

Univerzita Pardubice

Fakulta chemicko-technologická

FTALÁTY V POTRAVINÁCH

Kateřina Hyčarová

Bakalářská práce

2021

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2020/2021

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Kateřina Hyčarová**
Osobní číslo: **C18369**
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Hodnocení a analýza potravin**
Téma práce: **Ftaláty v potravinách**
Zadávací katedra: **Katedra analytické chemie**

Zásady pro vypracování

1. Provedte literární rešerši zabývající se kontaminací potravin ftaláty. Věnujte se charakterizaci vybraných ftalátů, možnostmi kontaminace potravin těmito látkami a následně metodám jejich stanovení v potravinách.

Rozsah pracovní zprávy:
Rozsah grafických prací:
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího práce.

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Tomáš Bajer, Ph.D.**
Katedra analytické chemie

Datum zadání bakalářské práce: **5. února 2021**
Termín odevzdání bakalářské práce: **2. července 2021**

L.S.

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

prof. Ing. Karel Ventura, CSc.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 20. února 2021

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury. Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně.

V Pardubicích dne

Kateřina Hyčarová

PODĚKOVÁNÍ

Na tomto místě bych chtěla hlavně poděkovat panu Ing. Tomáši Bajerovi, Ph.D. a odborné vedení, trpělivost a ochotu, kterou mi v průběhu zpracování bakalářské práce věnoval. Dále také své rodině a přátelům, kteří pro mě byli nesmírnou oporou ať už během celého studia nebo při psaní této práce.

ANOTACE

Cílem této bakalářské práce bylo zjištění metod, které se využívají pro stanovování ftalátů v potravinách. Tato práce se také zabývá obecnými vlastnostmi ftalátů, jejich regulací v obalových materiálech a jejich vlivu na lidský organismus. Dále se zde pojednává o dvou studiích a analýzách, které se tímto problémem zabývaly. V rámci těchto analýz byly připojeny i jejich výsledky a následné shrnutí.

KLÍČOVÁ SLOVA

Ftaláty, potravinové obaly, kojenecká výživa, plynová chromatografie, DEHP

TITLE

Phthalates in food

ANNOTATION

The aim of this thesis was to identify methods that are used to determinate phthalates in food. This thesis also deals with the general properties of phthalates, their regulation in food packaging materials and their effects on human body. It also discusses two studies and analyzes that have addressed this issue. Within these analyzes, their results and summary were attached.

KEYWORDS

Phthalates, food packaging, infant food, gas chromatography, DEHP

OBSAH

1	Úvod.....	11
2	Ftaláty	12
2.1	Charakteristika	12
2.2	Vlastnosti.....	13
2.3	Nežádoucí účinky a vlastnosti na lidský organismus.....	14
2.4	Výskyt.....	15
2.5	Zástupci.....	16
2.5.1	Di-isononyl ftalát (DINP)	16
2.5.2	Di-butyl ftalát (DBP)	17
2.5.3	Butyl benzyl ftalát (BBP)	19
2.5.4	Di(2-ethylhexyl) ftalát (DEHP)	20
2.6	Expoziční cesty a metabolismus ftalátů	22
2.6.1	Metabolismus DEHP	23
2.7	Ftaláty v potravinách.....	24
3	Stanovení ftalátů	25
3.1	Úprava vzorku.....	25
3.1.1	Extrakce kapalinou	25
3.1.2	Soxhletova extrakce.....	26
3.1.3	Mikrovlnná extrakce (MAE)	29
3.1.4	Superkritická fluidní extrakce (SFE)	29
3.1.5	Extrakce tuhou fází (SPE).....	30
3.2	Metody stanovení	32
3.2.1	Plynová chromatografie (GC).....	33
3.2.2	Kapalinová chromatografie (LC).....	36
3.3	Migrační test.....	38

4	Studie obsahu ftalátů v potravinářských matricích.....	39
4.1	Potraviny s konzistentními zprávami o vysokých koncentracích ftalátů.....	40
4.1.1	Maso a masné produkty	40
4.1.2	Oleje a tuky	41
4.1.3	Mléčné výrobky: sýry, zmrzlina, smetana.....	42
4.2	Potraviny s konzistentními zprávami o nízkých koncentracích ftalátů.....	43
4.2.1	Mléčné výrobky: jogurt, mléko, vejce	43
4.2.2	Ovoce a zelenina	44
4.2.3	Nápoje a voda	45
4.3	Potraviny se zprávami o různých koncentracích ftalátů	46
4.3.1	Mořské plody	46
4.3.2	Hladiny DEHP v koření	47
4.4	Analýza vzorků z belgického trhu.....	48
4.4.1	Výsledky a jejich vyjadřování	48
4.5	Analýza a migrace ftalátů v kojeneckých potravinách balených v recyklovaných kartónech.....	50
4.5.1	Výsledky a zhodnocení	50
4.6	Potraviny z japonského trhu.....	53
4.6.1	Výsledky a zhodnocení	53
5	Závěr	55
6	Seznam použité literatury	57

