interference s peroxisomovými proliferátory, obezita.....	24
3.10.2 Disruptory žláz s vnitřní sekrecí a reprodukční toxicita .....	25
3.10.3 Karcinogenita a teratogenita .....	26
3.10.4 Další negativní účinky na zdraví .....	27
3.11 Metabolismus .....	27

3.12	Regulace a prevence ftalátů .....	30
3.13	Analytické metody stanovení PAE .....	31
3.13.1	Vysokoučinná kapalinová chromatografie (HPLC) .....	32
3.13.2	Plynová chromatografie (GC).....	33
<b>4</b>	<b>MATERIÁL A METODIKA.....</b>	<b>35</b>
4.1	Materiál .....	35
4.2	Přístroje a pomůcky.....	35
4.3	Chemikálie .....	35
4.4	Metodika .....	36
4.4.1	Příprava vzorku pro HPLC .....	36
4.4.2	Vlastní stanovení PAE .....	37
4.4.3	Statistické zpracování dat .....	39
<b>5</b>	<b>VÝSLEDKY A DISKUZE .....</b>	<b>40</b>
5.1	Obsah DBP v potištěných a nepotištěných částech obalů.....	40
5.2	Obsah DEHP v potištěných a nepotištěných částech obalů.....	44
5.3	Obsah PAE v potištěných a nepotištěných částech obalů.....	47
5.4	Průměrný obsah DBP, DEHP a sumy PAE v obalech.....	49
<b>6</b>	<b>ZÁVĚR.....</b>	<b>54</b>
<b>7</b>	<b>PŘEHLED POUŽITÉ LITERATURY .....</b>	<b>56</b>
<b>8</b>	<b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>	<b>64</b>
<b>9</b>	<b>SEZNAM TABULEK.....</b>	<b>65</b>
<b>10</b>	<b>SEZNAM ZKRATEK .....</b>	<b>66</b>

# 1 ÚVOD

Estery kyseliny ftalové (PAE) jsou považovány za všudypřítomné organické kontaminanty životního prostředí. Vzhledem k jejich fyzikálně-chemickým vlastnostem jsou velice oblíbené jako změkčovadla plastových materiálů, které se používají při výrobě obalových materiálů, potiskových barev, dětských hraček, gumových rukavic, podlah, zdravotnických zařízení, kosmetiky, oděvů a mnoha dalších výrobků. Jejich velkou nevýhodou je, že nejsou v polymeru pevně vázány a mohou se tak snadno uvolňovat do okolního prostředí a materiálů. Mezi nejběžněji se vyskytující ftaláty patří dibutyl ftalát (DBP) a di-2-ethylhexyl ftalát (DEHP).

Ftaláty jsou rozšířeny ubikvitárně. Můžeme je nalézt v ovzduší, půdě, vodě, v rostlinách a zvířatech. Lidé a zvířata jsou vlivu ftalátů vystaveni během celého života, počínaje nitroděložním vývojem. Expozice může být orální, dermální, inhalační nebo intravenózní. Za nejvýznamnější zdroj ftalátů jsou považovány potraviny, do kterých mohou tyto látky snadno migrovat z obalových materiálů. Jedná se o lipofilní látky, které se kumulují především v potravinách a surovinách, které obsahují větší množství tuku. Vzhledem k nebezpečí migrace ftalátů z obalových materiálů bylo vydáno nařízení komise EP a Rady č 10/2011 O materiálech a předmětech z plastů určených pro styk s potravinami, které definuje, že výrobky určené pro styk s potravinami, nesmí uvolňovat své složky v množství větším než  $10 \text{ mg.dm}^{-2}$  nebo  $60 \text{ mg.kg}^{-1}$  potraviny nebo simulantu potraviny. Tolerovatelný denní příjem (TDI) pro DEHP je  $0,025 \text{ mg.kg}^{-1}$  tělesné hmotnosti a den a pro DBP  $0,05 \text{ mg.kg}^{-1}$  tělesné hmotnosti a den.

Byla provedena řada studií, zaměřených na toxicitu těchto látek a bylo prokázáno, že estery kyseliny ftalové mají negativní účinky na živé organismy. Vykazují sice nízkou akutní toxicitu, ale při dlouhodobé expozici, a to i v případě nízkých dávek, mají závažné embryotoxické, teratogenní, spermiotoxické, hepatotoxické, neurotoxické a karcinogenní účinky. Ftaláty jsou rovněž považovány za endokrinní disruptory. K působení ftalátů jsou nejcitlivější vyvíjející se organismy.

Vzhledem k prokázaným negativním účinkům na lidské zdraví je nezbytné omezit používání těchto látek a nahradit je jinými alternativními změkčovadly, které nevykazují toxické účinky. Byla stanovena různá regulační opatření pro použití ftalátů při výrobě obalových materiálů, potiskových barev, hraček a některých dalších výrobků.



## 2 CÍL PRÁCE

- Prostudovat vědeckou literaturu – výskyt esterů kyseliny ftalové (PAE) v potravním řetězci – v surovinách, potravinách, životním prostředí a v obalových materiálech, migrace ftalátů z obalů do potravin.
- Prostudovat chromatografické metody, které se používají při stanovení PAE a zpracovat literární rešerši k dané problematice.
- V chemické laboratoři Ústavu technologie potravin analyzovat obaly určené pro balení masných výrobků – extrakce, odstředování, HPLC.
- Stanovit koncentrace esterů kyseliny ftalové v potištěných a nepotištěných částech obalů, ve snaze potvrdit nebo vyvrátit hypotézu, že potištěná část představuje vyšší riziko pro zabalenou potravinu.
- Teoreticky zvládnout techniky vysokoúčinné kapalinové chromatografie.
- Dle doporučených pokynů vypracovat a v termínu odevzdat diplomovou práci.

## 3 LITERÁRNÍ PŘEHLED

### 3.1 Základní charakteristika ftalátů

Ftaláty neboli estery kyseliny ftalové (PAE) jsou organické látky využívané jako přísady na úpravu fyzikálních vlastností polymerů, kde se uplatňují jako změkčovadla pro zvýšení pružnosti, průhlednosti a trvanlivosti těchto materiálů, zejména polyvinylchloridu (PVC) a esterů celulosy (Hosaka et al., 2015). Po desetiletí jsou PAE používány rovněž jako změkčovadla v potiscích, které se často nachází na plastových i jiných obalech pro potraviny (Orecchio et al., 2014). Mezi nejvýznamnější ftaláty patří di-2-ethylhexyl ftalát (DEHP) a dibutyl ftalát (DBP) (Xinjiong, 2015). Mezi další známé ftaláty se řadí dimethyl ftalát (DMP), diethyl ftalát (DEP), di-iso-butyl ftalát (DiBP), butylbenzyl ftalát (BBzP), di-iso-nonyl ftalát (DiNP) a di-n-oktyl ftalát DnOP (Frederiksen et al., 2007).

Ftaláty se běžně vyskytují v různém spotřebním zboží. Jejich přítomnost byla zjištěna v kosmetických přípravcích, oblečení, dětských hračkách, výrobcích pro osobní hygienu nebo zdravotnických prostředcích (Umair et al., 2014).

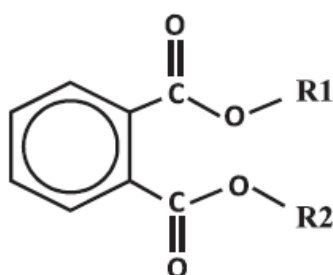
PAE nachází uplatnění také jako složky stavebního materiálu, těsnících materiálů a parfémů. Vzhledem k tomu, že ftaláty nejsou v polymeru chemicky vázané, mohou snadno migrovat z plastových obalů do potravin. Estery kyseliny ftalové se mohou do organismu dostat prostřednictvím znečištěného ovzduší (ústy nebo kůží) a zejména konzumací potravin (Xinjiong, 2015). Vysoké koncentrace ftalátů jsou velmi často zjišťovány v mateřském mléku (Maria et al., 2015).

I přes fakt, že ftaláty vykazují nízkou akutní toxicitu, bylo dokázáno, že při dlouhodobé expozici, a to i v případě nízkých dávek, mají závažné embryotoxické, teratogenní, spermiotoxické, hepatotoxické, neurotoxické a karcinogenní účinky. K působení ftalátů jsou nejcitlivější vyvíjející se organismy (Miao et al., 2015).

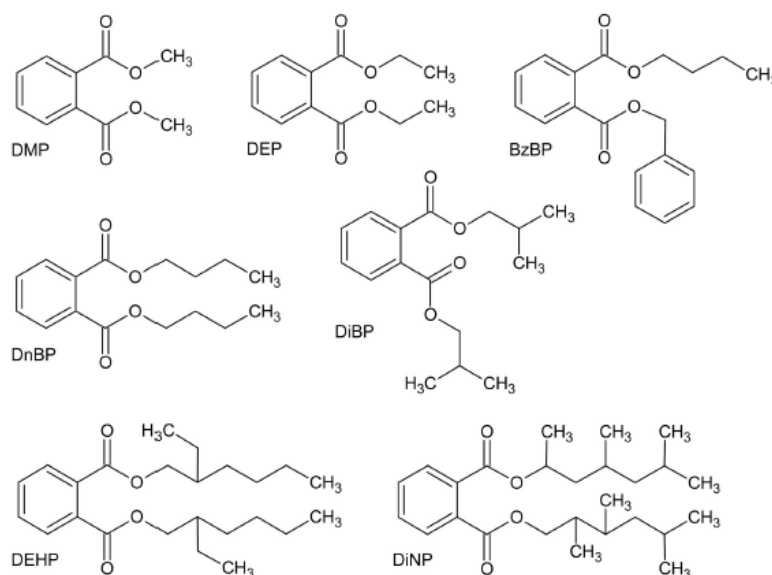
### 3.2 Chemická struktura ftalátů

Ftaláty jsou diestery 1,2-benzendikarboxylové neboli ftalové kyseliny (Frederiksen et al., 2007). Jedná se o molekulu, která je rigidním rovinným aromatickým kruhem se dvěma nelineárními alifatickými, často shodnými postranními řetězci (Obr. 1). Některé estery mají ve své molekule dvě různé alkylové skupiny (Velíšek et Hajšlová, 2009).

Ftaláty se podle délky postranního řetězce dělí do tří skupin – s nízkou, střední (přechodnou) a vysokou molekulovou hmotností. PAE s nízkou molekulovou hmotností mají krátké a rovné postranní řetězce obsahující maximálně tři atomy uhlíku. Přechodné estery kyseliny ftalové mohou mít postranní řetězce rovné nebo rozvětvené a obsahují čtyři až šest atomů uhlíku. V případě vysokomolekulárních ftalátů je řetězec dlouhý, většinou rovný a obsah atomů uhlíku bývá více jak sedm. Toxicita je odvislá od chemické struktury. Nejvyšší toxický potenciál vykazují ftaláty, které mají na benzenovém jádře postranní řetězce v poloze ortho – např. DEHP (Holahan et Smith, 2015). Chemické struktury osmi nejběžnějších ftalátů jsou znázorněny na Obr. 2.



Obr. 1 Obecná struktura ftalátů, R1 a R2 jsou alkylové nebo arylové skupiny (Yang et al., 2015)



Obr. 2 Chemická struktura osmi nejběžnějších ftalátů (Frederiksen et al., 2007)

### 3.3 Fyzikální a chemické vlastnosti ftalátů

Fyzikální vlastnosti ftalátů určuje délka a větvení postranního řetězce (Latini, 2008). Ftaláty jsou obecně bezbarvé, nehořlavé kapaliny bez zápachu (Orecchio et al., 2014). Mají vysokou teplotu varu, která se pohybuje v rozmezí od 284 °C do 384 °C. Body tání se pohybují v záporných hodnotách od (-50 °C) do (-35 °C), s výjimkou DMP, jehož bod tání je 2 °C (Tab. 1) (Velíšek et Hajšlová, 2009). Díky jejich vysokým bodům varu a nízkým teplotám tání jsou oblíbené jako změkčovadla (Yang et al., 2015).

Jedná se o lipofilní látky, které jsou nerozpustné ve vodě a dobře rozpustné v tucích (Orecchio et al., 2014). Rozpustnost esterů kyseliny ftalové ve vodě klesá s rostoucí délkou postranního řetězce (Holahan et Smith, 2015). S výjimkou DMP se jedná o látky s nízkou těkavostí (Orecchio et al., 2014).

Estery kyseliny ftalové se připravují ve dvou krocích. V prvním kroku reaguje anhydrid kyseliny ftalové s alkoholem za vzniku monoesteru. Ve druhém kroku se vzniklý monoester přeměňuje na diester, což je většinou reverzibilní reakce (Mariana et al., 2016).

Tab. 1 Fyzikálně-chemické vlastnosti ftalátů (Velíšek et Hajšlová, 2009)

Ftalát	Relativní molekulová hmotnost (Da)	Bod varu (°C)	Bod tání (°C)	Rozpustnost ve vodě v mg · dm <sup>-3</sup> (°C)	Tenze par	Rozdělovací koeficient ve směsi oktán-1-ol /voda
Dimethyl ftalát (DMP)	194,2	284	2	4000 (25)	220	1,53
Diethyl ftalát (DEP)	222,2	294	-41	1080 (25)	220	2,35
Dibutyl ftalát (DBP)	278,4	340	-35	11,2 (25)	1,87	4,57
Di-2-ethylhexyl ftalát (DEHP)	390,6	384	-50	0,3 (25)	0,86	5,11

Chemické vlastnosti ftalátů určuje esterifikovaná karboxylová skupina. Mezi nejvýznamnější reakce všech esterů patří hydrolýza, která může být katalyzována jak kyselinami, tak i zásadami. Vzhledem k lipofilitě ftalátů je tato reakce velmi pomalá. Lze ji však urychlit zvyšováním teploty. Estery s rozvětveným postranním řetězcem,

např. DEHP, jsou k hydrolýze odolnější než estery, mající přímý řetězec, např. DBP (Velíšek et Hajšlová, 2009).

### 3.4 Využití ftalátů

Ftaláty se vyrábí již od roku 1920 a ročně se jich na celém světě vyrobí obrovské množství, zhruba 5 milionů tun (Ejaredar et al., 2015). Využití ftalátů závisí na délce jejich řetězce (Tab. 2).

*Ftaláty s dlouhým řetězcem* jako je di-2-ethylhexyl ftalát, diisononyl ftalát, diisodecyl ftalát a dipropylheptyl ftalát se používají především jako změkčovadla v PVC (Wang et al., 2012). Uplatnění nachází také ve stavebních materiálech a hračkách (Mariana et al., 2016). DEHP nachází uplatnění také pro výrobu vlasových přípravků, parfémů, deodorantů, dětských plenek a ubrousků (Song et al., 2013). DEHP byl zjištěn také ve zdravotnických zařízeních a v množství léčiv (Orecchio et al., 2014).

*Ftaláty s kratším postranním řetězcem* např. dimethyl ftalát, diethyl ftalát, butylbenzyl ftalát a dibutyl ftalát nachází uplatnění v kosmetických přípravcích, barvách, lepidlech (Wang et al., 2012), průmyslových rozpouštědlech, voscích, inkoustech, farmaceutických výrobcích a insekticidech (Orecchio et al., 2014).

Hlavním negativem při používání měkčených plastových obalů je, že estery kyseliny ftalové mohou v průběhu skladování migrovat do balených potravin. Možností, jak redukovat expozici člověka ftalátům je snížit používání těchto obalů (Ejaredar et al., 2015).

Tab. 2 Přehled využití nejběžnějších ftalátů (Mariana et al., 2016)

Název ftalátu	Jeho využití
<b>Diethyl ftalát (DEP)</b>	Produkty pro osobní péči (deodoranty, šampóny, voda po holení), pomocná látka v léčivech
<b>Butylbenzyl ftalát (BBP)</b>	Vinylové dlaždice, umělá kůže, automobilové čalounění, barvy, lepidla, hračky, potravinářské obaly, deodoranty
<b>Dibutyl ftalát (DBP)</b>	Barvy, lepidla, produkty pro osobní péči (parfémy, voda po holení, péče o nehty, make-up)
<b>Di-2-ethylhexyl ftalát (DEHP)</b>	Výrobky pro domácnost (hračky, dlaždice, tapety, nábytek, barvy, lepidla, rukavice, laky), pláštěnky, boty, potravinářské obaly
<b>Dioktyl ftalát (DnOP)</b>	Podlahy, koberce, vinylové rukavice, zahradní hadice, laky
<b>Di-isononyl ftalát (DiNP)</b>	Výrobky pro domácnost (hračky, dlaždice, tapety, nábytek, barvy, lepidla, rukavice, laky), oblečení a obuv, auto interiéry, potravinářské obaly, lékařské přístroje
<b>Di-isodecyl ftalát (DiDP)</b>	Výrobky pro domácnost (hračky, vinylové podlahy, tapety, lamináty, obuv, barvy, laky, lepidla), školní potřeby (gumy, pouzdra)

### 3.5 Průnik ftalátů do životního prostředí

Největším zdrojem ftalátů je lidská činnost. K jejich úniku do prostředí dochází při průmyslové výrobě ftalátů, při jejich používání a následné likvidaci. Může docházet ke kontaminaci odpadních vod, atmosféry i půdy (Sathyanarayana, 2008). Fusano et al. (2012) zjistili, že ftaláty migrují v různých koncentracích: DEHP > DBP > DMP.

#### 3.5.1 Ovzduší

Estery kyseliny ftalové se velmi často vyskytují ve vzduchu ve formě aerosolu a jsou tak společně se vzduchem snadno vdechovány (Orecchio et al., 2014).

Zvýšené riziko kontaminace ovzduší hrozí v okolí průmyslových závodů, které se specializují na výrobu ftalátů nebo plastů a v uzavřených prostorech, kde se nachází výrobky obsahující ftaláty. V těchto závodech nebo v uzavřených prostorech může kontaminace dosáhnout hodnot desítek  $\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$  vzduchu (Velíšek et Hajšlová, 2009).

Zvýšený výskyt ftalátů byl zaznamenán v domácím prachu, kde koncentrace DEHP ( $400 - 700 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  prachu) obvykle přesahovaly koncentrace DEP ( $< 10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  prachu) a DBP ( $40 - 50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  prachu) (Heudorf et al., 2007). Riziko představují také nemocnice, které používají nepřeborné množství krevních sáčků, plastových infuzních vaků, injekční stříkačky, plastové fólie nebo gumové hadice, které často obsahují ftaláty. Zdroje kontaminace ovzduší závisí na charakteristikách kancelářských dekorací, životním stylu pacientů a pracovníku (Wang et al., 2015).

### **3.5.2 Voda**

I přes to, že ftaláty mají nízkou rozpustnost ve vodě, byla zde zaznamenána jejich zvýšená koncentrace, a to zejména u DEHP, k čemuž dochází díky schopnosti ftalátů sorbovat se na organické částice a interagovat s rozpuštěným organickým materiálem, jako jsou fulvokyseliny a huminové kyseliny v půdě. U ftalátů dochází především k jejich sorpci z vod na sediment. Kontaminace vodního prostředí může být přímá, kdy je způsobena prostřednictvím odpadních vod a pevných odpadů, nebo nepřímá prostřednictvím srážek, a to v rozmezí desetin až tisíců  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  (Velíšek et Hajšlová, 2009).

### **3.5.3 Půda**

Mezi hlavní kontaminanty půdy patří průmyslové a městské odpady. Mezi zdroje kontaminace patří rovněž zemědělství a vzdušné emise. Ftaláty v půdě mají tendenci sorbovat se na organickou hmotu, kde se pak akumulují. Do jisté míry podléhají biodegradaci mikroorganismy, ale i přes to se jedná o sloučeniny perzistentní, které zůstávají v prostředí velice dlouho (Velíšek et Hajšlová, 2009).

Podle studie provedené v jižní Číně bylo zjištěno, že nejvyšší koncentrace DEHP jsou u okrajů silnic, zatímco nejmenší koncentrace byly naměřeny v obytných zónách (Zeng et al., 2009).

Na obsah ftalátů v zemědělských půdách má vliv hnojení organickými hnojivy, které výrazně zvyšuje naměřené koncentrace jednotlivých PAE v půdě (Vikelsøe et al., 2002).

### 3.5.4 Potraviny

Ke kontaminaci potravin ftaláty může docházet prostřednictvím vstupních surovin i meziproduktů v průběhu jejich zpracování nebo může docházet ke kontaminaci již hotových výrobků z obalových materiálů. Kontaminace se většinou pohybuje v rozmezí setin až jednotek  $\text{mg.kg}^{-1}$  potraviny (Velíšek et Hajšlová, 2009).

Ftaláty se do potravin mohou dostat migrací z obalových materiálů, zejména pokud se jedná o tučné potraviny, nebo při nelegálním využití jejich emulgačních schopností ve formě potravinářských přídatných látek (Yang et al., 2015).

Hlavními zdroji DEHP u dospělých jedinců jsou obiloviny (44,57 %), maso (15,70 %) a nápoje včetně vody (12,28 %). U dětí se na dietárním příjmu podílí rovněž nejvíce obiloviny (39,44 %) dále pitná voda (16,94 %) a maso (15,81 %) (Yang et al., 2015).

## 3.6 Migrace ftalátů do potravin z plastových obalů

Ftaláty nejsou v polymerech vázány žádnou chemickou vazbou a mohou se tak snadno z těchto materiálů uvolňovat (Orecchio et al., 2014). Proces přestupu ftalátů z obalů do potravin se nazývá migrace (Sathyanarayana, 2008).

Migrace závisí na druhu obalového materiálu, druhu potraviny, teplotě, délce kontaktu a mnoha dalších faktorech. Platí, že čím více mají potraviny tuku, tím větší je riziko migrace (Velíšek et Hajšlová, 2009). Korelace mezi koncentrací ftalátů a obsahem tuků v potravinách vyplývá z norské studie, která potvrzuje, že koncentrace ftalátů u plnotučného mléka o 3% tučnosti byly průkazně vyšší ( $0,11 - 0,13 \text{ mg.kg}^{-1}$ ), než koncentrace u odstředěného mléka s obsahem tuku 1 % ( $0,05 \text{ mg.kg}^{-1}$ ). U smetany s obsahem tuku 35 % byly naměřeny koncentrace ftalátů v rozmezí  $1,06 - 1,67 \text{ mg.kg}^{-1}$  (Petersen, 2002).

*Plastové obaly* můžeme rozdělit na několik druhů – polykarbonátové, styrenové, polypropylenové, polyethylenové aj. (Fusano et al., 2012). Nejvíce používaným obalovým materiálem je polyvinylchlorid (PVC). Mezi jeho výhody patří vysoká



transparentnost, pevnost a cenová výhodnost. Pro optimalizaci vlastností obalů se používají různá změkčovadla, jejichž podíl na celkové hmotnosti může představovat až 50 %. Nejpoužívanějším změkčovadlem jsou ftaláty – zejména DEHP (Chiellini et al., 2013). Ftaláty zlepšují elasticitu, flexibilitu, barvu a trvanlivost obalových materiálů (Fusano et al., 2012). Nevýhodou je, že může docházet k uvolňování částic do potravin nebo nápojů, kde mohou mít vliv na organoleptické vlastnosti potravin a mohou ovlivňovat zdraví konzumentů (Fusano et al., 2012).

Větší riziko migrace představují plastové obaly s potiskem, ze kterých se ftaláty uvolňují po celou dobu od jejich aplikace (Orecchio et al., 2014). Ve studii provedené v Číně, která byla zaměřena na analýzu ftalátů v plastových obalech mléčných výrobků, bylo zjištěno, že hlavním zastoupeným ftalátem je DEHP, a to jak ve volné ( $0,0793 \text{ mg.kg}^{-1}$ ), tak i ve vázané formě ( $0,0771 \text{ mg.kg}^{-1}$ ), zatímco u DEP byla zjištěna pouze přítomnost ve vázané podobě ( $0,0683 \text{ mg.kg}^{-1}$ ). Studie rovněž prokázala, že koncentrace ftalátů jsou vyšší u mléčných výrobků balených v plastových obalech než u výrobků v obalech skleněných (Lin et al., 2015).

Při testování vlivu skladování řepkového oleje v plastové nádrži, bylo zjištěno statisticky významné zvýšení sumy DBP a DEHP. Před skladováním byl obsah DBP a DEHP v rozmezí 0,14 až  $8 \text{ mg.kg}^{-1}$  a po skladování hodnoty dosahovaly až  $59,33 \text{ mg.kg}^{-1}$  (Jarošová, 2010b).

Studie zaměřená na testování migrace ftalátů z plastových obalů do potravin, zjistila, že obsahy DEHP a DBP byly v potravinách detekovány až poté, co byly zabaleny do polyethylenových obalů, což potvrzuje, že k migraci z obalů do potravin dochází (Cirillo et al., 2011).

### 3.7 Legislativa

Vzhledem ke značným nepříznivým účinkům PAE existuje celá řada legislativních opatření, která použití ftalátů regulují (Johns et al., 2015).

Kalifornský úřad pro hodnocení zdravotních rizik ze životního prostředí zařadil DEHP mezi rizikové látky a nařídil, že výrobky, které DEHP obsahují, musí být od roku 2004 opatřeny varováním pro spotřebitele (Šuta, 2007).

Směrnice Komise 2007/19/ES stanovila omezení pro DBP, DEHP, BBP a DiNP. Toto omezení se týká maximálního rozsahu jejich použití a maximálního specifického

migračního limitu pro každou složku. V případě materiálů, které přicházejí do styku s potravinami, platí omezení pro použití DEHP, a to jen v případě materiálů, které nejsou ve styku s tučnými potravinami (Ventrice et al., 2013).

Ftaláty s vysokou molekulovou hmotností (DiNP a DEHP), které tvoří více než 80 % všech používaných ftalátů, jsou součástí nařízení REACH (Registrace, Evaluace a Autorizace Chemických látek), jehož cílem je zajistit vysokou úroveň ochrany lidského zdraví. Evropské orgány nepovažují PAE s nízkou molekulovou hmotností za sloučeniny zdraví nebezpečné. Estery kyseliny ftalové s vysokou molekulovou hmotností (DEHP, BBP, DiBP) jsou řazeny mezi velmi nebezpečné látky a platí po ně zákaz používání při výrobě hraček, předmětů pro péči o děti, kosmetiky a lékařských pomůcek (Ventrice et al., 2013).

Podle směrnice Komise 2002/72/ES, o materiálech a předmětech určených pro styk s potravinami, nesmějí plasty a výrobky z plastů uvolňovat do potravin své složky v množstvích přesahujících 60 mg složek uvolněných na kg potravin nebo potravinového simulantu, což odpovídá 10 mg složek uvolněných z 1 dm<sup>2</sup> obalového materiálu = limit celkové migrace. Pro posuzování migrace jednotlivých látek se používá specifický migrační limit (SML). Pro stanovení specifické migrace musí být použita schválená metoda analýzy, nebo pokud taková metoda neexistuje, lze používat analytické metody, které mají odpovídající účinnost.

Evropská unie zavedla specifické migrační limity pro některé ftaláty, které jsou ve styku s potravinami. Pro BBP byla stanovena hodnota 30 mg.kg<sup>-1</sup> potravinového simulantu, pro DEHP 1,5 mg.kg<sup>-1</sup> potravinového simulantu a pro DBP 0,3 mg.kg<sup>-1</sup> potravinového simulantu. Jestliže SML není stanoven, platí limit 60 mg.kg<sup>-1</sup> potravin (Yang et al., 2015).

Jako potravinové simulanty bývá využívána destilovaná voda pro nápoje, 15% roztok etanolu pro alkoholické potraviny, 3% roztok kyseliny octové pro kyselé potraviny a olivový olej pro potraviny bohaté na tuk (Fasano et al., 2012).

Nařízení Komise (EU) č. 10/2011 stanoví, že pro detekci migrace z plastových materiálů a předmětů, které jsou ve styku s potravinami, platí obecná pravidla. Předmět k posouzení musí být skladován podle pokynů na etiketě nebo v případě absence pokynů, za podmínek, které jsou pro potravinu vhodné.

V případě zkoušky specifické migrace u materiálů a předmětů, které nejsou ve styku s potravinou, se migrace určuje na příslušném materiálu nebo pomocí

potravinových simulantů. Vzorek se umístí tak, aby byl ve styku se simulantem potravin. Po uplynutí stanovené doby styku se analyzuje specifická migrace pomocí analytických metod v souladu s nařízením (ES) č. 882/2004.

Dle Nařízení Evropského Parlamentu a Rady (ES) č. 882/2004 o úředních kontrolách za účelem ověření dodržování právních předpisů týkajících se krmiv a potravin a pravidel o zdraví zvířat a dobrých životních podmínkách zvířat se stanoví podmínky provádění úředních kontrol, které by měly splňovat řadu kritérií týkajících se jejich činnosti, aby byla zajištěna jejich nestrannost a účinnost. Měly by mít k dispozici dostatečný počet zkušených pracovníků s odpovídající kvalifikací a vhodné zařízení a vybavení pro řádné provádění svých činností. Úřední kontroly by měly být prováděny pravidelně.

Nařízení vlády 245/2009, kterým se stanoví technické požadavky na zdravotnické prostředky, které musí splňovat základní požadavky na ochranu zdraví a bezpečnost. Musí být vyrobeny takovým způsobem, aby rizika způsobená látkami migrujícími z těchto prostředků, byla minimální. Pokud zdravotnické prostředky, které jsou určeny pro podávání nebo odstraňování léčivých přípravků, tělních tekutin nebo jiných látek do těla nebo z těla, nebo zdravotnické prostředky určené pro dopravu a skladování těchto tělních tekutin nebo jiných látek, obsahují ftaláty klasifikované jako karcinogenní, mutagenní nebo toxické pro reprodukci, musí být označeny jako zdravotnický prostředek obsahující ftaláty.

Dle vyhlášky č. 84/2001 o hygienických požadavcích na hračky a výrobky pro děti ve věku do 3 let platí, že při výrobě hraček a předmětů, určených pro péči o děti, a které mohou děti vkládat do úst, nesmí být použity estery kyseliny ftalové (DEHP, DBP, BBP, DnOP a DiNP) v koncentracích vyšších než 0,1 % v měkčeném polymerním materiálu. Této vyhlášce je nadřazené nařízení Komise (ES) č. 552/2009, které mění nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1907/2006 o registraci, hodnocení, povolování a omezování chemických látek, stanovuje, že DEHP, DBP a BBP se nesmí uvádět na trh a používat jako látky nebo ve směsích v koncentracích vyšších než 0,1 % hmotnostních v měkčených plastových materiálech, které slouží k výrobě hraček a předmětů pro péči o děti, tj. výrobků usnadňujících dětem spánek, odpočinek, hygienu, krmení nebo sání. DiNP a DnOP se nesmí uvádět na trh a používat jako látky nebo ve směsích v koncentracích vyšších než 0,1 % hmotnostních v měkčených

plastových materiálech sloužících k výrobě hraček a předmětů pro péči o děti, které děti mohou vkládat do úst.

Dle vyhlášky č. 409/2005 Sb., o hygienických požadavcích na výrobky přicházející do přímého styku s vodou a na úpravu vody omezuje obsah DEHP v předmětech přicházejících do styku s vodou tak, aby jeho obsah ve vodě nepřekročil  $0,008 \text{ mg.l}^{-1}$ .

### 3.8 Expozice

Expozice začíná již během nitroděložního vývoje. Ftaláty se do organismu mohou dostat inhalací, potravinami, dále cestou dermální, transplacentární (Latini, 2008), nebo intravenózní (Holahan et Smith, 2015).

Expozice pro průměrného člověka se odhaduje na koncentraci  $3 - 30 \text{ } \mu\text{g.kg}^{-1}$  tělesné hmotnosti a den (Latini, 2008). Expozice je závislá na věku, složení komerčních prostředků, stravovacích návycích, používání produktů pro osobní péči, geografické oblasti a koncentraci ftalátů ve vnějším i vnitřním prostředí. Byly zjištěny i rozdíly v expozici mezi ženami a muži a rovněž mezi dospělými jedinci a dětmi (Starling et al., 2015).

Expozice se u různých věkových skupin značně liší. Dospělí mají nižší denní expozici vůči ftalátům než kojenci, což je dáno jejich vyšší tělesnou hmotností. V této studii bylo odhadnuto, že za hlavní zdroje expozice lze považovat změkčovadla, potravinářské obaly, plastové hračky a lepidla – pro kojence  $9 \text{ } \mu\text{g.kg}^{-1}$  tělesné hmotnosti a den, pro batolata  $19 \text{ } \mu\text{g.kg}^{-1}$  tělesné hmotnosti a den, pro děti  $14 \text{ } \mu\text{g.kg}^{-1}$  tělesné hmotnosti a den a pro dospělé  $6 \text{ } \mu\text{g.kg}^{-1}$  tělesné hmotnosti a den. Při vyšší expozici vůči ftalátům na vyvíjející se plod a u dětí je nepříznivě ovlivněn jejich vývoj a chování (Ejaredar et al., 2015).

Úřad pro bezpečnost potravin (EFSA) stanovil tolerovatelný denní příjem (TDI) pro DBP na  $10 \text{ } \mu\text{g.kg}^{-1}$  tělesné hmotnosti a den a pro DEHP  $50 \text{ } \mu\text{g.kg}^{-1}$  tělesné hmotnosti a den (Fusano, 2012).

#### 3.8.1 Dermální a inhalační expozice

Za hlavní dermální a inhalační expoziční zdroj v případě DEP jsou považovány mýdla, šampony a kondicionéry (Jarošová, 2006). U ftalátů s nízkou molekulovou hmotností (DEP, DBP, BBP) dochází k absorpci kůží a inhalací (Heudorf et al., 2007).

U kojenců a batolat jsou hlavním zdrojem expozice plastové hračky. V případě DEHP bylo stanoveno, že expozice prostřednictvím žvýkání a olizování hraček nebo jiných předmětů dosahuje až  $85 \text{ mg.kg}^{-1}$  tělesné hmotnosti a den (Heudorf et al., 2007).

Koncentrace di-2-ethylhexylftalátu je vyšší u dospělých osob, zejména u ženského pohlaví v reprodukčním věku, než u starších osob. V případě dermální expozice rozhoduje množství a frekvence používání kosmetických přípravků, které DEHP obsahují. Ženy používající častěji kosmetické přípravky měly vyšší koncentrace PAE. V této studii byla rovněž porovnávána koncentrace u dívek a chlapců a byl vyvozen závěr, že vyšší hladiny metabolitů DEHP mají chlapci. Velkou roli hraje také oblast, byly zjištěny vyšší koncentrace DEHP u chlapců z Jižní Korey než u dánských chlapců (Song et al., 2013).

Pracovníci, zabývající se výrobou materiálů obsahující ftaláty jsou mnohem více vystaveni ftalátům. Podle výsledků analýzy na přítomnost PAE v jejich moči, bylo zjištěno, že koncentrace metabolitů ftalátů je ve srovnání s běžnou populací často vyšší (Orecchio et al., 2014).

### **3.8.2 Transplacentární expozice**

Při zkoumání moči novorozenců hned po narození, byl zjištěn výskyt ftalátů, což je způsobeno transplacentárním přechodem esterů kyseliny ftalové, pro něž placenta netvoří dostatečnou bariéru (Enke et al., 2013).

Studie na zvířatech dokazují, že prenatální expozice ftalátům, zejména DBP a DEHP indukují nepříznivé změny reprodukčního systému samčího pohlaví (Main et al., 2006).

### **3.8.3 Intravenózní expozice**

K významným zdrojům expozice člověka ftalátům, zejména DEHP patří lékařská péče, používání zdravotnických pomůcek vyrobených z polyvinylchloridu, např. zařízení pro infuze, transfuze, hemodialýzu nebo kyslíkové masky. Dalším zdrojem jsou běžné krevní produkty (zmrazená plasma), které jsou skladovány v obalech z PVC. Při zjišťování koncentrace DEHP v takto skladované plasmě, byla zjištěna hodnota  $889 \text{ mg.l}^{-1}$  plasmy. Dalším potenciálním zdrojem může být mimotělní membránová oxygenace, kdy krev pacienta prochází plastovými hadičkami, ze kterých se PAE

mohou uvolňovat – u dětí se může jednat o dávku až  $34,9 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  během jediného ošetření (Šuta, 2007).

U pacientů podstupujících hemodialýzu dochází k vyluhování DEHP z PVC materiálů tukovými složkami krve. Po 3 hodinách tohoto zákroku bylo prokázáno vyluhování až  $500 \mu\text{g}$  DEHP do jednoho kg krve (Jarošová, 2010b).

DEHP je velmi dobře rozpustný v tekutinách bohatých na tuk, např. v krvi, přípravcích pro parenterální a enterální výživu a v krevních derivátech. Zdravotní pomůcky obsahují v průměru 20 – 40 % DEHP. Velice citlivé jsou předčasně narozené děti, které mají reprodukční systém stále ve vývinu (Sýkorová et al., 2009).

Podle Sathyanarayana (2008) bývá častým problémem hospitalizace kojenců a malých dětí na novorozenecké jednotce intenzivní péče, kde expozice vůči ftalátům může být až 5 krát vyšší než je povolené denní množství. Zdrojem jsou zdravotnická zařízení, která obsahují PVC, ze kterých po zahřátí mohou ftaláty snadno migrovat.

#### **3.8.4 Perorální expozice**

Strava je nejvýznamnějším zdrojem expozice (Wang et al., 2015), a to zejména v případě tučných potravin – mléko, máslo, maso aj. (Heudorf et al., 2007). Expozice prostřednictvím potravin, do kterých migrovaly ftaláty z obalů, převažuje zejména u DEHP (Jarošová, 2006).