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

ASE	zrychlená extrakce rozpouštědlem
BBP	butyl benzyl ftalát
DBP	dibutylftalát
DEHP	di(2-ethylhexyl) ftalát
DiBP	di-isobuthyl ftalát
DINP	di-isononyl ftalát
DI-SPME	Direct Immersing SPME
DnBP	di-n-butyl ftalát
DOP	di-n-octyl ftalát
ECD	detektor elektronového záchytu
FID	detekce založena na detekci kladných i záporných iontů
GC	plynová chromatografie
GC-EI-MS	plynová chromatografie spojené s hmotnostní spektrometrií s nízkým rozlišením
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie
HS-SPME	Headspace SPME
IARC	International Agency for Research on Cancer
LC	kapalinová chromatografie
LLE	extrakce kapalina-kapalina
LD50	letální dávka, která vede k úmrtí poloviny testovaných zvířat
LOAEL	nejnižší dávka nebo expoziční koncentrace látky, při které je ještě pozorován statisticky významný nepříznivý účinek na organismus
LOD	mez detekce
LOQ	mez stanovitelnost
MEHP	mono-ethylhexyl ftalát
MS	detekce hmotnostní spektrometrií
NOAEL	nejvyšší dávka nebo expoziční koncentrace látky, při které není pozorován žádný statisticky významný nepříznivý účinek na organismus
PVC	polyvinylchlorid

SFE	superkritická fluidní extrakce
SLE	extrakce pevná látka-kapalina
SPE	extrakce na pevné fázi
SPME	mikroextrakce tuhou fází
UV	ultrafialové záření
UV-VIS	spektroskopie v ultrafialovém a viditelném spektru

1 ÚVOD

Ftaláty díky svým vlastnostem mají široké spektrum využití v moderním průmyslu. S výrobky z měkčeného polyvinylchloridu (PVC) s obsahem ftalátů přicházíme stále častěji do styku, kromě jiného taky v potravinových obalech ať už primárních, nebo sekundárních jako jsou vnitřní povlaky kartónových obalů. Dalším uplatněním ftalátů jsou i například tiskařské inkousty, které se na těchto obalech mohou vyskytovat.

Jelikož se výrobky z měkčeného polyvinylchloridu využívají pro balení výživy pro kojence, kteří jsou přítomností ftalátů více ohrožováni díky tomu, že tělesná hmotnost kojenců je nízká. Dochází tedy u nich k přijímání vyšších dávek koncentrací ftalátů, než je tomu například u dospělého člověka. Může být tak více ohrožen vývoj jejich orgánů.

Jako hlavním změkčovadlem ve většině obalových materiálů z polyvinylchloridu se využívá di-(2ethylhexyl)ftalát. Tento ftalát byl klasifikován jako možný karcinogen pro lidský organismus a jeho tolerovaný denní příjem z potravin, do kterých se může dostat z potravinových obalů, bylo tak nutno regulovat pomocí nařízení a vyhlášek.

V této práci jsou popsány metody, které se využívají pro stanovení těchto látek v potravinách a jejich obalech. Dále jsou zde zahrnuty i metody extrakcí a studie, které se zabývaly obsahy ftalátů v jednotlivých druhých potravin od masa, přes ovoce a zeleninu až po koření. V těchto vzorcích se stanovovaly různé druhy ftalátů, nejčastěji to byl di-(2-ethylhexyl)ftalát, pomocí různých metod stanovení a různými způsoby extrakce. Jednotlivé druhy potravin jsou rozděleny do tří kategorií podle konzistence obsahu ftalátů napříč studii.

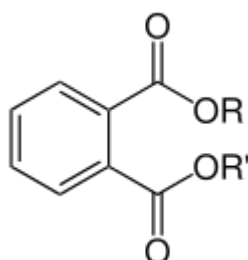
V další části se tato práce zabývá třemi analýzami, které pojednávají o stanovení těchto ftalátů v obalových materiálech. Jedním z nich jsou obalové materiály u širokého spektra potravin, které jsou volně dostupné na trhu. Druhá studie pojednávala o materiálech, do kterých se balí kojenecká výživa a nápoje. A třetí se zaměřila na potraviny a jejich obaly, které jsou dostupné na japonském trhu.

2 FTALÁTY

Ftaláty jsou nehalogenované estery kyseliny ftalové. Jedná se buďto o dialkyl – nebo alkyl/arylester kyseliny ftalové. Používají se jako změkčovadla polyvinylchloridových plastů, jelikož jim propůjčují pružnost, nebo jako přísady v mnoha chemických a farmaceutických výrobcích. Jsou přítomny v široké škále spotřebního zboží, včetně stavebních materiálů, oděvů, hraček, zdravotnických prostředků, kosmetiky, mazacích olejů, rozpouštědel a obalů potravin. [1]

2.1 Charakteristika

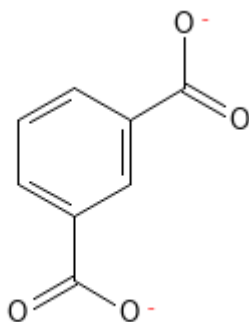
Ftaláty jsou skupinou chemických látek založených na stejné obecné struktuře. Jedná se o organické sloučeniny používané jako změkčovadla plastických hmot. Je to skupina masově syntetizovaných chemických látek se schopností kumulovat se v biologických tkáních. Uplatňují se především při výrobě polyvinylchloridu. Ftaláty se přidávají do materiálů kvůli vlastnostem, které poté výslednému produktu propůjčí. Jedná se o měkkost, pevnost, průhlednost, průsvitnost i odolnost. Skupina obsahuje asi 40 látek s různými chemickými i toxikologickými vlastnostmi.



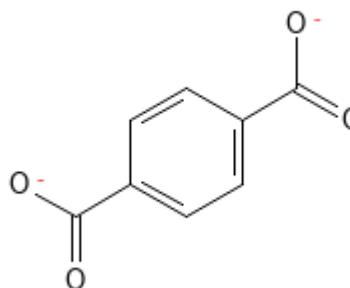
Obr. č. 1: Obecný vzorec ftalátu [58]

Struktura výše představuje obecný vzorec ftalátu, kde R ve struktuře vzorce zastupuje esterově vázané skupiny, kterými nejčastěji mohou být alkyly a v mnoha případech jsou tyto vázané funkční skupiny identické.

U o-ftalátů, kde jsou esterové skupiny připojeny k benzenovému jádru v poloze orto, vystupuje jako nositel funkčních skupin kyselina 1,2-benzendikarboxylová. Pokud se funkční skupiny vážou do polohy meta- či para-, tak se jedná o iso- nebo tereftaláty a jako nositel funkčních skupin zde vystupuje kyselina 1,4-benzendikarboxylová pro tereftaláty a 1,3-benzendikarboxylová pro isoftaláty.



Obr. č. 2: Vzorec isoftalátu [59]



Obr. č. 3: Vzorec tereftalátu [59]

Ftaláty lze rozdělit na dvě skupiny, a to na ftaláty s vysokou či nízkou molekulovou hmotností. Ftaláty s vysokou molekulovou hmotností jsou často definovány jako ftaláty s dlouhým alkylovým řetězcem skládajícím se ze sedmi nebo více atomů uhlíku. Zde například patří diizononylftalát, diizodecylftalát nebo di(2-propylheptyl)ftalát. Ftaláty s nízkou molekulovou hmotností mají obvykle alkylový řetězec ze tří až šesti uhlíků a patří mezi ně například bis(2-ethylhexyl)-ftalát, dibutylftalát nebo butylbenzylftalát. [2]

2.2 Vlastnosti

Za normálních podmínek jsou ftaláty hustou, bezbarvou kapalinou s nízkou rozpustností ve vodě, dobře jsou rozpustné v tucích. Ftaláty jsou jen omezeně těkavé. Ve finálním produktu nejsou pevně vázány a mohou unikat do okolního prostředí. Přehled vybraných ftalátů a jejich fyzikálně-chemických vlastností je vypsán v tabulce č. 1.[5]

Tabulka č. 1: Fyzikálně-chemické vlastnosti vybraných ftalátů [5]

Ftalát	Mr	Bod varu [°C]	Bod tání [°C]	Rozp. ve vodě [$\frac{mg}{dm^{-3}}$]	Tenze par při 25 °C [mPa]
<i>dimethylftalát</i>	194,2	284	2	4000	220
<i>diethylftalát</i>	222,2	294	-41	1080	220
<i>dibutylftalát</i>	278,4	340	-35	11,2	1,87
<i>benzylbutylftalát</i>	312,4	370	-35	2,69	1,15
<i>di-2-ethylhexylftalát</i>	390,6	384	-50	0,3	0,86
<i>dioktylftalát</i>	390,6	220	-25	0	-

Například di-2-ethylhexylftalát (DEHP) je bezbarvá nebo nažloutlá olejovitá kapalina prakticky bez zápachu. Taje při teplotě – 46°C a teplota varu činí 370°C. Špatně se rozpouští ve vodě, ale mísí se s většinou běžných organických rozpouštědel. Hustotou 980 kg.m⁻³ je jen nepatrně lehčí než voda. Patří mezi perzistentní organické polutanty (POP). [6]

2.3 Nežádoucí účinky a vlastnosti na lidský organismus

Ftaláty byly již dlouhou dobu předmětem obav, zejména kvůli jejich účinkům na lidský organismus. Jak již bylo řečeno ftalátová změkčovadla nejsou chemicky vázaná na PVC, mohou se vyluhovat, migrovat či odpařovat do atmosféry, potravin nebo jiných materiálů.