V případě kojenců bývá příčinou perorální expozice nejčastěji mateřské mléko (Sathyanarayana, 2008). Podle studie provedené v Kanadě, kdy bylo testováno 86 vzorků od 21 kojících matek po dobu 6 měsíců, byly zjištěny měřitelné koncentrace DEHP, DBP a DEP. U 36 vzorků mateřského mléka byly detekovány metabolity ftalátů, jako monobutyl ftalát (MBP), monoethyl ftalát (MEP), mono-2-ethylhexyl ftalát (MEHP), monobenzyl ftalát (MBzP) a mono-iso-nonyl ftalát (MiNP) v různých koncentracích. Vzhledem k vyššímu obsahu tuku v mateřském mléku, byl v nejvyšší koncentraci přítomen MEHP, protože je ze všech těchto metabolitů nejlipofilnější. Dalším důležitým zdrojem expozice pro děti jsou plastové hračky, dudlíky a kojenecké láhve (Sathyanarayana, 2008).

U dětí od zdravých matek je expozice DEHP v důsledku kojení odhadována na  $0,021 \text{ mg}$  na kg a den (do tří měsíců) a na  $0,008 \text{ mg}$  na kg a den (mezi třetím

až dvanáctým měsícem. U matek, které podstupují hemodialýzu, může expozice být až 90 mg na kg a den (Šuta, 2007).

Dalším zdrojem ftalátů bývají léky s enterosolventními povlaky, které se skládají z různých polymerů, obsahující změkčovadla včetně ftalátů – zejména DEP a DBP (Heudorf et al., 2007).

### 3.9 Kumulace ve tkáních

Pokusy provedené na prasatech, kterým byly podávány ftaláty v množství 5 g na ks a den (rozpuštěné v jedlém oleji a přidané do krmiva), zaměřené na analýzu v játrech, ledvinách, plicích, mozku, srdci, svalovině, ledvinovém a podkožním tuku, prokázaly nejvyšší stupeň kumulace ve svalovině (jednotky  $\text{mg.kg}^{-1}$ ) a podkožním tuku (desítky  $\text{mg.kg}^{-1}$ ) pokusných prasat (Jarošová, 2010b).

Při testování na kuřecích brojlerech, kterým byly ftaláty podávány v množství 1000 mg na ks a den (v želatinové tobolce), byl v krvi analyzován po aplikaci DEHP jeho metabolit mono-2-ethylhexyl ftalát. Kumulace DBP ve srovnání s DEHP byla v průměru osmkrát nižší. DBP byl distribuován rovnoměrně ve všech sledovaných tkáních (ve svalovině, kůži, játrech, mesenterálním tuku a v krvi, a to v množství jednotek  $\text{mg.kg}^{-1}$ ), zatímco DEHP se kumuloval zejména v tukové tkáni (desítky  $\text{mg.kg}^{-1}$ ) (Jarošová, 2010b).

Koncentraci ftalátů ve tkáních a orgánech je ovlivňována obsahem PAE v krmivu. Studie byla provedena na kuřecích brojlerech, jejichž výkrm trval do 42. dne života. Kuřata byla krmena komerčně vyráběnými kompletními krmnými směsí (KKS) s přídatkem rostlinného oleje nebo živočišného tuku s nízkým nebo vysokým obsahem ftalátů. Naměřené hodnoty DBP se pohybovaly v rozmezí 0,39 – 0,57  $\text{mg.kg}^{-1}$ . Nejvyšší koncentrace byla zjištěna v kůži brojlerů, kteří byli krmeni směsí obsahující vysoké množství ftalátů. Nejnižší koncentrace DBP byly zjištěny v játrech kuřat (0,03 – 0,13  $\text{mg.kg}^{-1}$ ).

DEHP se stejně jako DBP kumuloval nejvíce v tuku kuřat (1,38 – 3,27  $\text{mg.kg}^{-1}$ ). Naměřené hodnoty DEHP v kůži kolísaly v rozsahu 1,10 – 1,60  $\text{mg.kg}^{-1}$ . Stejně jako u DBP byly nejnižší koncentrace naměřeny v játrech kuřat (0,16 – 0,24  $\text{mg.kg}^{-1}$ ). Obsah DEHP ve svalovině, tuku, kůži i játrech, byl vždy vyšší než obsah DBP. Ve svalovině

1,0 až 2,1 krát, v tuku 2,1 až 3,2 krát, v kůži 2,2 až 3,6 krát a játrech 1,8 až 5,3 krát (Jarošová et al., 2010).

Při analýze krmiv (krmné suroviny, doplňkové látky a premixy), byly zjištěny nižší obsahy DBP než je detekční limit (rybí moučka, siláž – kukuřičné zrno, sójový extrahovaný šrot), a to max. 22,42 mg.kg<sup>-1</sup> u živočišného tuku. Vysoké hodnoty byly stanoveny rovněž u sójového a slunečnicového oleje (139,66 mg DEHP.kg<sup>-1</sup>). Nejvyšší kontaminace byla stanovena u sójového oleje (148,2 mg.kg<sup>-1</sup>), u živočišného tuku (23,32 mg.kg<sup>-1</sup>) a u palmového tuku (12,22 mg.kg<sup>-1</sup>). Ze studie vyplývá, že ftaláty se nejvíce kumulují v krmivech bohatých na tuk (Krátká et al., 2005).

### **3.10 Negativní účinky ftalátů na zdraví**

Většina ftalátů vykazuje nízkou akutní toxicitu (Wang et al., 2015). Hodnoty LD<sub>50</sub> (letální dávka, která způsobí úhyn poloviny testované populace) se pohybují v rozmezí 1 až 30 g.kg<sup>-1</sup> tělesné hmotnosti (Heudorf et al., 2007). Toxické účinky se projevují jako nevolnost, závratě, podráždění gastrointestinálního traktu, spavost, snížení krevního tlaku, halucinace, slzení, poruchy vidění, kašel, podráždění hrdla a jícnu (Velíšek et Hajšlová, 2009).

Nejnižší zjištěnou hodnotou Lowest Observed Adverse Effect Level LOAL (nejnižší dávka, při které byl pozorován negativní účinek) pro DEHP bylo 3,0 – 3,5 mg na kg a den, kdy již bylo pozorováno poškození varlat, byla zaznamenána atrofie ledvin, narušení funkce jater, snížení srdeční frekvence a krevního tlaku. Podle směrnice Evropské unie 67/548/EHS o klasifikaci a označování nebezpečných látek byly DEHP a DBP zařazeny mezi reprotoxické látky (Šuta, 2007).

#### **3.10.1 Interference s peroxisomovými proliferátory, obezita**

Nejnebezpečnější jsou ftaláty s rozvětveným postranním řetězcem, protože působí jako proliferátory peroxisomů. Mezi hlavní zasažené orgány se řadí játra, u kterých dochází k hyperplazii (zvětšení), usazování tuku, zvýšení pigmentace a nárůstu jejich enzymatické aktivity (Lin et al., 2011).

Proliferace je způsobena interferencí ftalátů s receptory proliferátorů peroxisomů (PPAR), čímž dochází k ovlivnění metabolismu lipidů a sacharidů, což bývá



příčinou různých metabolických poruch, jako je ateroskleróza nebo obezita (Singh et Li, 2011).

U mono-2-ethylhexyl ftalátu bylo za pomoci buněčných modelů in vivo dokázáno, že podněcuje oxidaci mastných kyselin (MK), což naznačuje, že DEHP by mohl podporovat vznik a rozvoj obezity. Stejně poznatky byly zjištěny i za použití in vitro testů (Ventrice et al., 2013).

U obézních jedinců byly naměřeny vyšší koncentrace metabolitů DEHP. Tato korelace se liší mezi mužským a ženským pohlavím – u čínských chlapců byly naměřeny o 30 % vyšší koncentrace než u dívek (Giulivo et al., 2016).

### **3.10.2 Disruptory žláz s vnitřní sekrecí a reprodukční toxicita**

Ftaláty jsou považovány za endokrinní disruptory. Interferují s činností nebo metabolismem endogenních hormonů, čímž přispívají k rozvratu homeostázy (Holohan et Smith, 2015). Endokrinní systém má hlavní roli pro reprodukční funkce a vývoj pohlavních orgánů (Vélez et al., 2015).

*Reprodukční toxicita u mužů* – ftaláty způsobují kryptorchismus (nesestoupení varlat), malformace nadvarlete, chámovodu a prostaty. Vykazují antiandrogenní aktivitu, což je snížená tvorba testosteronu (mužský pohlavní hormon). Snižují produkci spermií a jejich pohyblivost a jsou zodpovědné za histologické změny varlat (Mariana et al., 2016). Při testování na hlodavcích bylo zjištěno, že DEHP u mužů snižuje hmotnost varlat a je příčinou atrofie semenotvorných kanálků (Ventrice et al., 2013). Bylo prokázáno, že ftaláty jsou příčinou zpožděného nástupu puberty, zmenšení délky penisu (Zhang et al., 2015) a kratší anogenitální vzdálenosti – vzdálenosti mezi genitáliemi a konečníkem (Giulivo et al., 2016).

*Reprodukční toxicita u žen* – ftaláty způsobují u dívek thelarché, což je dřívější nástup puberty, projevující se začátkem menstruace, růstem prsou a ochlupení v útlejším věku (Zhang et al., 2015). DEHP snižuje tvorbu estradiolu a progesteronu a zvyšuje riziko předčasného porodu (Holohan et Smith, 2015). Mnohé pokusy provedené na zvířatech prokázaly, že ftaláty, a to hlavně DEHP a DBP, jsou příčinou narušení normálního vývoje plodu (Marie et al., 2015). Zvyšují prenatální úmrtnost a jsou příčinou nižší porodní váhy a délky novorozenců (Heudorf et al., 2007).

### 3.10.3 Karcinogenita a teratogenita

Podle studií, provedených na zvířatech (myš, potkan) lze ftaláty, zejména DEHP a BBP považovat za možné lidské karcinogeny. Perorální příjem DEHP způsobuje hepatocelulární adenom (nezhoubný nádor jater) nebo karcinom (zhoubný nádor jater), nádory Leydigových buněk, které jsou zodpovědné za produkci mužských pohlavních hormonů a nádory slinivky břišní (Wang et al., 2012).

BBP s nejvyšší pravděpodobností zvyšuje výskyt nádorů u žen. Nedávný epidemiologický výzkum v Mexiku zjistil pozitivní vztah mezi koncentrací di-2-ethylhexylftalátu v moči a rizikem vzniku rakoviny prsu (Wang et al., 2012). Podle studie zaměřené na souvislost mezi koncentrací metabolitů ftalátů v moči a výskytem karcinomu prsu u žen, bylo zjištěno, že hladina MEP v moči u žen s karcinodem prsu je znatelně vyšší než u žen zdravých (Lopéz-Carrillo et al., 2010).

Studie provedené v USA a na Tchajwanu potvrdily zvýšené riziko endometriózy (růst výstelky děložní dutiny mimo dělohu) a děložních myomů v souvislosti se zvýšenou koncentrací monobutylftalátu a monoethylhexyftalátu v moči (Wang et al., 2012).

Karcinogeneze spočívá ve schopnosti ftalátů ovlivnit arylhydrokarbonreceptor (AhR), jehož aktivaci a translokaci do jádra dochází k regulaci genové exprese. Tento receptor hraje významnou roli při diferenciaci, proliferaci, stabilizaci homeostázy imunitního i jaterního systému a při vzniku tumorů (Ventrice et al., 2013).

Ftaláty jsou považovány za neurobehaviorální teratogeny. Teratogenní aktivita DEHP je spojena s oxidačním stresem a poškozením DNA. Bylo prokázáno, že ftaláty způsobují vrozené malformace a poškozují hlavní biochemické markery, což je příčinou vzniku poruch orgánů důležitých pro život. Kongenitální malformace vznikají především při expozici embrya dibuthylftalátu. Příčinou vzniku těchto defektů je genetická predispozice a pokročilý věk matky. Byla zjištěna spojitost mezi expozicí PAE a výskytem vývojových poruch chování a pozornosti (Abdul-Ghani et al., 2011).

### 3.10.4 Další negativní účinky na zdraví

*Kardiovaskulární choroby* – riziko vzniku ischemie srdečního svalu, aterosklerózy koreluje s koncentrací ftalátů v organismu (Mariana et al., 2016). Ftaláty ovlivňují také krevní tlak. Existuje významná korelace mezi koncentrací metabolitu DEP a krevním tlakem, jak systolickým, tak i diastolickým (Muscogiuri et Colao, 2016).

*Alergie a astma* – zvýšené riziko alergických projevů a snížené odolnosti vůči infekcím může být způsobeno vlivem prenatální expozice ftalátům, a to zejména DEHP. Toto období je rozhodující pro vývoj imunitního a dýchacího systému. K alergickým a dýchacím obtížím (bronchitidy, astma, plicní infekce) jsou méně náchylní chlapci než dívky. Mechanismus ovlivňování imunitního systému prostřednictvím ftalátů však není zcela známý. Předpokládá se však, že spočívá v tvorbě povrchově aktivních bílkovin v plicích (Gascon et al., 2014). Bylo dokázáno, že i nízké dávky esterů kyseliny ftalové zvyšují výskyt astmatů, alergií a atopických ekzémů (Sathyanarayana, 2008). Příčinou postižení dýchacích cest bývá většinou inhalační expozice (Ventrice et al., 2013).

*Autismus* – ftaláty se řadí mezi rizikové faktory pro vznik autismu, který je způsoben poruchou vývoje nervového systému. Bylo prokázáno, že osoby, které trpí autismem, ve srovnání se zdravými jedinci, mají vyšší koncentrace metabolitu DEHP (Ventrice et al., 2013)

*Diabetes mellitus II. typu* – je známo, že ftaláty mají schopnost interferovat s inzulínem a zvyšovat oxidativní stres, což přispívá ke vzniku rezistence na inzulín. Vyšší koncentrace metabolitu DEHP se vyskytují u osob s diagnostikou diabetu II. typu, ve srovnání se zdravými jedinci. Inzulínová rezistence je způsobena tím, že ftaláty vyvolávají mitochondriální dysfunkci, což způsobuje oxidační stres (Muscogiuri et Colao, 2016).

## 3.11 Metabolismus

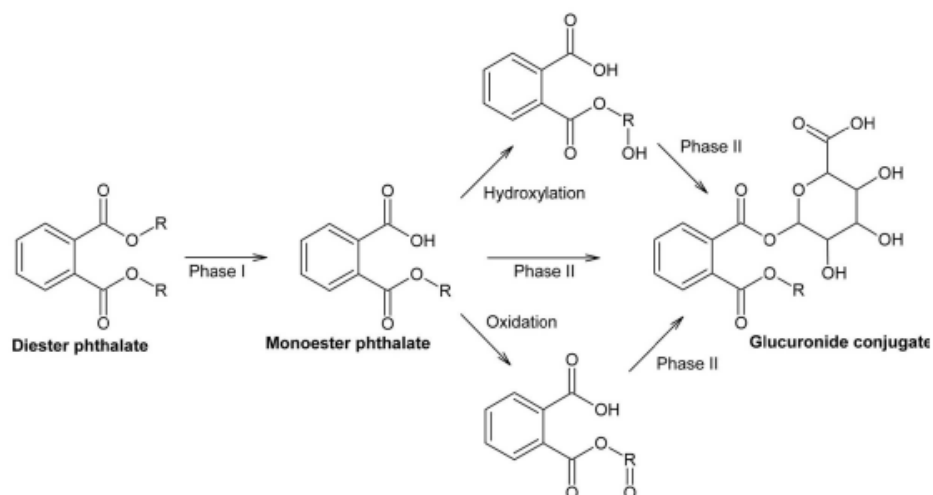
Je známo, že PAE se v organismu příliš nekumulují (Giulivo et al., 2016), protože mají krátký poločas rozpadu a v lidském organismu jsou poměrně rychle metabolizovány (Högberg et al., 2008). Biotransformace PAE v organismu má dvě fáze. V první fázi probíhá hydrolýza a ve fázi druhé nastává konjugace (Frederiksen et al., 2007).

V první fázi podléhají diestery ftalátů hydrolýze, jejímž výsledným produktem jsou monoestery kyseliny ftalové, které vykazují vyšší bioaktivitu. Tyto produkty jsou poté

oxidací přeměněny na příslušné alkoholy a karboxylové kyseliny. Druhá fáze je charakteristická konjugací monoesterů s kyselinou glukuronovou, čímž se zvyšuje rozpustnost konjugátu, který je tak snáze vyloučen močí z organismu (Tab. 3 a Obr. 3) (Frederiksen et al., 2007). U dospělého člověka je poločas eliminace 8 – 10 hodin (Picone et Paolillo, 2013).

Tab. 3 Nejpoužívanější ftaláty a jejich metabolity (Frederiksen et al., 2007)

Ftaláty	Zkratka	Metabolity	Zkratka
Dimethylftalát	DMP	Monomethyl ftalát	MMP
Diethylftalát	DEP	Monoethylftalát	MEP
Di-n-butyl ftalát	DBP	Mono-n-butyl ftalát	MBP
Di-iso-butyl ftalát	DiBP	Mono-iso-butyl ftalát	MiBP
Butylbenzyl ftalát	BBzP	Monobenzyl ftalát	MBzP
Di(2-ethylhexyl) ftalát	DEHP	Mono(2-ethylhexyl) ftalát	MEHP
		Mono(2-ethyl-5-oxohexyl) ftalát	MEOHP
		Mono(2-ethyl-5-carboxypentyl) ftalát	MECP
		Mono(2-ethyl-5-carboxyhexyl) ftalát	MCMHP
Di-iso-nonyl ftalát	DiNP	Mono-iso-nonyl ftalát	MiNP
		Mono(hydroxy-iso-nonyl) ftalát	MHiNP
		Mono(oxo-iso-nonyl) ftalát	MOiNP
		Mono(karboxy-iso-octyl) ftalát	MCiOP



Obr. 3 Metabolismus ftalátů v organismu (Frederiksen et al., 2007)

*Ftaláty s nízkou molekulární hmotností* (DMP, DBP a DEP) podléhají pouze první fázi – hydrolyze a jsou přednostně vylučovány močí ve formě nekonjugovaných monoesterů (MMP, MBP a MEP). Tento proces katalyzují pankreatické lipázy a esterázy (Frederiksen et al., 2007). Problém s odbouráváním nastává u kojenců ve věku 6 – 12 měsíců, kdy ještě lipázy slinivky břišní nejsou dostatečně aktivní. Katalytické funkce zde zastupují jednak lipázy produkované ve slinách a žaludku kojence a jednak lipázy obsažené v mateřském mléku (Picone et Paolillo, 2013).

*PAE s dlouhým řetězcem* podléhají vícestupňovým biotransformacím, které zahrnují hydroxylace, oxidace a konjugace (Frederiksen et al., 2007). Výslednými metabolity pak bývají alkoholy, karboxylové kyseliny a ketony. Tyto metabolity bývají z těla vylučovány ve formě konjugátů močí. Druhá fáze je katalyzována enzymem uridin 5'-difosfoglukuronyl transferáza (UGT) (Marie et al., 2015).

V případě DEHP dochází v prvním kroku velmi rychle k hydrolyze na MEHP za katalýzy nescifické lipázy. MEHP se dále metabolizuje za vzniku širokého spektra sekundárních metabolitů (dikyseliny a ketokyseliny), které jsou primárně vylučovány močí ve formě glukuronidových konjugátů (Frederiksen et al., 2007).

Při zkoumání rychlosti vylučování di-2-ethylhexylftalátu se zjistilo, že za 24 hodin se vyloučí 67 % DEHP ledvinami ve formě 5 hlavních metabolitů, 3,8 % DEHP se eliminuje druhý den ve formě čtyř hlavních metabolitů (Tab. 4) (Ventrice et al., 2013).

Tab. 4 Eliminace DEHP ledvinou (Ventrice et al., 2013)

67 % DEHP je vyloučeno ve formě 5 metabolitů za 24 hodin	3,8 % DEHP je vyloučeno druhý den ve formě 4 metabolitů
2-ethyl-5-hydroxy-hexyl ftalát (23,3 %)	2-karboxy-methyl-hexyl ftalát (1,6 %)
2-ethyl-5-karboxy-pentyl ftalát (18,5 %)	2-ethyl-5-karboxy-pentyl ftalát (1,2 %)
2-ethyl-5oxy-hexyl ftalát (15 %)	2-ethyl-5-hydroxy-hexyl ftalát (0,6 %)
Mono-2-ethyl-hexyl ftalát (5,9 %)	2-ethyl-5-oxy-hexyl ftalát (0,4 %)
2-karboxy-methyl-hexyl ftalát (4,2 %)	

### 3.12 Regulace a prevence ftalátů

Vzhledem k negativním účinkům ftalátů na lidské zdraví je jejich používání v obalových materiálech, oděvech, hračkách a průmyslových produktech v posledních letech v mnoha zemích přísně regulováno (Kim et al., 2016).

Dle Rozhodnutí Evropské komise 815/1999 byla zavedena regulace týkající se nejčastěji používaných ftalátů – DEHP, DiNP, DBP, BBP a DnOP v hračkách a výrobcích pro péči o děti do tří let věku (Šuta, 2007).

Vážné obavy vyvolává expozice kojenců léčených na jednotce intenzivní péče, která může dosáhnout hodnot, které jsou pro hlodavce toxické a mohou výrazně ovlivnit vývoj mužského reprodukčního ústrojí. Pomůcky obsahující DEHP by podle kanadského ministerstva zdravotnictví neměly být používány u novorozenců a dětí v prepubertálním věku, zejména u ošetření zahrnující mimotělní okysličování, operace srdce a transfuze krve (Šuta, 2007).

Vhodné by bylo nahradit používání DEHP jako změkčovadla v PVC obalech alternativními netoxickými změkčovadly – adipáty, citráty nebo trimellitáty, jejichž účinnost je srovnatelná s DEHP, nevýhodou je však jejich vysoká cena. Alternativou by také mohlo být nahrazení používání PVC obalů alternativními polymerními obaly jako např. silikonové, polyuretanové nebo polyolefinové, u kterých se plastifikátory nepoužívají, protože samy o sobě jsou dostatečně flexibilní. O těchto alternativách se pouze uvažuje, protože doposud nejsou k dispozici dostatečné údaje o jejich toxicitě (Chiellini et al., 2013).

Podle studie, která byla provedena ve Spojených státech, při níž bylo analyzováno 11 071 účastníků v letech 2001 – 2010, byl zaznamenán značný pokles, koncentrace metabolitů ftalátů DBP a DEHP v organismu člověka. Největší pokles

téměř u všech účastníků, byl zaznamenán u DEHP, a to o 42 %. Nepříznivé byly výsledky u metabolitu DiBP, u kterého trend expozice vzrůstá, což může být zapříčiněno jeho používáním jako alternativy v některých výrobcích, kde nahrazuje DBP (Mariana et al., 2016).

### **3.13 Analytické metody stanovení PAE**

Pro sledování ftalátů v různých materiálech jsou základním předpokladem vysoce citlivé a přesné analytické metody. Stanovení ftalátů může být provedeno na různých typech biologických vzorků – nejčastěji se analyzují v moči, jako vzorek můžeme rovněž použít krev, sliny, pot, sperma, plodovou vodu nebo mateřské mléko. Koncentrace naměřené v těchto typech vzorků jsou však ve srovnání s močí mnohem nižší (Johns et al., 2015). Pro stanovení ftalátů v biologických vzorcích, je vzhledem k jejich rychlé degradaci v organismu spolehlivější analýza jejich metabolitů (Mariana et al., 2016).

Stanovení PAE v matricích potravin může být často obtížné, což je způsobeno jejich velmi nízkou koncentrací v potravinách, a to někdy i pod mezí detekce, složitostí potravinové matrice a také možností jejich ztráty během přípravy nebo skladování vzorků (Yang et al., 2013).

Vzhledem k ubikvitárnímu výskytu esterů kyseliny ftalové, je nezbytné zajistit, aby použité chemikálie a materiály nebyly zdrojem kontaminace, čehož dosáhneme jejich předběžnou úpravou pomocí detergentu a vody s následným propláchnutím směsí aceton-hexan. Pro snížení obsahu ftalátů v používaných rozpouštědlech se doporučuje jejich destilace. Pro minimalizaci kontaminace je nutné vyvarovat se používání latexových a vinylových rukavic při manipulaci se vzorkem, které by mohly značně ovlivnit naměřené koncentrace (Fromme et al., 2011). Je nutné eliminovat používání plastového materiálu a minimalizovat kosmetické výrobky obsahující PAE. V neposlední řadě je důležité zajistit pravidelnou kontrolu čistoty celého chromatografického systému (Yang et al., 2015).

Pro vlastní detekci ftalátů se většinou používá plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií (Högberg et al., 2008) nebo vysokoúčinná kapalinová chromatografie (Yang et al., 2015).

Jedná se o separační metody, jejichž principem je rozdělení vzorku mezi dvě fáze – pohyblivou a nepohyblivou. Pohyblivou neboli mobilní fází je plyn v případě plynové chromatografie nebo kapalina, jedná-li se o chromatografii kapalinovou. Fáze nepohyblivá neboli stacionární je označována jako sorbent.

Principem této metody je transport vzorku mobilní fází ke konci kolony, kde je mobilní i stacionární fáze zadržována. Molekuly vzorku mohou při postupu kolonou být buď v mobilní fázi a pohybovat se stejně rychle jako tato fáze nebo jsou součástí stacionární fáze a nepohybují se vůbec. Každá molekula vzorku několikrát přejde z mobilní fáze na povrch sorbentu a zpět, přičemž se vždy počet molekul sorbovaných rovná počtu molekul desorbovaných. Doba setrvání molekuly vzorku na povrchu sorbentu je závislá na síle interakce mezi sorbentem a vzorkem – čím větší interakce, tím později vychází vzorek a tím delší je retenční čas (Komprda, 2003).

Doba, kterou molekula složky stráví v koloně, se nazývá retenční čas. Tato doba je rozdělena na mrtvý retenční čas – doba setrvání molekuly v mobilní fázi, a redukovaný retenční čas – doba setrvání ve fázi stacionární. Retenční časy umožňují charakterizovat konkrétní složku (Klouda, 2003).

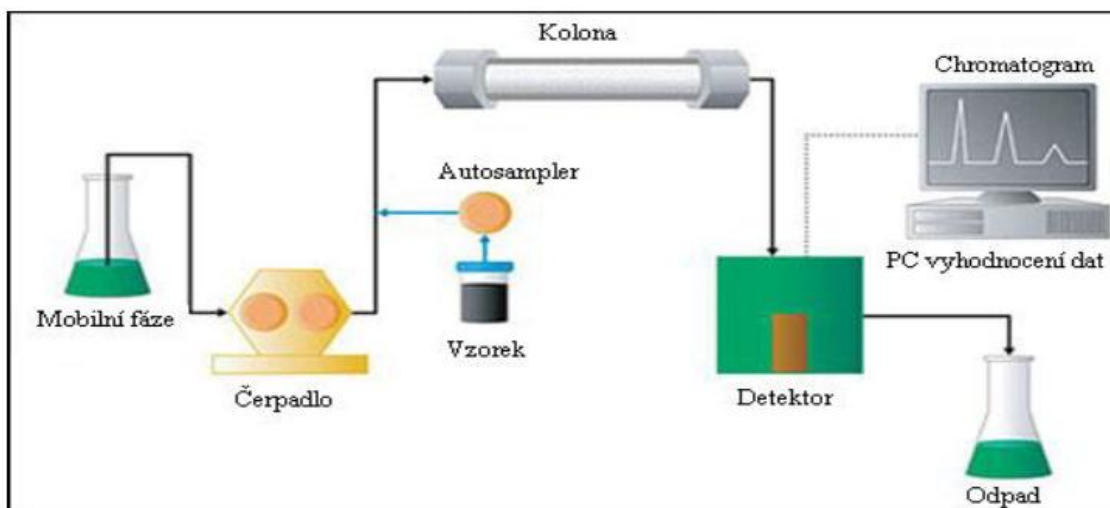
### **3.13.1 Vysokoučinná kapalinová chromatografie (HPLC)**

Tato metoda je používána velice často. Mezi její hlavní výhody patří schopnost stanovovat organické sloučeniny, které nejsou termostabilní a těkavé. Pro maximalizaci účinnosti metody je nutná vhodná volba mobilní fáze, kterou nejčastěji bývá metanol s malým množstvím kyseliny octové nebo mravenčí. Při stanovování PAE se většinou využívá gradientová eluce, při které se během analýzy mění složení mobilní fáze. Jako detektory jsou využívány hmotnostní spektrometry HPLC-MS, které nahradily dříve používané UV-VIS a diodové detektory (Yanget al., 2015). Schéma kapalinového chromatografu je znázorněno na Obr. 4.

Principem hmotnostního spektrometru je analýza iontů pomocí kvadrupólového analyzátoru nebo iontové pasti. Velice vhodné je jeho použití při analýze vzorků neznámého složení – každá složka má své hmotnostní spektrum, podle kterého, po porovnání s knihovnou spekter, identifikujeme neznámou složku ve vzorku. Pro maximalizaci účinnosti metody je nutné zajistit, aby množství a velikost zrníček sorbentu byla optimální. Využívá se vysoký pracovní tlak až 35 MPa (Klouda, 2003).



HPLC-MS metody jsou používány méně často než GC-MS, což je zapříčiněno tím, že u HPLC mohou být používány plastové filtry a rozpouštědla používané pro mobilní fázi zdrojem kontaminace (Lin et al., 2015).



Obr. 4 Schéma kapalinového chromatografu (Hrušáková, 2014)

### 3.13.2 Plynová chromatografie (GC)

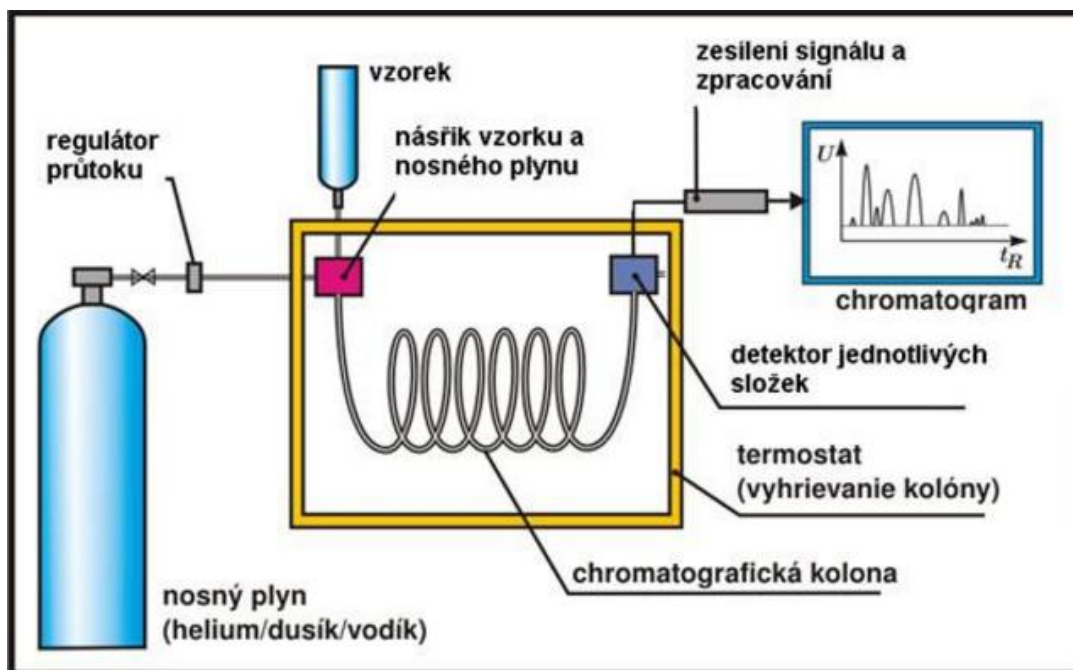
GC je nejpoužívanější analytická technika pro stanovení ftalátů. Mohou být využity různé typy kolon, vstupních systémů a detektorů (Stanley et al., 2003). Jako mobilní fáze se zde uplatňuje nosný plyn, a to nejčastěji helium o čistotě 99,999 % a průtokové rychlosti  $1 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$  (Du et al., 2016).

Plynová chromatografie je nejčastěji používána u látek s dostatečným tlakem syté páry, jsou termostabilní a jejich molekulová hmotnost nepřesahuje 1000 – nejčastěji se jedná o plyny, nedisociované kapaliny, pevné organické molekuly a organokovové látky. Tato metoda není vhodná pro separaci organických a anorganických solí a makromolekul (Klouta, 2003).

Kolona se nejprve přehřeje na  $60 \text{ }^\circ\text{C}$ , což trvá asi 3 minuty, následně se teplota zvyšuje každých 10 minut o  $10 \text{ }^\circ\text{C}$ , až dosáhne  $290 \text{ }^\circ\text{C}$  a tato teplota se udržuje 10 minut, čímž se vzorek odpaří (Earls et al., 2003).

Zvýšení účinnosti této metody zajišťuje použití křemenných kapilárních kolon. Vzhledem k vysoké citlivosti je možné detekovat i ultrastopové koncentrace (Yang et al., 2015).

Kromě využití hmotností spektrometrie lze k detekci využít plamenový-ionizační detektor. Pro stanovení ftalátů se však využívá jen velmi zřídka (Stanley et al., 2003). Schéma plynového chromatografu je znázorněno na Obr. 5.



Obr. 5 Schéma plynového chromatografu (Eliáš, 2007)

Mezi méně využívané metody patří *chemiluminiscence*, která nachází uplatnění při analýze dibuthylftalátu ve vínu a *elektrokinetická chromatografie*, která se uplatňuje při analýze nealkoholických nápojů, a to jak pro detekci DEHP, tak i DBP. Výhodou této metody je, že vzorky mohou být analyzovány přímo bez předchozího předčištění (Yang et al., 2015).

## 4 MATERIÁL A METODIKA

### 4.1 Materiál

Pro analýzu bylo použito 30 plastových obalů pro masné výrobky získaných od německé firmy. Z každého obalu byl odebrán vzorek s potiskem (1 dm<sup>2</sup>) a bez potisku (1 dm<sup>2</sup>), tudíž bylo analyzováno 60 vzorků. Analýza probíhala pro každý vzorek duplicitně (120 analýz). Cílem analýzy bylo zjistit, zda je koncentrace ftalátů v potištěných částech obalů vyšší, než koncentrace v částech nepotištěných, tedy zda potištěná část představuje pro zabalenou potravinu větší riziko.

Analýza byla provedena v chemické laboratoři na Ústavu technologie potravin Mendelovy univerzity v Brně.

### 4.2 Přístroje a pomůcky

- Analytické váhy ABJ 220 – 4M (Kern&Sohn GmbH, Německo)
- Centrifuga (Hettich-Zentrifugen D-78532 Tuttlingen-universal 32R, Německo)
- Lyofilizátor (Pragolab Alpha 1-2 LD plus, Christ, Německo)
- Třepačka GFL typ 3005 (Gesellschaft für Labortechnik mbH, Německo)
- Filtrační papír (Papírny Pernštejn s.r.o., Česká republika)
- Rotační vakuová odparka (RVO 05-ST, IKA Werke GmbH&Co KG, Německo)
- Termostat EVATERM (Labicom s.r.o., Česká republika)
- Ultrazvuková lázeň PS 10000 (Notus-Powersonic s.r.o., Slovensko)
- Wortex (MS2, IKA Werke GmbH&Co KG, Německo)
- Stříkačka s jehlou – Hamilton (Švýcarsko)
- Kapalinový chromatograf (Agilent 1100 series, Německo)

### 4.3 Chemikálie

- Směs rozpouštědel hexan:dichlormethan 1:1 (hexan – Penta, Česká republika; dichlormethan – Lachner, Česká republika)
- Aceton (Penta, Česká republika)
- Hexan (Penta, Česká republika)

- Acetonitril (Sigma-Aldrich, s.r.o., Česká republika)
- Koncentrovaná kyselina sírová (Lach-Ner s.r.o., Česká republika)
- Dusík (SIAD, Česká republika)

## 4.4 Metodika

Pro detekci PAE byla použita kvantitativní metoda určená k analýze esterů kyseliny ftalové v obalech dle Gajdůšková et al. (1996). Vyhodnocení pokusu bylo provedeno pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) s UV detekcí.

Pro vyloučení rizika sekundární kontaminace byly veškeré použité laboratorní pomůcky vypláchnuty nejprve destilovanou vodou a poté 3krát hexanem, filtrační papíry byly dekontaminovány louhováním v acetonu po dobu 24 hodin, a to celkem 3krát.

### 4.4.1 Příprava vzorku pro HPLC

Z každého obalu pro masné výrobky byly vystřiženy vždy 2 vzorky o velikosti 1 dm<sup>2</sup> (duplicitní analýza). Vzorky byly odebírány jak z nepotíštěných částí obalů, tak z částí s potiskem.

*Extrakce* - vzorky obalů byly rozstříhány na co nejmenší kousky a vloženy do popsané Erlenmayerovy baňky o objemu 250 ml. Vzorek byl zalitý 50 ml směsí rozpouštědel n-hexan:dichlormethan v poměru 1:1, nebo takovým množstvím, aby byl vzorek zcela ponořený. Poté byly baňky zakryty alobalem a nechaly se louhovat po dobu 72 hodin při laboratorní teplotě. Následně byly vzorky 3krát extrahovány třepáním ve směsi rozpouštědel n-hexan:dichlormethan v poměru 1:1. První extrakce trvala 1 hodinu. Po uplynutí této doby, byly extrakty zfiltrány přes filtrační papír do popsané odpařovací baňky. Druhá a třetí extrakce probíhaly stejným způsobem, za použití stejných rozpouštědel, každá po dobu 30 minut s následným zfiltrováním extraktu do téže popsané odpařovací baňky.

*Odpařování* – získané extrakty byly odpařeny do sucha na rotační vakuové odparce, při teplotě vodní lázně cca 40 °C. Vzorky byly následně dosušeny dusíkem, aby nebylo cítit rozpouštědlo. Poté byly baňky vypláchnuty 5 ml hexanu (3krát – 2 + 2 + 1 ml)

a převedeny do velkých vialek o objemu 16 ml. Získaný obsah vialek byl buď čirý a nezbarvený, nebo zakalený. V případě, že byl extrakt úplně čirý, převedl se do malé vialky o objemu 1,8 ml, dosušil do sucha dusíkem, přidal se acetonitril a vzorek se přímo měřil. V případě, že vzorek nebyl čirý, muselo být provedeno odstředění pomocí centrifugy a přečištění pomocí koncentrované kyseliny sírové.