Ftaláty vykazují nízkou akutní toxicitu s hodnotami LD50 1-30 g/kg tělesné hmotnosti. V krátkodobých a dlouhodobých studiích na hlodavcích byl zjištěn jejich nežádoucí vliv na játra, ledviny a u vybraných druhů ftalátů také vliv na tkáň štítné žlázy a varlat, vše v závislosti na dávce a délce expozice zkoumaného jedince ftalátem. Byly zjištěny i významné rozdíly u různých druhů, a i rozdíly ve vlivu ftalátů na muže a ženy. Všechny z doposud průmyslově používaných ftalátů byly testovány i na mutagenitu a mutagenezi. Výsledky těchto testů byly negativní. [3]

Jsou-li látky klasifikované jako toxické pro reprodukci, můžeme je dále rozdělit do kategorií:

Kategorie 1: Známé nebo předpokládané toxické látky pro reprodukci včetně

Kategorie 1A: Důkazy účinků na člověka

Kategorie 1B: Důkazy účinků na zvířata

Kategorie 2: Podezření na reprodukční toxicitu pro člověka

Do kategorie 2 se řadí látky, pro které existují důkazy ze studií na zvířatech nebo z údajů o lidech, které ale nejsou dostatečně přesvědčivé pro umístění do kategorie 1. [2]

U některých ftalátů nebylo získáno dostatečný počet údajů pro nežádoucí či toxické účinky na lidský organismus a bylo tak potřeba přejít na studie a analýzy těchto účinků na pokusných zvířatech. Zjištěné údaje (NOAEL, LOAEL) byly pak následně porovnány s dostupnými údaji o expozici u lidí. Z těchto studií pak následně vzešly obavy o to, že expozice člověka ftalátům může mít za následek snížený počet spermií, histologické změny ve varlatech a sníženou plodnost. Dále byly diskutovány i účinky jako je zvýšená prenatalní úmrtnost, snížený růst a porodní hmotnost, které mohou být způsobeny vystavením ftalátům. Ve dvougeneračních studiích byly psány možné účinky hlavně u mužské části populace, a to zejména snížení hladiny

testosteronu v séru, snížené spermatoocyty anebo snížená anogenitální vzdálenost, což je vzdálenost mezi genitálem a konečníkem a je to jeden ze spolehlivých ukazatelů množství a kvality spermií. [3][4]

Reprodukční toxické látky se dále dělí na látky s nepříznivými účinky na sexuální funkce a na plodnost a na látky s nepříznivými účinky na vývoj potomstva. Dále tam je i samostatná kategorie pro látky s nepříznivými účinky na laktaci nebo prostřednictvím laktace. Mezi nepříznivými účinky na sexuální funkce a plodnost se řadí například změny reprodukčního systému, účinky na reprodukční cyklus, porod, produkci gamet nebo sexuální chování. Jako účinky na laktaci byly pozorovány snížení kvality nebo množství mateřského mléka nebo účinky na potomky v důsledku expozice ftalátů prostřednictvím mateřského mléka.[2][4]

Ftaláty mohou mít i nepříznivý vliv na životní prostředí. Mezi takové to vlivy patří například akumulace v potravinovém řetězci a akutní a chronické toxické účinky na vodní organismy. Proto byly některé ftaláty klasifikovány jako nebezpečné pro životní prostředí, ftaláty způsobující akutní toxicitu, podráždění očí, dýchacích cest či kůže. [2]

2.4 Výskyt

Ftaláty se zhruba z devadesáti procent využívají jako změkčovadlo polymerů, převážně polyvinylchloridu (PVC). Změkčení původně tvrdého PVC ftaláty zvyšuje jeho pružnost a zlepšuje jeho zpracovatelnost. Měkčené PVC se používá v řadě spotřebních výrobků – obaly (i pro potraviny), podlahové krytiny, hadice, kabely, hračky, pláštěnky, zdravotnické pomůcky (infuzní vaky – DEHP). Dále se ftaláty využívají pro výrobu stavebních materiálů, jako např. složky těsnících a adhezivních materiálů a nátěrů a materiálů pro povrchovou úpravu. Ftaláty nejsou na polymeru PVC vázány chemicky a během používání výrobku se z něj zvolna uvolňují.

Méně významné aplikace ftalátů: např. složky inkoustů, rozpouštědel a fixačních činidel v parfémeh či přísady v jiných typech kosmetiky.