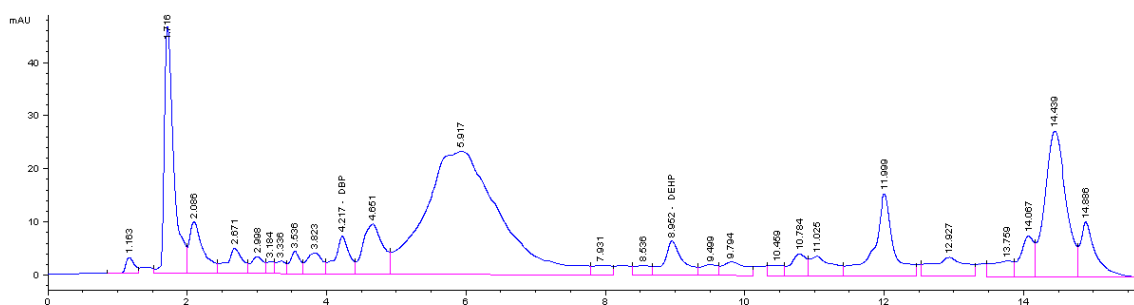
*Odstředování* – bylo provedeno pomocí centrifugy při 1000 otáčkách/1 minutu při teplotě 4 °C po dobu 10 minut. Po odstředění byla odebrána horní část extraktu (1,5 ml) do malé vialky, která byla následně vysušena do sucha pomocí dusíku. Na dně velké vialky došlo po prvním odstředění k usazení kalu. Tyto velké vialky byly znovu odstředěny při stejných podmínkách a následně se opět odebrala horní vrstva extraktu v množství 1,5 ml do malé vialky, která se znovu dosušila dusíkem do sucha.

*Přečišťování koncentrovanou kyselinou sírovou* – po odpaření hexanu dusíkem, byla přidána koncentrovaná kyselina sírová (96%) v množství 1 ml. Za účelem oddělení organické fáze od kyseliny byly malé vialky umístěny na třepačku, kde byly třepány po dobu 10 minut. Poté byly odstředěny pomocí centrifugy při 3000 otáčkách/1 minutu při teplotě 4 °C po dobu 10 minut, čímž došlo ke vzniku dvou fází. Po odstředění byla horní vrstva odebrána a odstraněna do odpadu. Následně byla do malé vialky přidána 65% kyselina sírová v množství 2 ml a hexan v množství 1 ml. V případě, že nedošlo k vyčištění, byly přidány ještě 2 ml 65% kyseliny sírové. Vialky byly poté opět třepány po dobu 10 minut a následně odstředovány za stejných podmínek. Poté byla odebrána horní vrstva do vialky. Opět se přidal 1 ml hexanu a vialka byla umístěna na třepačku a následně na centrifugu za stejných podmínek. Po ukončení odstředování byla opět odebrána horní vrstva do vialky. Takto odebrané hexanové fáze byly odpařeny pomocí dusíku. Poté byl postup stejný jako v případě čistého extraktu – přidal se acetonitril a provedlo se měření pomocí HPLC.

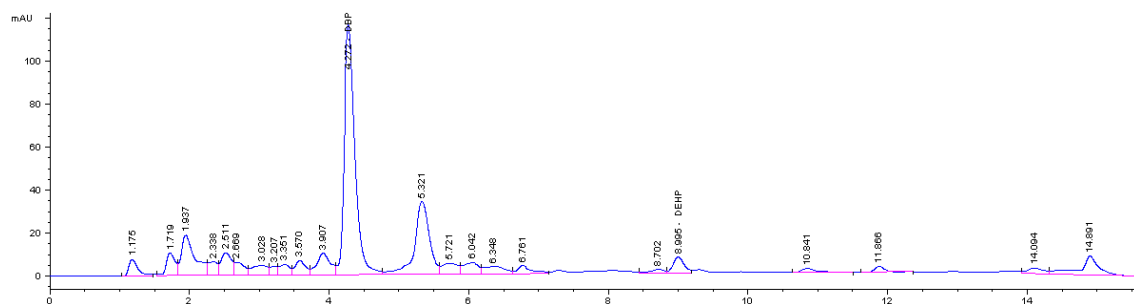
#### **4.4.2 Vlastní stanovení PAE**

Estery kyseliny ftalové byly vyhodnoceny pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie s UV detekcí při vlnové délce 224 nm. Byla použita kolona Zorbax Eclipse XDB-C8, o rozměru 150 x 4,6 mm s velikostí částic 5 µm. Promývání kolony bylo prováděno před i po každé analýze do nulové odezvy detektoru. Pro mobilní fázi byl použit 100% acetonitril o průtoku 0,8 ml/min. Vzorky byly nastříkány

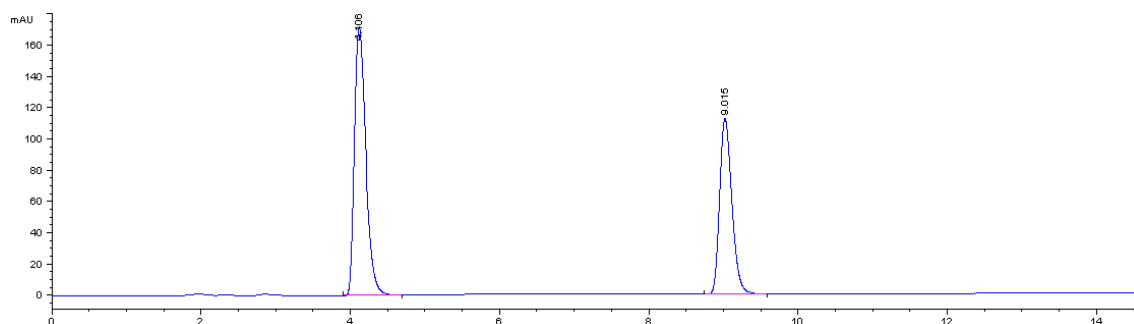
automaticky pomocí autosampleru v množství 10  $\mu\text{l}$ , a to ve dvou opakováních. Vyhodnocení bylo provedeno na základě kalibrační křivky pomocí programu Agilent Chemstation for LC and LC/MS systems. Kvantifikace byla provedena na základě pětibodové lineární kalibrační křivky, přičemž byly použity roztoky standardů DBP a DEHP, které byly zředěny acetonitrilem v koncentracích 0,2; 0,5; 1; 5 a 10  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ . Mez stanovitelnosti v obalových materiálech byla 0,1  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  původního vzorku. Chromatogramy reálných vzorků obalových materiálů a standardů DBP a DEHP jsou uvedeny na Obr. 6, 7 a 8.



Obr. 6 Chromatogram detekce ftalátů ve vzorku obalového materiálu



Obr. 7 Chromatogram detekce ftalátů ve vzorku obalového materiálu



Obr. 8 Chromatogram standardů DBP a DEHP

#### **4.4.3 Statistické zpracování dat**

Statistické zpracování výsledků bylo provedeno pomocí programu Microsoft Excel a Statistica 12 pomocí metody výpočtu základních statistických parametrů a párového Wilcoxonova testu.

Párový Wilcoxonův test byl zvolen z důvodu, že se jedná dvouvýběrové párové testy. Po provedení testu normality vyšla pro všechny proměnné p-hodnota  $< 0,05$ , z čehož plyne, že proměnné nemají normální rozdělení a musíme tedy volit Wilcoxonův párový test.

## 5 VÝSLEDKY A DISKUZE

Cílem analýzy bylo, vzhledem k používání ftalátů při výrobě barev, určených k potisku obalových materiálů, zjistit, zda je koncentrace PAE v potištěných částech obalů vyšší, než v částech bez potisku.

Pro analýzu bylo použito 30 plastových obalů pro masné výrobky získaných od německé firmy. Z každého obalu byl odebrán vzorek s potiskem ( $1 \text{ dm}^2$ ) a bez potisku ( $1 \text{ dm}^2$ ), tudíž bylo analyzováno 60 vzorků. Analýza probíhala pro každý vzorek duplicitně (120 analýz). Koncentrace DBP a DEHP byly stanoveny pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC). Naměřené hodnoty byly následně statisticky vyhodnoceny. Koncentrace DBP, DEHP, sumy PAE (DBP + DEHP) v potištěných a nepotištěných částech obalových materiálů ( $n = 30$ ) jsou uvedeny v  $\mu\text{g} \cdot \text{dm}^{-2}$  plochy vzorku a  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  původního vzorku.

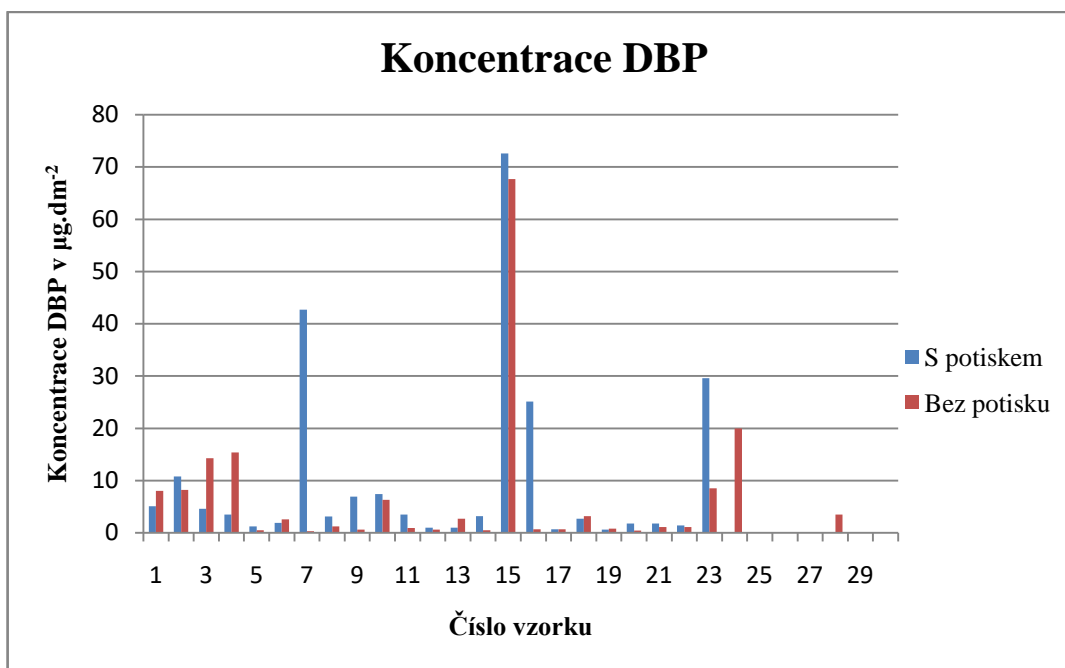
### 5.1 Obsah DBP v potištěných a nepotištěných částech obalů

Hodnoty koncentrací DBP v potištěných vzorcích se pohybovaly v rozmezí od nedetekovatelných hodnot ( $< 0,1 \mu\text{g} \cdot \text{dm}^{-2}$ ) do  $72,6 \mu\text{g} \cdot \text{dm}^{-2}$  povrchu vzorku, respektive od nedetekovatelných hodnot ( $< 0,1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) do  $124,9 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  původního vzorku. V případě obalů bez potisku se naměřené koncentrace DBP pohybovaly od nedetekovatelných hodnot ( $< 0,1 \mu\text{g} \cdot \text{dm}^{-2}$ ) do  $67,7 \mu\text{g} \cdot \text{dm}^{-2}$  povrchu vzorku, respektive od nedetekovatelných hodnot ( $< 0,1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) do  $122,6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  původního vzorku. Nejvyšší koncentrace DBP byly v obou případech, jak u obalu s potiskem, tak bez potisku, naměřeny ve vzorku č. 15 (Tab. 5 a Obr. 9).



Tab. 5 Koncentrace DBP v potišťených a nepotišťených částech obalových materiálů pro masné výrobky v  $\mu\text{g.dm}^{-2}$  plochy vzorku a  $\text{mg.kg}^{-1}$  původního vzorku; ND (nedetekováno)  $< 0,1 \text{ mg.kg}^{-1}$

DBP ( $\mu\text{g.dm}^{-2}$ )			DBP ( $\text{mg.kg}^{-1}$ )		
č. vzorku	s potiskem	bez potisku	č. vzorku	s potiskem	bez potisku
1	5,1	8	1	9,4	14,8
2	10,8	8,2	2	19	15,1
3	4,6	14,3	3	8,4	26,2
4	3,5	15,4	4	6,1	28,9
5	1,2	0,5	5	1,1	0,6
6	1,9	2,6	6	2,5	1,9
7	42,7	0,3	7	47,5	0,3
8	3,1	1,2	8	6,7	0,5
9	6,9	0,6	9	8	0,7
10	7,4	6,3	10	10,6	9,2
11	3,5	0,9	11	6,4	1,7
12	1	0,6	12	1,8	1
13	1	2,7	13	1,8	5,1
14	3,2	0,5	14	3,9	0,6
15	72,6	67,7	15	124,9	122,6
16	25,1	0,7	16	47,7	1,4
17	0,7	0,7	17	1,4	1,5
18	2,7	3,2	18	4,9	6,1
19	0,6	0,8	19	1,2	1,6
20	1,8	0,4	20	1,8	0,5
21	1,8	1,1	21	2,2	1,4
22	1,4	1,1	22	2,3	1
23	29,6	8,5	23	54,7	15,7
24	ND	20	24	ND	37
25	ND	ND	25	ND	ND
26	ND	ND	26	ND	ND
27	ND	ND	27	ND	ND
28	ND	3,5	28	ND	4,7
29	ND	ND	29	ND	ND
30	ND	ND	30	ND	ND



Obr. 9 Koncentrace DBP v částech obalových materiálů pro masné výrobky s potiskem a bez potisku v  $\mu\text{g.dm}^{-2}$

Tab. 6 Základní statistické údaje - minimální (MIN) a maximální (MAX) hodnota, směrodatná odchylka (SD) a rozptyl koncentrace DBP v potištěných částech obalových materiálů pro masné výrobky v  $\mu\text{g.dm}^{-2}$  plochy vzorku

Základní popisné charakteristiky DBP s potiskem ( $\mu\text{g.dm}^{-2}$ )															
č. vzorku	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
MIN	5	9,6	4	3,1	1	1,1	40,4	1,1	5,5	7,2	1,7	0,9	0,7	1	55,7
MAX	5,2	12,1	5,2	3,9	1,4	2,7	45,1	5,1	8,2	7,5	5,3	1,1	1,3	5,4	89,5
SD	0,1	1,2	0,6	0,4	0,2	0,8	2,4	2,0	1,4	0,2	1,8	0,1	0,3	2,2	16,9
Rozptyl	0,0	1,5	0,3	0,2	0,1	0,6	5,7	4,1	1,9	0,0	3,1	0,0	0,1	4,9	287,1

Tab. 6 Základní statistické údaje - minimální (MIN) a maximální (MAX) hodnota, směrodatná odchylka (SD) a rozptyl koncentrace DBP v potištěných částech obalových materiálů pro masné výrobky v  $\mu\text{g.dm}^{-2}$  plochy vzorku (pokračování)

Základní popisné charakteristiky DBP s potiskem ( $\mu\text{g.dm}^{-2}$ )															
č. vzorku	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
<b>MIN</b>	22,8	0,6	2,5	0,6	1,6	1,8	1,1	27,3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
<b>MAX</b>	27,5	0,8	2,8	0,7	2	1,8	1,8	32	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
<b>SD</b>	2,4	0,1	0,1	0,1	0,2	0,0	0,3	2,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<b>Rozptyl</b>	5,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	5,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Tab. 7 Základní statistické údaje - minimální (MIN) a maximální (MAX) hodnota, směrodatná odchylka (SD) a rozptyl koncentrace DBP v nepotištěných částech obalových materiálů pro masné výrobky v  $\mu\text{g.dm}^{-2}$  plochy vzorku

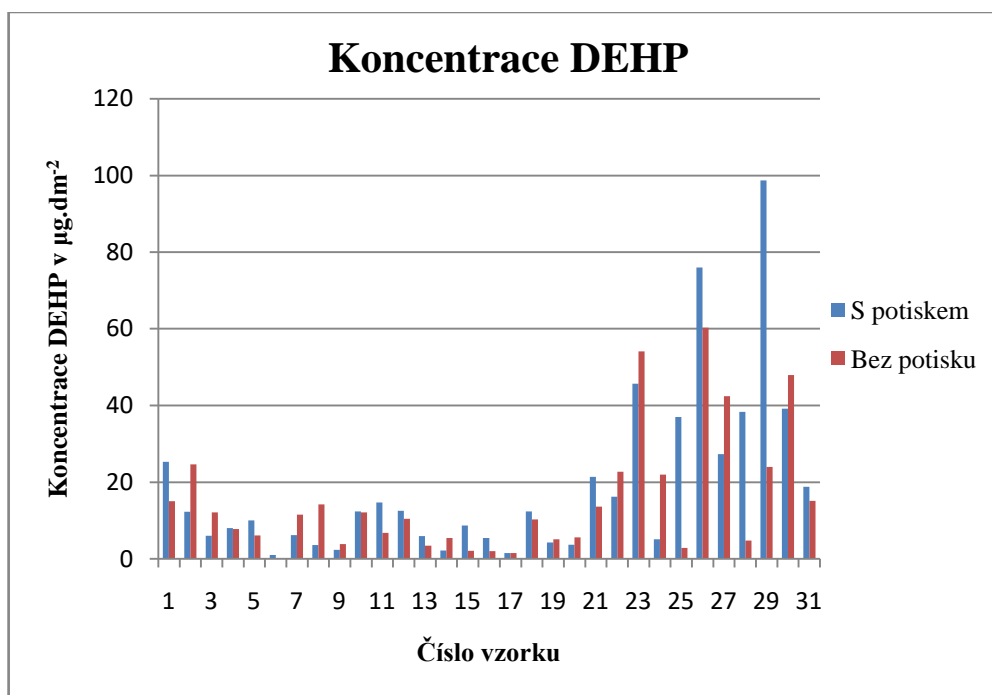
Základní popisné charakteristiky DBP bez potisku ( $\mu\text{g.dm}^{-2}$ )															
č. vzorku	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
<b>MIN</b>	7,5	8	13,7	14,4	0,4	0,1	0,3	1	0,5	5,4	0,8	0,6	2,2	0,5	63,1
<b>MAX</b>	8,6	8,5	14,9	16,3	0,6	5,1	0,3	1,3	0,7	7,2	0,9	0,6	3,2	0,5	72,4
<b>SD</b>	0,8	0,5	0,8	1,1	0,7	0,0	4,2	12,1	0,3	0,1	0,9	3,9	1,2	2,0	0,2
<b>Rozptyl</b>	0,6	0,3	0,6	1,1	0,5	0,0	17,8	146,0	0,1	0,0	0,8	15,0	1,4	4,2	0,0

Tab. 7 Základní statistické údaje - minimální (MIN) a maximální (MAX) hodnota, směrodatná odchylka (SD) a rozptyl koncentrace DBP v nepotištěných částech obalových materiálů pro masné výrobky v  $\mu\text{g.dm}^{-2}$  plochy vzorku (pokračování)

Základní popisné charakteristiky DBP bez potisku ( $\mu\text{g.dm}^{-2}$ )															
č. vzorku	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
<b>MIN</b>	0,6	0,6	2,9	0,8	0,4	0,8	1,4	8	17,1	ND	ND	ND	2,4	ND	ND
<b>MAX</b>	0,9	0,9	3,5	0,9	0,5	1,3	0,8	9,1	23	ND	ND	ND	4,7	ND	ND
<b>SD</b>	0,3	0,8	2,0	0,2	2,1	1,1	10,4	2,7	3,9	0,7	4,9	2,8	0,5	1,3	2,6
<b>Rozptyl</b>	0,1	0,6	4,0	0,0	4,3	1,1	108,8	7,2	14,9	0,5	24,2	7,9	0,2	1,7	6,9

## 5.2 Obsah DEHP v potištěných a nepotištěných částech obalů

Hodnoty koncentrací DEHP se u obalů s potiskem pohybovaly v rozmezí od nedetekovatelných hodnot ( $< 0,1 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$ ) do  $98,7 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$  povrchu vzorku, respektive od nedetekovatelných hodnot ( $< 0,1 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) do  $109,7 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  původního vzorku. Nejvyšší koncentrace DEHP byly naměřeny ve vzorku č. 29. U obalových materiálů bez potisku se naměřené koncentrace DEHP pohybovaly od nedetekovatelných hodnot ( $< 0,1 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$ ) do  $60,3 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$  povrchu vzorku, respektive od nedetekovatelných hodnot ( $< 0,1 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) do  $113,3 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  původního vzorku. Nejvyšší koncentrace DEHP byly zjištěny u vzorku č. 26 (Obr. 10 a Tab. 8).



Obr. 10 Koncentrace DEHP v částech obalových materiálů pro masné výrobky s potiskem a bez potisku v  $\mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$

Tab. 8 Koncentrace DEHP v potištěných a nepotištěných částech obalových materiálů pro masné výrobky v  $\mu\text{g.dm}^{-2}$  plochy vzorku a  $\text{mg.kg}^{-1}$  původního vzorku; ND (nedetekováno)  $< 0,1 \text{ mg.kg}^{-1}$

DEHP ( $\mu\text{g.dm}^{-2}$ )			DEHP ( $\text{mg.kg}^{-1}$ )		
č. vzorku	s potiskem	bez potisku	č. vzorku	s potiskem	bez potisku
1	25,3	15	1	46,7	27,7
2	12,3	24,6	2	21,4	45,4
3	6	12,1	3	11	22,1
4	8	7,8	4	13,9	14,7
5	10	6,1	5	9,1	8,5
6	1	0	6	1,4	0,0
7	6,2	11,5	7	6,9	10,4
8	3,6	14,2	8	7,7	5,7
9	2,3	3,8	9	2,7	4,4
10	12,4	12,1	10	17,8	17,5
11	14,7	6,8	11	27,2	12,9
12	12,5	10,4	12	22,6	18,8
13	5,9	3,4	13	11,2	6,4
14	2,2	5,4	14	2,7	6,7
15	8,7	2,1	15	15,0	3,9
16	5,4	2	16	10,3	3,9
17	1,5	1,5	17	2,9	3,0
18	12,4	10,3	18	22,8	19,5
19	4,3	5,1	19	7,7	9,7
20	3,7	5,6	20	3,7	6,1
21	21,4	13,6	21	25,7	17,7
22	16,2	22,7	22	25,5	19,2
23	45,7	54,1	23	84,3	99,8
24	5,1	22	24	8,9	40,6
25	37	2,8	25	67,7	5,2
26	76	60,3	26	131,5	113,3
27	27,3	42,4	27	24,7	37,3
28	38,3	4,8	28	51,6	6,4
29	98,7	24	29	109,7	26,5
30	39,2	47,9	30	84,3	98,6

Tab. 9 Základní statistické údaje - minimální (MIN) a maximální (MAX) hodnota, směrodatná odchylka (SD) a rozptyl koncentrace DEHP v potištěných částech obalových materiálů pro masné výrobky v  $\mu\text{g.dm}^{-2}$  plochy vzorku

Základní popisné charakteristiky DEHP s potiskem ( $\mu\text{g.dm}^{-2}$ )															
č. vzorku	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
<b>MIN</b>	24,0	10,3	5,4	8,0	8,2	0,6	6,1	3,4	2,3	11,1	12,2	12,3	5,2	0,3	6,3
<b>MAX</b>	26,6	14,2	6,6	8,0	11,8	1,5	6,4	3,8	2,3	13,6	17,2	12,7	6,7	4,0	11,2
<b>SD</b>	1,3	2,0	0,6	0,0	1,8	0,4	0,1	0,2	0,0	1,3	2,5	0,2	0,8	1,9	2,5
<b>Rozptyl</b>	1,6	3,9	0,4	0,0	3,1	0,2	0,0	0,0	0,0	1,6	6,3	0,0	0,6	3,5	6,1

Tab. 9 Základní statistické údaje - minimální (MIN) a maximální (MAX) hodnota, směrodatná odchylka (SD) a rozptyl koncentrace DEHP v potištěných částech obalových materiálů pro masné výrobky v  $\mu\text{g.dm}^{-2}$  plochy vzorku (pokračování)

Základní popisné charakteristiky DEHP s potiskem ( $\mu\text{g.dm}^{-2}$ )															
č. vzorku	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
<b>MIN</b>	5	1,3	10,7	2,9	2	13,8	6,5	40,8	5,1	35,9	71,1	25,2	35,7	95,2	36,8
<b>MAX</b>	5,9	1,7	14,2	5,6	5,4	28,9	25,8	50,6	5,1	38	81	29,4	41	102,2	41,7
<b>SD</b>	0,4	0,2	1,7	1,4	1,7	7,5	9,7	4,9	0,0	1,1	5,0	2,1	2,7	3,5	2,4
<b>Rozptyl</b>	0,2	0,0	3,0	1,9	3,0	56,7	93,5	24,2	0,0	1,1	24,7	4,5	7,2	12,4	5,8

Tab. 10 Základní statistické údaje - minimální (MIN) a maximální (MAX) hodnota, směrodatná odchylka (SD) a rozptyl koncentrace DEHP v nepotištěných částech obalových materiálů pro masné výrobky v  $\mu\text{g.dm}^{-2}$  plochy vzorku

Základní popisné charakteristiky DEHP bez potisku ( $\mu\text{g.dm}^{-2}$ )															
č. vzorku	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
<b>MIN</b>	14,3	24,1	11,3	6,8	5,4	0	7,3	2,1	3,5	11,9	5,9	6,6	2,2	3,3	1,9
<b>MAX</b>	15,8	25,1	12,8	8,9	6,8	0	15,7	26,2	4,1	12,2	7,7	14,3	4,6	7,4	2,3
<b>SD</b>	0,8	0,5	0,8	1,1	0,7	0,0	4,2	12,1	0,3	0,1	0,9	3,9	1,2	2,0	0,2
<b>Rozptyl</b>	0,6	0,3	0,6	1,1	0,5	0,0	17,8	146,0	0,1	0,0	0,8	15,0	1,4	4,2	0,0

Tab. 10 Základní statistické údaje - minimální (MIN) a maximální (MAX) hodnota, směrodatná odchylka (SD) a rozptyl koncentrace DEHP v nepotištěných částech obalových materiálů pro masné výrobky v  $\mu\text{g.dm}^{-2}$  plochy vzorku (pokračování)

Základní popisné charakteristiky DBP bez potisku ( $\mu\text{g.dm}^{-2}$ )															
č. vzorku	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
MIN	1,7	0,7	8,3	4,9	3,5	12,6	12,3	51,4	18,2	2,2	55,4	39,6	4,3	22,7	45,3
MAX	2,2	2,3	12,3	5,3	7,6	14,7	33,1	56,8	25,9	3,5	65,2	45,2	5,3	25,4	50,5
SD	0,3	0,8	2,0	0,2	2,1	1,1	10,4	2,7	3,9	0,7	4,9	2,8	0,5	1,3	2,6
Rozptyl	0,1	0,6	4,0	0,0	4,3	1,1	108,8	7,2	14,9	0,5	24,2	7,9	0,2	1,7	6,9

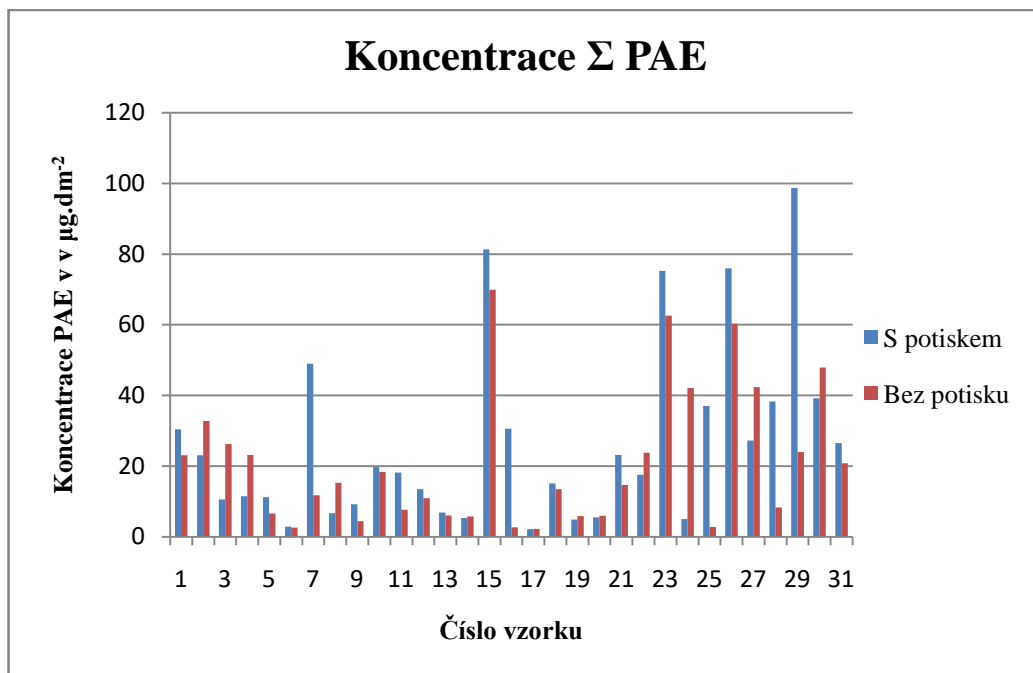
### 5.3 Obsah PAE v potištěných a nepotištěných částech obalů

Koncentrace  $\Sigma$  PAE (DBP + DEHP) se v obalových materiálech s potiskem pohybovala v rozmezí od nedetekovatelných hodnot ( $< 0,1 \mu\text{g.dm}^{-2}$ ) do  $98,7 \mu\text{g.dm}^{-2}$  povrchu vzorku, respektive od nedetekovatelných hodnot ( $< 0,1 \text{mg.kg}^{-1}$ ) do  $109,7 \text{mg.kg}^{-1}$  původního vzorku. Nejvyšší koncentrace byly naměřeny ve vzorku č. 29. U obalových materiálů bez potisku se naměřené koncentrace  $\Sigma$  PAE (DBP + DEHP) pohybovaly od nedetekovatelných hodnot ( $< 0,1 \mu\text{g.dm}^{-2}$ ) do  $69,9 \mu\text{g.dm}^{-2}$  povrchu vzorku, respektive od nedetekovatelných hodnot ( $< 0,1 \text{mg.kg}^{-1}$ ) do  $126,5 \text{mg.kg}^{-1}$  původního vzorku. Nejvyšší koncentrace byly zjištěny u vzorku č. 15. U vzorků č. 2, č. 3, č. 4, č. 8, č. 19, č. 24, č. 27 a č. 30 byly zjištěny vyšší koncentrace u obalů nepotištěných, což mohlo být způsobeno použitím jiného typu potiskových barev, které obsahovaly menší množství ftalátů (Obr. 11 a Tab. 11).

Tab. 11 Koncentrace  $\Sigma$  PAE (DBP+DEHP) v potištěných a nepotištěných částech obalových materiálů pro masné výrobky v  $\mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$  plochy vzorku a  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  původního vzorku; ND (nedetekováno) < 0,1  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$

$\Sigma$ PAE ( $\mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$ )			$\Sigma$ PAE ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )		
č. vzorku	s potiskem	bez potisku	č. vzorku	s potiskem	bez potisku
1	30,4	23,1	1	56,1	42,6
2	23,1	32,8	2	40,4	60,6
3	10,6	26,3	3	19,4	48,3
4	11,5	23,2	4	20,0	43,5
5	11,2	6,6	5	10,2	9,2
6	2,9	2,6	6	4,0	1,9
7	49	11,8	7	54,5	10,6
8	6,7	15,3	8	14,4	6,2
9	9,2	4,4	9	10,7	5,2
10	19,7	18,4	10	28,5	26,7
11	18,2	7,7	11	33,6	14,6
12	13,5	11	12	24,4	19,8
13	6,9	6,1	13	13,0	11,5
14	5,3	5,8	14	6,6	7,3
15	81,3	69,9	15	139,9	126,5
16	30,6	2,7	16	58,0	5,3
17	2,2	2,3	17	4,3	4,5
18	15,1	13,5	18	27,7	25,6
19	4,9	5,9	19	8,9	11,3
20	5,5	6	20	5,6	6,6
21	23,2	14,7	21	27,9	19,1
22	17,6	23,8	22	27,8	20,1
23	75,3	62,6	23	139,0	115,5
24	5,1	42,1	24	8,9	77,6
25	37	2,8	25	67,7	5,2
26	76	60,3	26	131,5	113,3
27	27,3	42,4	27	24,7	37,3
28	38,3	8,3	28	51,6	11,1
29	98,7	24	29	109,7	26,5
30	39,2	47,9	30	84,3	98,6





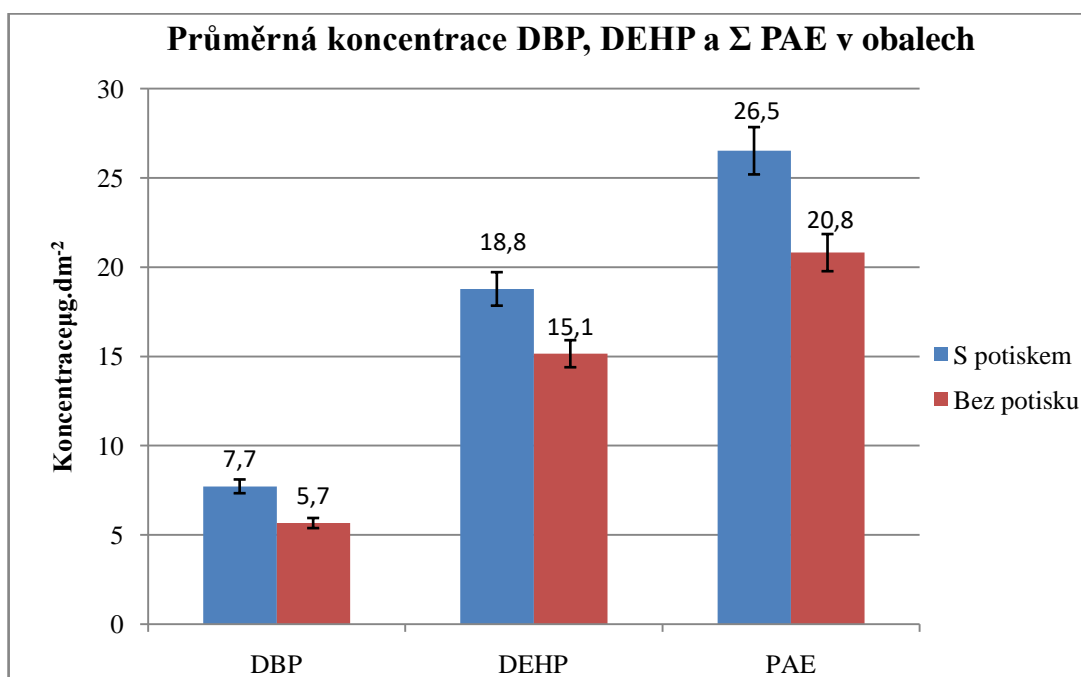
Obr. 11 Koncentrace  $\Sigma$  PAE (DBP+DEHP) v částech obalových materiálů pro masné výrobky s potiskem a bez potisku v  $\mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$

#### 5.4 Průměrný obsah DBP, DEHP a sumy PAE v obalech

Z Obr. 12 plyne, že průměrná koncentrace DEBP u všech analyzovaných obalových materiálů s potiskem byla  $7,7 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$ , zatímco u nepotištěných byla zjištěna koncentrace  $5,7 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$ . V případě DEHP byly u obalových materiálů s potiskem naměřeny koncentrace  $18,8 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$  a  $15,1 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$  v nepotištěných částech. Průměrný obsah sumy PAE (DBP + DEHP) byl v potištěných částech obalu  $26,5 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$  a v nepotištěných částech  $20,8 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$ . U všech typů měřených ftalátů byly zjištěny vyšší průměrné koncentrace v potištěných částech obalů.

Na základě statistického zpracování dat bylo zjištěno, že mezi obsahem DBP v potištěných a nepotištěných částech obalových materiálů, není statisticky významný rozdíl. Zjištěná p-hodnota byla 0,2312, což je větší než 0,05. Rovněž mezi obsahem DEHP v obalových materiálech s potiskem a bez potisku nebyl pozorován statisticky významný rozdíl. Zjištěná p-hodnota byla 0,6329, což je větší než 0,05. Statisticky významný rozdíl nebyl zjištěn ani u obsahu  $\Sigma$  PAE (DBP+DEHP) v potištěných a nepotištěných částech obalových materiálů. Zjištěná p-hodnota byla 0,1526, což je větší než 0,05.