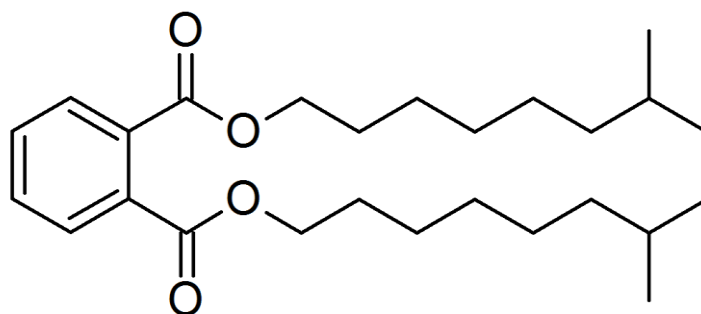
2.5 Zástupci

Ftaláty jsou velkou skupinou látek, které mají mnoho zástupců a mnoho využití. Můžeme je rozdělit do dvou skupin, a to monoalkyl ftaláty a dialkylftaláty. Dialkyl ftaláty jsou v organismu, v případě že se neakumulují v tukových tkáních, hydrolyzovány a vylučovány ve formě metabolitů – monoalkyl ftalátů. V této práci budou uvedeni 4 zástupci, které je možné nalézt v potravinových obalech a jejichž přítomnost byla prokázána i v analytických stanoveních.

2.5.1 Di-isononyl ftalát (DINP)

Charakteristika

Di-isononyl ftalát je směsí izomerů kyseliny ftalové. Jedná se o blízkého příbuzného diisodecyl ftalátu. Jeho hlavní použití je jako změkčovadlo ve výrobcích z PVC jako například hračky, školní potřeby, oblečení, obuv, podlahové krytiny. Di-isononyl ftalát nalezneme ale i v lepidlech, nátěrech a různých těsnících hmotách. Jako ftalát, tedy látka v produktu ne příliš pevně vázaná, se také odpařuje během celého životního cyklu výrobku, ve kterém je obsažen. [30]



Obr. č. 4: Vzorec di-isononyl ftalátu [56]

Hodnocení karcinogenity podle IARC

3 - neklasifikovatelná jako lidský karcinogen

Účinky na zdraví lidí a zvířat

Do lidského organismus se di-isononyl ftalát může dostat inhalací, orální či dermální cestou. Jeho účinky na lidské zdraví nejsou tak důkladně prozkoumány, jako je tomu například u di-(2-ethylhexyl) ftalátu (DEHP). Přesto lze tvrdit, že se jedná o ftalát s menší toxicitou, u něhož

vědecké studie prokázaly malou souvislost mezi negativními zdravotními účinky. Nicméně studie na zvířatech prokázaly, že je toxický zejména pro játra, ale také ledviny. Je spojován se vznikem novotvarů. V těle hlodavců působí jako karcinogen také proto, že se skládá mimo jiné z dalšího ftalátu – DEHP. [22][31]

Nejnovější studie označují DINP jako endokrinní disruptor, tedy poškozující hormonální systém člověka zejména při působení ve vysokých dávkách. Jiné studie naznačují, že DINP patří mezi tzv. anti-androgeny, tedy látky omezující působení maskulinních hormonů jako je např. testosteron. Může působit v synergii s ostatními hojně používanými ftaláty (DEHP, DBP, BBP...) a negativně ovlivnit zejména reprodukční schopnost člověka díky kumulujícímu se efektu jejich působení. [22][31]

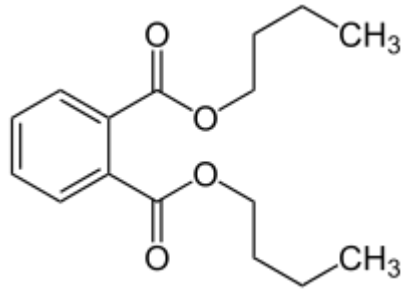
Výskyt v životním prostředí

Di-isononyl ftalát se dostává do životního prostředí prostřednictvím odpadních vod či emisí z továren, kde se vyrábí. Také se uvolňuje se z materiálu během jeho používání či likvidace. [31]

2.5.2 Di-butyl ftalát (DBP)

Charakteristika

Di-butylftalát (DBP) je jedním z esterů kyseliny ftalové. Vzniká kondenzací karboxylových skupin kyseliny ftalové se dvěma molekulami butan-1-olu. Jedná se o bezbarvou, případně bledě žlutou olejovitou kapalinu, která je špatně rozpustná ve vodě. Jeho rozpustnost je ale naopak velmi dobrá acetonu, benzenu, alkoholu a celé řadě dalších organických rozpouštědel. Di-butylftalát je používán jako změkčovadlo v lacích, elastomerech a výbušninách. Také je vhodný jako rozpouštědlo éterických olejů a pryskyřic. Někdy může být součástí bezpečnostních skel, tiskárenských inkoustů a adhesiv a také je ho možné používat jako pesticid. Do prostředí může di-butylftalát unikat v průběhu nejrůznějších průmyslových procesů a také se může uvolňovat z konečných produktů. Patří mezi látky, které znečišťují ovzduší. S di-butylftalátem se spotřebitelé mohli často setkat v lacích na nehty, jejichž prodej byl ukončen v roce 2005 na základě rozhodnutí Evropské unie. [21]