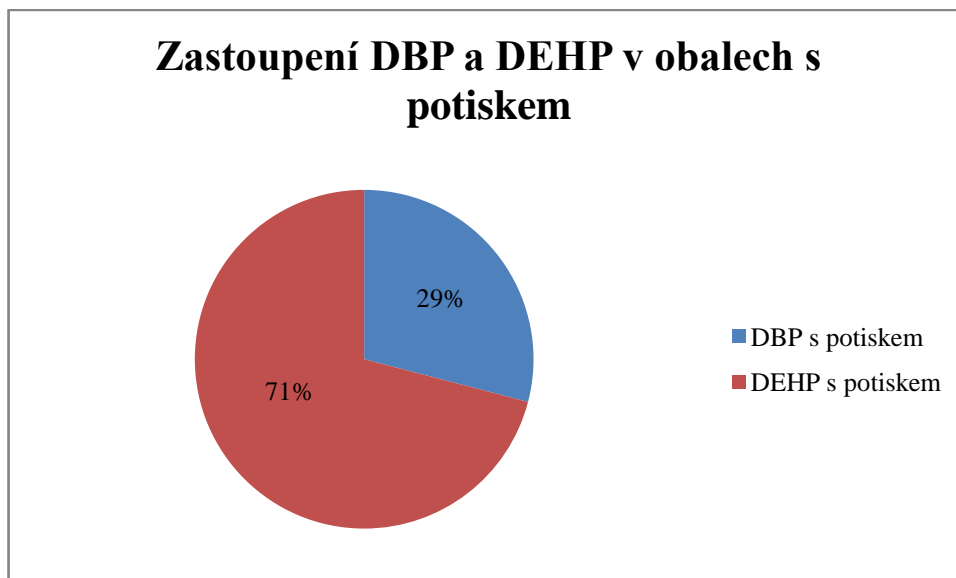
Z grafu (Obr. 12) je patrné, že vyšší koncentrace ftalátů byly, ve všech případech (DBP, DEHP a  $\Sigma$  PAE), naměřeny u obalových materiálů s potiskem. Statistická analýza však vyvrátila, že by barvy určené k potisku námi analyzovaných obalových materiálů pro masné výrobky statisticky významně přispívaly ke zvyšování koncentrace ftalátů v obalech. U všech testovaných proměnných (DBP, DEHP a sumy PAE) byly statistickým zpracováním zjištěny p-hodnoty vyšší než hladina významnosti  $\alpha$  ( $> 0,05$ ).



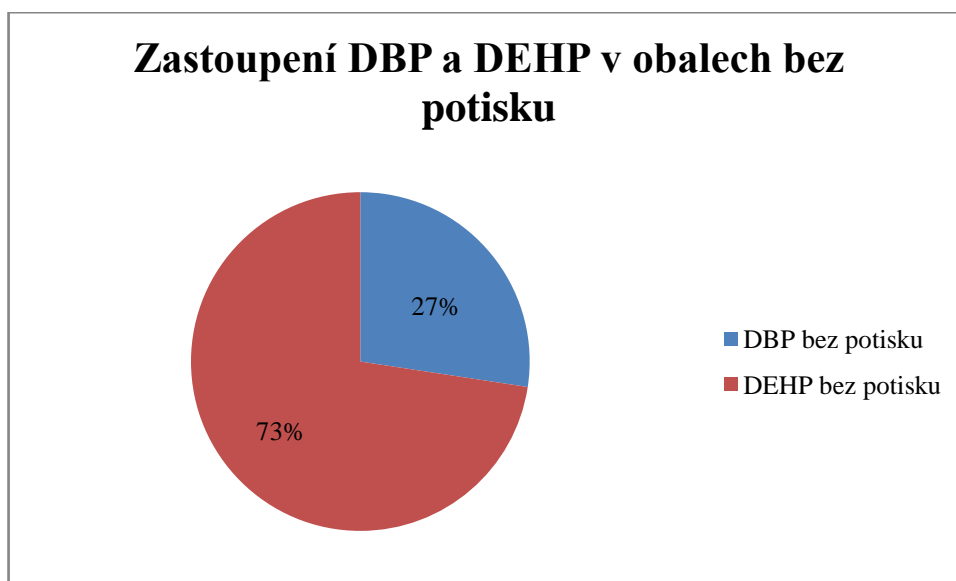
Obr. 12 Koncentrace DBP, DEHP a  $\Sigma$  PAE (DBP+DEHP) v částech obalových materiálů pro masné výrobky s potiskem a bez potisku v  $\mu\text{g.dm}^{-2}$

Při porovnání koncentrace DBP a DEHP v obalových materiálech pro masné výrobky s potiskem byly zjištěny vyšší koncentrace v případě DEHP, který zaujímal téměř třetinu (71 %) z celkového množství zastoupených ftalátů (Obr. 13).

Totéž bylo zjištěno u nepotištěných obalů pro masné výrobky, kdy hlavním zastoupeným ftalátem byl rovněž DEHP, jehož množství bylo téměř třikrát větší (73 %) než množství DBP, který zaujímal pouhých 27 % (Obr. 14).



Obr. 13 Zastoupení DBP a DEHP v obalových materiálech pro masné výrobky s potiskem vyjádřené v % z celkového množství ftalátů



Obr. 14 Zastoupení DBP a DEHP v obalových materiálech pro masné výrobky bez potisku vyjádřené v % z celkového množství ftalátů

Na sledování obsahu ftalátů v obalových materiálech s potiskem a bez potisku byla zaměřena celá řada studií, které dokazují, že tiskařské barvy používané pro potisk obalů výrazně přispívají ke zvyšování koncentrace ftalátů v nich.

Například studie zaměřená na analýzu 13 potištěných papírových obalů, kdy bylo zjištěno, že obsah ftalátů je v potištěných obalech vyšší, než v obalech bez potisku. Naměřené koncentrace DBP se pohybovaly v rozmezí od nedetekovatelných hodnot ( $<0,1 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) do  $69,44 \text{ mg.kg}^{-1}$ . V případě DEHP byly zjištěné koncentrace poměrně nízké, s výjimkou 3 vzorků, kdy hodnoty dosahovaly koncentrace až  $2986,32 \text{ mg.kg}^{-1}$ . Pro ujištění, že potisk obalu značně přispívá ke zvyšování koncentrace ftalátů, byla provedena analýza barev, které byly pro potisk použity, a bylo prokázáno, že tyto barvy jsou významným zdrojem ftalátů (Xue et al., 2010).

Rovněž studie provedená na Tchajwanu, kdy bylo analýze podrobena 99 obalů, které byly v přímém styku s potravinou, potvrzuje, že téměř polovina analyzovaných vzorků přesahovaly stanovené limity migrace z plastových hmot do potravin. Většina těchto vzorků byla potištěna (Kao, 2012).

Při testování potištěného obalového materiálu určeného pro balení potravin, byly detekovány koncentrace DBP v rozmezí  $0,14$  až  $55 \text{ mg.kg}^{-1}$ . Bylo potvrzeno, že migrace ftalátů je vyšší u potištěného obalu, než u obalu bez potisku (Zhang et al., 2009).

Další studie zaměřená na analýzu migrace z potištěných obalů do potravin, kdy byly testovány brambůrky a čokoládové cukrovinky skladované při teplotě  $20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , prokázala, že migrace je v důsledku použití potiskových barev značně zvyšována. V případě DBP se zvýšení dosahovalo hodnot až  $6,7 \text{ mg.kg}^{-1}$ . Celkové naměřené koncentrace v potištěných obalových materiálech se pro DBP pohybovaly v rozmezí od  $0,02 \text{ mg.kg}^{-1}$  a pro DEHP od nedetekovatelných hodnot ( $<0,01 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) do  $1,8 \text{ mg.kg}^{-1}$  (Castle et al., 1989).

Při testování obalů zakoupených ve Washingtonu DC určených pro balení sýrů, s cílem zjistit, zda existuje statisticky významný rozdíl mezi koncentrací ftalátů u obalů s potiskem a bez potisku. V případě DBP se koncentrace v potištěných materiálech pohybovaly v rozmezí od  $5,8$  do  $9,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ . U DEHP byly naměřené koncentrace v potištěných částech obalů 2 až 4 vyšší, než v částech bez potisku, což potvrzuje, že potiskové barvy jsou statisticky významným zdrojem ftalátů (McNeal et al., 1999).

Studie zaměřená na analýzu 8 ftalátů – di-ethyl ftalát (DEP), di-propyl ftalát (DPP), di-isobutyl ftalát (DIBP), di-butyl ftalát (DBP), benzylbutyl ftalát (BBP), di-cyclohexyl ftalát (DCHP), di-2-ethylhexyl ftalát (DEHP), di-octyl ftalát (DOP) analyzovala 25 druhů plastových obalů, zahrnující plastové sáčky, plastové obaly, boxy určené pro ohřev v mikrovlnných troubách, plastové lžice, kelímky a tácky prokázala,

že pouze v jednom vzorku z 25 nebyl obsah zjištěn ftalátů, u zbylých 24 byly zjištěny minimálně tři druhy ftalátů. Nejvíce zastoupeným ftalátem byl DEHP. U obalových materiálů byla zjištěna průměrná hodnota 27,58 mg.kg<sup>-1</sup> pro DEHP, 2,40 mg.kg<sup>-1</sup> pro DiBP a 1,88 mg.kg<sup>-1</sup> pro DBP (Shen, 2005).

Podle studie provedené v Austrálii, kdy byly analyzovány obalové materiály určené pro styk s potravinami, bylo prokázáno, že potiskové barvy jsou hlavním zdrojem zvýšené koncentrace ftalátů v obalech. V této studii naměřené hodnoty dosahovaly velice vysokých hodnot, a to až 7058 mg.kg<sup>-1</sup> v případě DEHP a až 4750 mg.kg<sup>-1</sup> v případě DBP (Balafas et al., 1999).

Analýza zaměřená na migraci změkčovadel z potiskových barev potvrdila, že obsah ftalátů v potravinách je značně ovlivňován koncentrací změkčovadel v obalových materiálech – čím vyšší byly koncentrace ftalátů v potištěných obalech, tím vyšší byl jejich obsah i v potravinách. V obalech pro čokoládové tyčinky byly naměřeny koncentrace v rozmezí od 0 do 98 mg.dm<sup>-2</sup> pro DBP a pro DEHP od 0 do 66 mg.dm<sup>-2</sup>. V samotné potravíně byly naměřeny koncentrace DBP od 0 do 81 mg.kg<sup>-1</sup> a v případě DEHP od 0 do 38 mg.dm<sup>-1</sup> (Nerín et al., 1993).

Při testování obalů z potravin v malospotřebitelském balení, byly vybrány jednotlivé komodity (oplatky, cukrovinky, masné a mléčné výrobky, brambůrky), které jsou ve značné míře konzumovány dětmi. Tyto potraviny byly baleny do různých typů potištěných obalů (plastové na bázi propylenu, polyvinylchloridu, polyamidu, hliníková fólie a papírový obal). Ve všech testovaných vzorcích obalů byl prokázán DBP a DEHP, a to v množství jednotek až tisíců mg v kg obalu. Bylo zjištěno, že obaly s potiskem obsahují více ftalátů než obaly bez potisku. Obecně byly naměřeny vyšší koncentrace DEHP (u potištěných obalů 0,1 – 4259 mg.kg<sup>-1</sup> obalu; bez potisku 0,1 – 1881 mg.kg<sup>-1</sup> obalu) než DBP (s potiskem 0,1 – 1298 mg.kg<sup>-1</sup> obalu; bez potisku 0,1 – 686 mg.kg<sup>-1</sup> obalu). Zjištěné koncentrace ftalátů v obalech ještě nemusí znamenat, že tyto obaly jsou nevhodné pro balení potravin. U řady druhů obalů jsou bariérové vrstvy, které migraci zabraňují (Jarošová, 2010b).

Při použití obalů určených pro vařené masné výrobky se obsah ftalátů v průběhu skladování zvyšuje. Větší nárůst byl zaznamenán u DEHP ve srovnání s DBP. U všech analyzovaných vzorků byly překročeny hodnoty povolených specifických migračních limitů, pro DBP byly stanoveny koncentrace 0,2 – 11,1 mg.kg<sup>-1</sup> a pro DEHP 0,58 – 28,20 mg.kg<sup>-1</sup> (Bogdanovičová et al., 2014).

## 6 ZÁVĚR

Cílem práce bylo stanovení koncentrace dibutyl ftalátu, di-2-ethylhexyl ftalátu a sumy PAE (DBP + DEHP) v potištěných a nepotištěných obalech masných výrobků a zjistit, zda část obalového materiálu s potiskem obsahuje vyšší koncentrace esterů kyseliny ftalové vzhledem k jejich používání při výrobě potiskových barev.

Pro analýzu bylo použito 30 plastových obalů pro masné výrobky získaných od německé firmy. Z každého obalu byl odebrán vzorek s potiskem ( $1 \text{ dm}^2$ ) a bez potisku ( $1 \text{ dm}^2$ ), tudíž bylo analyzováno 60 vzorků. Analýza probíhala pro každý vzorek duplicitně (120 analýz). Koncentrace DBP a DEHP v těchto vzorcích byly stanoveny pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) s UV detekcí při vlnové délce 224 nm. Před vlastním stanovením ftalátů pomocí HPLC byly vzorky louhovány směsí rozpouštědel n-hexan:dichromethan v poměru 1:1 po dobu 72 hodin a následně třikrát extrahovány (60, 30 a 30 minut) pomocí směsi n-hexan:dichlormethan. Získané extrakty byly přefiltrovány a odpařeny na rotační vakuové odparce a následně dosušeny dusíkem do sucha. V případě, že byl získaný extrakt zcela čirý, mohlo se po přidavku acetonitrilu rovnou provést přímé stanovení. V případě, že vzorek čirý nebyl, muselo být provedeno odstředění pomocí centrifugy a přečištění pomocí koncentrované kyseliny sírové a až poté následovalo přímé stanovení ftalátů pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie. Analýza probíhala na Ústavu technologie potravin Mendelovy univerzity v Brně. Výsledky jsou vyjádřeny v  $\mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$  povrchu vzorku a v  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  původního vzorku.

Koncentrace DBP v potištěných obalech se pohybovala v rozmezí od nedetekovatelných hodnot ( $< 0,1 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$ ) do  $72,6 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$  povrchu vzorku. V případě obalů bez potisku se naměřené koncentrace DBP pohybovaly od nedetekovatelných hodnot ( $< 0,1 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$ ) do  $67,7 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$  povrchu vzorku.

Hodnoty koncentrací DEHP se u obalů s potiskem pohybovaly v rozmezí od nedetekovatelných hodnot ( $< 0,1 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$ ) do  $98,7 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$  povrchu vzorku. U obalových materiálů bez potisku byly naměřeny koncentrace v rozmezí od nedetekovatelných hodnot ( $< 0,1 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$ ) do  $60,3 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$  povrchu vzorku.

Koncentrace  $\Sigma$  PAE (DBP + DEHP) se v obalových materiálech s potiskem pohybovaly v rozmezí od nedetekovatelných hodnot ( $< 0,1 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$ ) do  $98,7 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$

povrchu vzorku. U obalových materiálů bez potisku se naměřené koncentrace pohybovaly od nedetekovatelných hodnot ( $< 0,1 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$ ) do  $69,9 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$  povrchu vzorku.

Průměrná koncentrace DBP u obalových materiálů s potiskem byla  $7,7 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$  povrchu vzorku, zatímco u nepotištěných byla zjištěna koncentrace  $5,7 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$  povrchu vzorku. V případě DEHP byla u obalových materiálů s potiskem průměrná koncentrace  $18,8 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$  povrchu vzorku a  $15,1 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$  povrchu vzorku v nepotištěných částech. Průměrný obsah sumy PAE (DBP + DEHP) byl v potištěných částech obalu  $26,5 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$  povrchu vzorku a v nepotištěných  $20,8 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$  povrchu vzorku.

Vyšší koncentrace ftalátů byly, ve všech případech (DBP, DEHP,  $\Sigma$  PAE), naměřeny u obalových materiálů s potiskem. Statistická analýza však vyvrátila, že by barvy určené k potisku námi analyzovaných obalových materiálů pro masné výrobky statisticky významně přispívaly ke zvyšování koncentrace ftalátů v obalech. U všech testovaných proměnných (DBP, DEHP a sumy PAE) byly statistickým zpracováním zjištěny p-hodnoty vyšší než hladina významnosti  $\alpha$  ( $> 0,05$ ).

K zabránění migrace ftalátů z obalových materiálů do potravin by bylo vhodné omezit používání látek při výrobě plastových obalů určených pro styk s potravinami, které jsou významným zdrojem ftalátů. Vhodným řešením by byla jejich náhrada některými alternativními změkčovadly, které nevykazují toxické účinky. Dalším způsobem snížení migrace PAE z obalových materiálů do potravin je použití bariérových vrstev u obalů, které zajistí, že přechod těchto látek bude minimální nebo dokonce žádný.

Výstupy a výsledky (publikace, DP, Ph.D., projektu apod.) byly zpracovány na přístrojovém vybavení financovaném z projektu OP VaVpI CZ.1.05/4.1.00/04.0135 Výukové a výzkumné kapacity pro biotechnologické obory a rozšíření infrastruktury.

Diplomová práce byla řešena za podpory Interní grantové agentury (IGA) AF IP 32/2015 a problematika diplomové práce je součástí disertační práce Bogdanovičová (2016).

## 7 PŘEHLED POUŽITÉ LITERATURY

ABDUL-GHANI, S., J. YANAI, R. ABDUL-GHANI, A. PINKAS a Z. ABDEEN. The teratogenicity and behavioral teratogenicity of di(2-ethylhexyl) Phthalate (DEHP) and di-butyl Phthalate (DBP in a chick model. *Neurotoxicology and teratology*. 2011, **34**, 56-62.

BALAFAS D., J. SHAW a B. WHITFIELD. Phthalate and adipate esters in Australian packaging materials. *Food Chemistry*. 1999, **65**, 279-287.

BOGDANOVIČOVÁ S. *Ftaláty v masných výrobcích v závislosti na době skladování a použitém obalu*. Brno, 2016. Disertační práce. Mendelova univerzita v Brně. Vedoucí práce prof. Ing. Alžbeta Jarošová, PhD.

BOGDANOVIČOVÁ S. a A. JAROŠOVÁ. Phthalate migration from packaging materials into food. *Innovation of studies programmes at Mendel's university for integration between Faculty of Agronomy and Faculty of Horticulture*, 2014.

CASTLE L., A. MAYO a J GILBERT. Migration of plasticizers from printing inks into fous. *Food Addit Contam*. 1989, **6**, 437-443.

DU, L., L. MA, Y. QIAO, Y. LU a D. XIAO. Determination of phthalate esters in teas and tea infusions by gas chromatography–mass spectrometry. *Food Chemistry*. 2016, **197**, 1200-1206.

EJAREDAR, M., E. NYANZA, K. EYCKE a D. DEWEY. Phthalate exposure and childrens neurodevelopment: Asystematic review. *Environmental Research*. 2015, **142**, 51-60.

ELIÁŠ J. *Plynově-chromatografická separace dusíkatých látek*. Praha, 2007. Semestrální projekt. Vysoká škola chemicko-technologická. Školitel prof. Ing. Petr Buryan, DrSc.

FASANO, E., F. BONO-BLAY, T. CIRILLO, P. MONTUORI a S. LACORTE. Migration of phthalates, alkylphenols, bisphenol A and di(2-ethylhexyl)adipate from food packaging. *Food Control*. 2012, **27**, 132-138.



FREDERIKSEN, H., SKAKKEBÆK, N. a M. ANDERSSON. Metabolism of phthalates in humans. *Molecular Nutrition Food Research*. 2007, **51**, 899-991.

FROMME, H., L. GRUBER, E. SECKIN, U. RAAB, S. ZIMMERMANN, M. KIRANOGLU, M. SCHLUMMER, U. SCHWEGLER, S. SMOLIC a W. VÖLKEL. Phthalates and their metabolites in breast milk — Results from the Bavarian Monitoring of Breast Milk (BAMBI). *Environment International*. 2011, **37**, 715-722.

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

GASCON, M., M. CASAS, E. MORALES, D. VALVI, A. BALLESTEROS-GOMEZ, N. LUQUE, S. RUBIO, N. MONFORT, R. VENTURA, D. MARTINEZ, J. SUNYER a M. VRIJHEID. Prenatal exposure to bisphenol A and phthalates and childhood respiratory tract infections and allergy. *Research in Environmental Epidemiology*. 2014, **135**, 370-378.

GIULIVO, M., M. DE ALDA, E. CAPRI a D. BARCELÓ. Human exposure to endocrine disrupting compounds: Ther role in reproductive systems, metabolit syndrome and brest cancer. A review. *Environmental Research*, 2016, **151**, 251-264.

HEUDORF U., V. MERSCH-SUNDERMANN a J. ANGERER. Phthalates: Toxicology and exposure. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 2007, **210**, 623-634.

HOLAHAN, M. a SMITH C. Phthalates and neurotoxic effects on hippocampal network plasticity. *NeuroToxicology*. 2015, **48**, 21-34.

HOSAKA, A., WATANABE, A., WATANABE, CH., TERAMAE, N. a H. OHTANI. Polymer-coated sample cup for quantitative analysis of semi-volatilephthalates in polymeric materials by thermal desorption-gaschromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 2015, **1391**, 88-92.

HÖGBERG, J., A. HANBERG, M. BERGLUND, S. SKERFVING, M. REMBERGER, A. FILIPSSON, B. JANSSON, N. JOHANSSON, M. APPELGREN a H.

HAKANSSON. Phthalate Diesters and Their Metabolites in Human Breast Milk, Blood or Serum, and Urine as Biomarkers of Exposure in Vulnerable Populations. *Environ Health Perspect.* 2008, **116**, 334-339.

HRUŠÁKOVÁ J. *Ftaláty v kravském mléce*. Brno, 2014. Diplomová práce. Mendelova univerzita v Brně. Vedoucí práce prof. Ing. Alžbeta Jarošová, Ph.D.

CHIELLINI, F., M. FERRI, M., MORELLI, A., DIPAOLA, L. a G. LATINI. Perspectives on alternatives to phthalate plasticized poly(vinyl chloride) in medical devices applications. *Progress in Polymer Science.* 2013, **38**, 1067-1088.

JAROŠOVÁ, A. Phthalic acid esters (PAEs) in the food Chain. *Czech Journal of Food Sciences*, 2006, **24**, 223-31.

JAROŠOVÁ, A. Evaluation of phthalate presence (1992–2009) in packaging and plastic materials, medical materials and patients' blood, in feedstuffs and foodstuffs and in tissues of slaughtered animals and fish. *Acta universitatis agriculturae et silviculturae mendeliana brunensis*, 2010, **58**, 263-268.

JAROŠOVÁ, A. Zhodnocení výskytu ftalátů (1992-2009) v obalových materiálech a krvi pacientů, v krmivech a potravinách a ve tkáních jatečných zvířat a ryb. *Acta universitatis agriculturae et silviculture mendeliana brunensis*, 2010b, **58**, 263-268.

JAROŠOVÁ, A., V. STANCOVÁ, J. HARAZIM a P. SUCHÝ. Migrace ftalátů z plastové nádrže do rostlinných olejů jako součástí krmných směsí používaných k výkrmu kuřecích brojlerů. *Potravinářstvo*. 2010, **4**, 35-38.

JOHNS, L., G. COOPER, A. GALIZIA a J. MEEKER. Exposure assessment issues in epidemiology studies of phthalates. *Environment International*. 2015, **85**, 27-39.

KAO, Y. A Review on Safety Inspection and Research of Plastic Food Packaging Materials in Taiwan. *Journal of Food and Drug Analysis*. 2012, **20**, 734-743.

KIM, J., Y. KIM, H. MOON, A. HOSAKA, CH. WATANABE, N. TERAMAE, E. CHOE a S. MYUNG. Comparative study of thermal desorption and solvent extraction-gas chromatography–mass spectrometric analysis for the quantification of phthalates in polymers. *Journal of Chromatography A*. 2016, **1451**, 33-40.

- KLOUDA P. *Moderní analytické metody*. Ostrava: 2003, 132 s. ISBN 80-86369-07-2.
- KOMPRDA T. *Hygiena potravin – cvičení*. Brno: 2003, 50 s. ISBN 80-7157-709-1.
- KRÁTKÁ L., A. JAROŠOVÁ a V. STANCOVÁ. Kontaminace krmiv estery kyseliny ftalové. *Department of Food Technology*, 2005.
- LATINI, G. Monitoring phthalate exposure in humans. *Clinica Chimica Acta*. 2008, **361**, 20-29.
- LIN, S., H. KU, P. SU, J. CHEN, P. HUANG, J. ANGERER a S. WANG. Phthalate exposure in pregnant women and their children in central Taiwan. *Chemosphere*. 2011, **82**, 947-955.
- LIN, J., W. CHEN, H. ZHU a Ch. WANG. Determination of free and total phthalates in commercial whole milk products in different packaging materials by gas chromatography-mass spectrometry. *American Dairy Science Association*. 2015, **98**, 8278-8284.
- LOPÉZ-CARRILLO, L., R. HERNÁNDEZ-RAMÍREZ, A. CALAFAT, L. TORRES-SÁNCHEZ, M. GALVÁN-PORTILLO, L. NEEDHAM., R. RUIZ-RAMOS a M. CEBRIÁN. Exposure o phthalates and breast cancer risk in nothern Mexico. *Environ Health Perspect*. 2010, **118**. 539-544.
- MAIN, K., G. MORTENSEN, M. KALEVA, K. BOISEN, I. DAMGAARD M. CHELLAKOOTY, I. SCHMIDT, A. SUOMI, H. VIRTANEN, J. PETERSEN, A. ANDERSSON, J. TOPPARI, a N.SKAKKEBÆK. Human Breast Milk Contamination with Phthalates and Alterations of Endogenous Reproductive Hormones in Infants Three Months of Age. *Children's Health*. 2006, **114**, 270-277.
- MARIANA, M., J. FEITEIRO, I. VERDE a E. CAIRRAO. The effects of phthalates in the cardiovascular and reproductive systems: A review. *Environemnt International*. 2016, **94**, 758-776.
- MARIE, C., F. VENDITTELLI a M. SAUVANT-ROCHAT. Obstetrical outcomes and biomarkers to assess exposure to phthalates: A review. *Environment International*. 2015, **83**, 116-136.

McNEAL T., J. BILES, T. BEGLEY, J. CRAUN, M. HOPPER a CH. SACK. Determination of Suspected Endocrine Disruptors in Foods and Food Packaging. *Food and Drug Administration*. 1999, **747**, 33-52.

MUSCOGIURI, G. a A. COLAO. Phthalates: new cardiovascular health disruptors?. *Archives of Toxicology*. 2016, DOI: 10.1007/s00204-016-1780-1.

Nařízení Evropského Parlamentu a Rady (ES) č. 882/2004 ze dne 29. dubna 2004 o úředních kontrolách za účelem ověření dodržování právních předpisů týkajících se krmiv a potravin a pravidel o zdraví zvířat a dobrých životních podmínkách zvířat.

Nařízení Komise (ES č. 10/2011 ze dne 14. ledna 2011 o materiálech a předmětech z plastů určených pro styk s potravinami.

Nařízení vlády č. 245/2009 Sb. ze dne 13. července 2009, kterým se mění nařízení vlády č. 336/2004 Sb., kterým se stanoví technické požadavky na zdravotnické prostředky a kterým se mění nařízení vlády č. 251/2003 Sb., kterým se mění některá nařízení vlády vydaná k provedení zákona č. 22/1997 Sb., o technických požadavcích na výrobky a o změně a doplnění některých zákonů, ve znění pozdějších předpisů, ve znění nařízení vlády č. 212/2007 Sb.

NERÍN, C., CACHO, J. a P. GANCEDO. Plasticizers from printing inks in a selection of food packagings and their migration to food. *Food Additives and Contaminants*. 1993, **10**, 453-460.

ORECCHIO, S., INDELICATO, R. a S. BARRECA. Determination of selected phthalates by gas chromatography–mass spectrometry in mural paintings from Palermo (Italy). *Microchemical Journal*. 2014, **114**, 187-191.

PETERSEN J. Migration of Compounds from Food Contact Materials and Articles. In: D'MELLO J. *Food Safety Contaminants and Toxins*. Edinburgh: 2002, 451 s., ISBN: 0851996078.

PICONE, S. a P. PAOLILLO. Chemical contaminants in breast milk. *Early Human Development*. 2012, **89**, 117-118.

SATHYANARAYANA, S. Phthalates and Children's Health. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care*. 2008, **38**, 34-49.

SHEN H. Simultaneous screening and determinativ eight phthalates in plastic products for food use by sonication-assisted extracion/GC-MS methods. *Talanta*. 2005, **66**, 734-739.

SINGH S. a S. LI, Phthalates: Toxicogenomics and inferred human diseases. *Genomics*. 2011, **97**, 148-157.

Směrnice Komise 2002/72/ES ze dne 6. Srpna 2002, o materiálech a předmětech z plastů určených pro styk s potravinami.

SONG, N., J. ON, J. LEE, J. PARK, H. KWON, H. JUNG YOON a H. PYO. Biomonitoring of urinary di(2-ethylhexyl) phthalate metabolites of mother and child pairs in South Korea. *Environment International*. 2013, **54**, 65-73.

STARLING A., L. ENGEL, A. CALAFAT, S. KOUTROS, J. SATAGOPAN, G. YANG, CH. MATTHEWS, Q. CAI, J. BUCKLEY, B. JI, H. CAI, W. CHOW, W. ZHENG, Y. GAO, N. ROTHMAN, Y. XIANG a X. SHU. Predictors and long-term reproducibility of urinary phthalate metabolites in middle-aged men and women living in urban Shanghai. *Environment International*. 2015, **84**, 94-106.

SÝKOROVÁ, B., M. HANZL a J. TROUPOVÁ. Současné možnosti eliminace zdravotnického materiálu s obsahem ftalátů ve specializované péči o novorozence. *Prevence úrazů, otrav a násilí*, 2009, **5**, 58-60.

ŠUTA, M. Zdravotní rizika ftalátů v souvislosti se zdravotní péčí a možnosti jejich redukce. *Interní Medicína*, 2007, **9**, 288-91.

VELÍŠEK, J. a J. HAJŠLOVÁ. *Chemie potravin 2*. Rozšířené a přepracované 3. vydání Tábor: OSSIS, 2009, 644 s. ISBN 978-80-86659-16-6.

VENTRICE P., D. VENTRICE, E. RUSSOA, a G. SARROA. Phthalates: European regulation, chemistry, pharmacokinetic and related toxicity. *Environmental toxicology and pharmacology*, 2013, **36**, 88-96.

VIKELSØE, J., THOMSEN, M. a L. CARLSEN. Phthalates and nonylphenols in profiles of differently dressed soils. *Science of The Total Environment*, 2002, **296**, 105-116.

Vyhláška Ministerstva zdravotnictví č. 84/2001 ze dne 8. Února 2001 o hygienických požadavcích na hračky a výrobky pro děti ve věku do 3 let. Dostupné z: <http://www.zakonyprolidi.cz/cs/2001-84>.

Vyhláška č. 409/2005 ze dne 15. Listopadu 2005 o hygienických požadavcích na výrobky přicházející do přímého styku s vodou a na úpravu vody ve znění vyhlášky č. 352/2013 a č. 339/2015 Sb. Dostupné z: [http://eagri.cz/public/web/mze/legislativa/ostatni/Legislativa-ostatni\\_uplna-zneni\\_vyhlaska-2005-409.html](http://eagri.cz/public/web/mze/legislativa/ostatni/Legislativa-ostatni_uplna-zneni_vyhlaska-2005-409.html)

WANG X., M. SONG, M. GUO, CH. CHI, F. MO a X. SHEN. Pollution levels and characteristics of phthalate esters in indoor air in hospitals. *Journal Environmental Science*, 2015, **37**, 67-74.

WANG, Y., H. CHEN, CH. LONG, CH. TSAI, T. HSIEH, CH. HSU a E. TSAI. Possible mechanism of phthalates-induced tumorigenesis. *Journal of Medical Sciences*. 2012, **28**, 22-27.

XUE, M., S. WANG, CH. HUANG a N. XIA. The Analysis of Organic Contaminants in Printing Paper Food Packaging Materials. *Proceedings of the 17th IAPRI World Conference on Packaging*. 2010.

YANG J., Y. LI, Y. WANG, J. RUAN, J. ZHANG a CH. SUN. Recent advances in analysis of phthalate esters in food. *Trends in Analytical Chemistry*, 2015, **72**, 10-26.

ZENG F., K. CUI, Z. XIE, L. WU, D. LUO, L. CHEN, Y. LIN, M. LIU a G. SUN. Distribution of phthalate esters in urban soils of subtropical city, Guangzhou, China. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, **164**, 1171-1178.

ZHANG, S. a K. GUO. Migration amount of Di-2ethylhexyl phthalate from food-grade PVC film onto meat at free temperatures. *Transaction of the Chinese society of Agricultural Engineering*. 2009, **25**, 291-293.

ZHANG, Y., Y. CAO, H. SHI, X. JIANG, Y. ZHAO, X. FANG and CH. XIE. Could exposure to phthalates speed up or delay pubertal onset and development? A 1.5-year follow-up of a school-based population. *Environment International*. 2015, **83**, 41-49

## 8 SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1 Obecná struktura ftalátů, R a R'- alkylové nebo arylové skupiny (Yang et al., 2015)

Obr. 2 Chemická struktura 8 nejdůležitějších ftalátů (Frederiksen et al., 2007)

Obr. 3 Metabolismus ftalátů v organismu (Frederiksen et al., 2007)

Obr. 4 Schéma kapalinového chromatografu (Komprda, 2003)

Obr. 5 Schéma plynového chromatografu (Komprda, 2003)

Obr. 6 Chromatogram detekce ftalátů ve vzorku obalového materiálu

Obr. 7 Chromatogram detekce ftalátů ve vzorku obalového materiálu

Obr. 8 Chromatogram standardů DBP a DEHP

Obr. 9 Graf znázorňující naměřené koncentrace DBP v potištěných (SP) a nepotištěných (BP) částech obalových materiálů v  $\mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$

Obr. 10 Graf znázorňující naměřené koncentrace DEHP v potištěných (SP) a nepotištěných (BP) částech obalových materiálů v  $\mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$

Obr. 11 Graf znázorňující naměřené koncentrace PAE (DBP+DEHP) v potištěných (SP) a nepotištěných (BP) částech obalových materiálů v  $\mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$

Obr. 12 Graf znázorňující průměrné koncentrace DBP, DEHP a suma PAE (DBP+DEHP) v potištěných (SP) a nepotištěných (BP) částech obalových materiálů v  $\mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$

Obr. 13 Zastoupení DBP a DEHP v obalových materiálech pro masné výrobky s potiskem vyjádřené v % z celkového množství ftalátů

Obr. 14 Zastoupení DBP a DEHP v obalových materiálech pro masné výrobky bez potisku vyjádřené v % z celkového množství ftalátů



## 9 SEZNAM TABULEK

Tab. 1 Fyzikálně-chemické vlastnosti ftalátů (Velíšek et Hajšlová, 2009)

Tab. 2 Přehled využití hlavních ftalátů (Mariana et al., 2016)

Tab. 3 Nejpoužívanější ftaláty a jejich metabolity (Frederiksen et al., 2007)

Tab. 4 Eliminace DEHP ledvinou (Ventrice et al., 2013)

Tab. 5 Koncentrace DBP v potištěných a nepotištěných částech obalových materiálů pro masné výrobky v  $\mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$  plochy vzorku a  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  původního vzorku; ND (nedetekováno)  $< 0,1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$

Tab. 6 Minimální (MIN) a maximální (MAX) koncentrace DBP v potištěných částech obalových materiálů pro masné výrobky v  $\mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$  plochy vzorku

Tab. 7 Minimální (MIN) a maximální (MAX) koncentrace DBP v nepotištěných částech obalových materiálů pro masné výrobky v  $\mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$  plochy vzorku

Tab. 8 Koncentrace DEHP v potištěných a nepotištěných částech obalových materiálů pro masné výrobky v  $\mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$  plochy vzorku a  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  původního vzorku; ND (nedetekováno)  $< 0,1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$

Tab. 9 Minimální (MIN) a maximální (MAX) koncentrace DEHP v potištěných částech obalových materiálů pro masné výrobky v  $\mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$  plochy vzorku

Tab. 10 Minimální (MIN) a maximální (MAX) koncentrace DEHP v nepotištěných částech obalových materiálů pro masné výrobky v  $\mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$  plochy vzorku

Tab. 11 Koncentrace sumy PAE (DBP+DEHP) v potištěných a nepotištěných částech obalových materiálů pro masné výrobky v  $\mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-2}$  plochy vzorku a  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  původního vzorku; ND (nedetekováno)  $< 0,1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$

## 10 SEZNAM ZKRATEK

AhR – Aaryl hydrokarbon Receptor

BBP – benzylbutyl ftalát

DBP – dibutyl ftalát

DEHP – di-2-ethylhexyl ftalát

DEP – diethyl ftalát

DiBP – di-isobutyl ftalát

DiNP – di-isononyl ftalát

DiOP – di-isooctyl ftalát

DnOP – dioktyl ftalát

DNA – deoxyribonukleová kyselina

EFSA – European food safety authority

GC – gas chromatography (plynová chromatografie)

GC-MS – gas chromatography-mass spektrometry (plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií)

HPLC – high performance liquid chromatography (vysokoúčinná kapalinová chromatografie)

HPLC-MS – high performance liquid chromatography-mass spektrometry (vysokoúčinná kapalinová chromatografie s hmotnostní spektrometrií)

KKS – kompletními krmnými směsi

LD<sub>50</sub> – median lethal dose (letální dávka, která způsobí úhyn 50 % testované populace)

LOAL – lowest observed adverse effect level (nejnižší dávka, při které byl pozorován negativní účinek)

MBP – mono-butyl ftalát

MBzP – monobenzyl ftalát

MCMHP – mono(2-ethyl-5-carboxyhexyl) ftalát

MCiOP mono(karboxy-iso-octyl) ftalát

MECP – mono(2-ethyl-5-carboxypentyl) ftalát

MEHHP – mono(2-ethyl-5-hydroxyhexyl) ftalát

MEHP – mono(2-ethylhexyl) ftalát

MEOHP – mono(2-ethyl-5-oxohexyl) ftalát

MEP – mono-ethyl ftalát

MiBP – mono-iso-butyl ftalát

MiNP – mono-iso-nonyl falát

MK – mastné kyseliny

MMP – mono-methyl ftalát

PAE – phthalic acid esters (estery kyseliny ftalové)

PPAR – peroxisome proliferator-activated receptor (receptor peroxizomových proliferátorů)

PVC – polyvinylchlorid

REACH – Registrace, Evaluace a Autorizace Chemických látek

SML – specifický migrační limit

TDI – tolerable daily intake (tolerovaný denní příjem)

UGT – uridin 5'-difosfoglukuronyl transferáza

UV-VIS – ultrafialovo-viditelná spektroskopie