Obr. č. 5: Vzorec di-butylftalátu [56]

Účinky na zdraví lidí a zvířat

Hlavní způsob, kdy se jedinec může vystavit vlivu di-butylftalátu, je vdechování nebo požití. Di-butylftalát může dráždit oční sliznice, pokožku, horní cesty dýchací nebo může vyvolat přecitlivělost. Dlouhodobé testy na zvířatech odhalily celkový pokles tělesné hmotnosti, oproti tomu došlo k nárůstu hmotnosti plic. Pozorováno bylo i negativní účinky, které se projevily na játrech. Výzkum na zvířatech dále prokázal, že zvýšený příjem di-butylftalátu může negativně ovlivnit vývoj plodu a mužský reprodukční systém, stejně jak tomu bylo v předcházejících případech. Studie in vitro prokázaly, že lidská kůže je pro tuto sloučeninu méně propustná než kůže potkana. Byl popsán případ, kdy chemický pracovník omylem spolkl asi 10 g DBP. Zpožděné příznaky a příznaky zahrnovaly nevolnost, zvracení a závratě, následované bolestmi hlavy, bolestmi a podrážděním očí, slzením, fotofobií a konjunktivitidou. K úplnému zotavení došlo do 2 týdnů. To je také hlavní důvod, proč je v Evropské unii, ale i jinde, legislativně omezován. U di-butylftalátu nebyl prokázán karcinogenní účinek, ale je značně toxický pro vodní organismy. [21][22][23]

Hodnocení karcinogenity podle IARC

3 - neklasifikovatelná jako lidský karcinogen

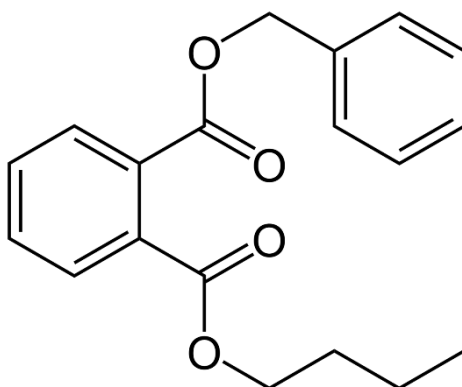
Výskyt v životním prostředí

Di-butylftalát může vznikat v půdách prostřednictvím mikrobiální syntézy, významnější je však jeho antropogenní původ. Di-butylftalát byl například nalezen ve vzduchu – ve vnitřním prostředí nových automobilů, v domech. Všude kde se vyskytují materiály, které ho obsahují – například PVC podlahy. V ovzduší ho můžeme zaznamenat buď v plynné fázi, ale i v podobě pevných mikročástic. Plynná fáze v atmosféře rychle reaguje a následně odchází v podobě mokré imise zachycené na zemském povrchu. Doba setrvání plynné fáze v atmosféře je zhruba 1,5 dne. [21]

2.5.3 Butyl benzyl ftalát (BBP)

Charakteristika

Butyl benzyl ftalát je dalším z esterů kyseliny ftalové. Vzniká kondenzací karboxylových skupin kyseliny ftalové s jednou molekulou butan-1-olu a benzylu. Jedná se o bezbarvou olejovitou kapalinu s lehkým zápachem. Butyl benzyl ftalát patří mezi nejvíce používané ftaláty v chemickém průmyslu. Využívá se především jako změkčovadlo pro PVC a jiné polymery. Naleznout ho například můžeme v podlahových krytinách, umělých kůžích, těsnících materiálech v automobilovém průmyslu, barvách i lepidlech. Jeho další využití je například v obalových materiálech potravin, ale tato aplikace je v posledních letech již na ústupu. Jeho přítomnost byla ale i zjištěna v dětských hračkách a v předmětech péče o děti. [24][25]



Obr. č. 6: Vzorec butyl benzyl ftalátu [57]

Hodnocení karcinogenity podle IARC

3 - neklasifikovatelná jako lidský karcinogen

Účinky na zdraví lidí a zvířat

Butyl benzyl ftalát byl klasifikován jako látka, která spadá do kategorie 1B. To znamená, že existují dostatečné vědecké důkazy o tom, že je tato látka toxická pro reprodukci u zvířat. Akutní toxicita této sloučeniny je nízká, přičemž hodnoty LD50 orálně u potkanů jsou vyšší než 2 g/kg tělesné hmotnosti. V dlouhodobých studiích bylo prokázáno histopatologických

účinků zejména na slinivce břišní a ledvinách. Při podávání vyšších dávek byly zaznamenány degenerativní účinky na varlatech a příležitostně i histopatologické účinky na játra. [24]

Několik studií potvrzuje toxicitu butyl benzyl ftalátu pro vývoj plodu a reprodukční orgány. Studie zkoumající působení butyl benzyl ftalátu na člověka potvrzují, že tato látka snižuje kvalitu semene u mužů. Působení butyl benzyl ftalátu může způsobit vývojové vady reprodukčního systému včetně abnormálního vývoje penisu a varlat u nenarozeného dítěte. [22]

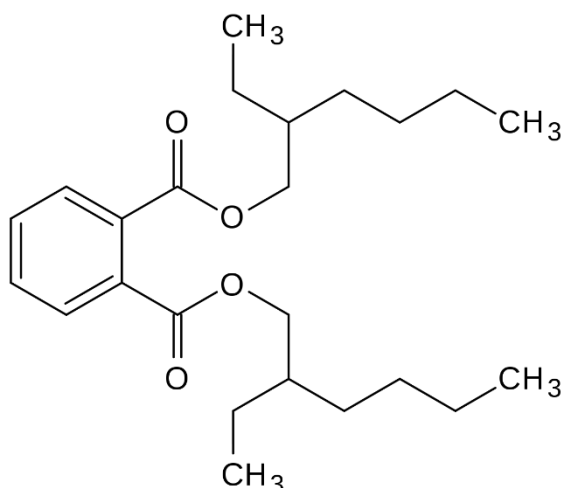
Výskyt v životním prostředí

Butyl benzyl ftalát není látkou, která by se samovolně vytvářela v životním prostředí nebo by v něm sama o sobě byla obsažena. Výskyt tohoto ftalátu v životním prostředí souvisí s lidskou činností. Zejména díky průmyslovým výrobám, při kterých se může do životního prostředí uvolňovat, dále se může jednat o emise do vody a ovzduší nebo díky životnímu cyklu výrobku, ve kterém je obsažen. [25][26]

2.5.4 Di(2-ethylhexyl) ftalát (DEHP)

Charakteristika

Di(2-ethylhexyl) ftalát je dalším z esterů kyseliny ftalové. Vzniká kondenzací karboxylových skupin kyseliny ftalové se dvěma molekulami 2-ethylhexanolu. Jedná se o bezbarvou nebo lehce nažloutlou olejovitou kapalinu s lehkým zápachem. Jeho rozpustnost ve vodě je špatná, zato se dobře rozpouští v tucích. V plastových výrobcích se DEHP používá především jako změkčovač v plastových výrobcích. Mezi tyto výrobky se řadí například podlahové krytiny, tapety, hračky nebo třeba zdravotnický materiál. Dále je hojně rozšířen v produktech každodenního používání jako jsou obalové materiály potravin, obuv, spotřební elektronika. Setkat se s ním ale můžeme i v široké paletě dalších produktů (od tekutých mýdel po střelivo). [27]



Obr. č. 7: Vzorec di(2-ethylhexyl) ftalátu [60]

Hodnocení karcinogenity podle IARC

2B – možná karcinogenní pro lidi

Účinky na zdraví lidí a zvířat

Di(2-ethylhexyl) ftalát byl klasifikován jako látka, která spadá do kategorie 1B. To znamená, že je to látka toxická pro reprodukci a existují dostatečné vědecké důkazy o jejich toxicitě u zvířat. Současně je to pravděpodobný lidský karcinogen, jenž se podílí na vzniku rakoviny jater. Di(2-ethylhexyl) se v lidském těle metabolizuje na mono-ethylhexyl ftalát (MEHP) a další metabolity, které člověk vylučuje v moči z těla ven. [22] [27]

Mezi nejcitovanější patří studie provedená v roce 2005 pod vedením Shanny Swan, která našla „významnou souvislost“ mezi množstvím metabolitů DEHP v těle těhotné matky a změnách pohlavního ústrojí u jejich synů. Ženy s nejvyššími hodnotami ftalátu v moči měly spíše syny s nesestoupenými varlaty a menšími penisy. Současně objevila, že postižení chlapci vykazovali kratší vzdálenost mezi řitním otvorem a genitáliemi (tzv. anogenitální vzdálenost), která je u chlapců zhruba 2x větší než u děvčat. To je považováno za jeden ze znaků mužského pohlaví. Zkracováním této vzdálenosti dochází tedy podobně jako u zvířat k tzv. demaskulinizaci mužského potomstva podobně jako to bylo dokázáno ve studiích na zvířatech. [22][29]

Výskyt v životním prostředí

Di(2-ethylhexyl) ftalát není látkou, která by se samovolně vytvářela v životním prostředí nebo by v něm sama o sobě byla obsažena. Výskyt tohoto ftalátu v životním prostředí souvisí

s lidskou činností. Di(2-ethylhexyl) ftalát se dostává do životního prostředí prostřednictvím emisí z továren, které vyrábí di(2-ethylhexyl) ftalát, během likvidace odpadu, uvolňováním z plastových výrobků, které jsou měkčeny di(2-ethylhexyl) ftalát. V nejvyšších koncentracích se proto di(2-ethylhexyl) ftalát nachází v okolí podniků vyrábějících / používajících di(2-ethylhexyl) ftalát, v okolí podniků nakládajících s plastovými odpady a v okolí skládek. [27]

Limity pro potraviny

Evropské normy také regulují použití di(2-ethylhexyl) ftalát v plastových obalech na potraviny, a to jednak absolutní hodnotou, která nesmí překročit 0,1 % hmotnostního podílu, jednak migračními limity. di(2-ethylhexyl) ftalát se smí používat jen jako změkčovadlo v materiálech a výrobcích určených pro opakované použití. Dále se smí používat jako změkčovadlo v materiálech a výrobcích na jedno použití, které přichází do styku s potravinami neobsahující tuk, kromě kojenecké výživy. Jeho koncentrace v konečném výrobku je limitována na 0,1 %, přičemž SML (specifický migrační limit viz dále) u DEHP na 1,5 mg/kg potraviny. Tyto limity jsou stanoveny vyhláškou č. 38/2001 Sb. o hygienických požadavcích na výrobky určené pro styk s potravinami a pokrmy, která byla pozměněna vyhláškou č. 271/2008 Sb. [28]

2.6 Expoziční cesty a metabolismus ftalátů

Hlavní expoziční cesty pro populaci představují inhalační příjem. Dále se jedná o příjem z potravy nebo z půdy a prachu. Příjem je rovněž možný dermálně, kontaktem s produkty obsahujícími ftaláty, jako jsou nejrůznější plastové výrobky. Jakmile jsou přítomny v organismu, ftaláty jsou metabolizovány.

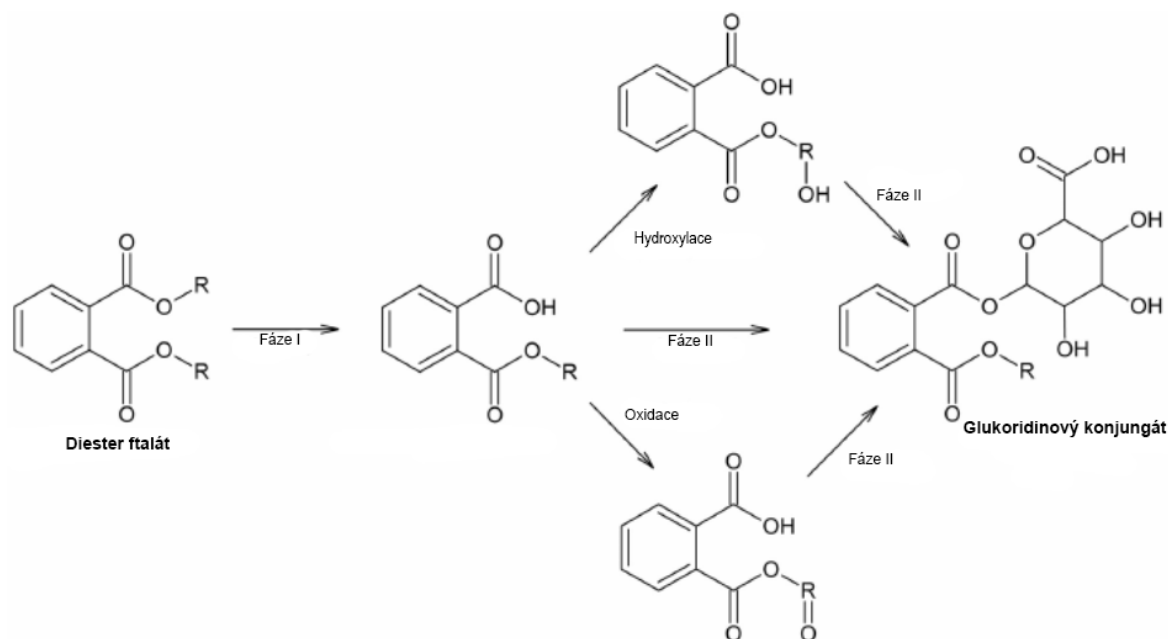
Biotransformace ftalátů v metabolismu probíhá metabolickou cestou, která má alespoň dvě fáze, a to fázi hydrolýzy, která je následována konjugací. V prvním kroku dojde k hydrolýze diester ftalátu na primární metabolit monoester ftalát v procesu katalyzovaném lipázami a esterázami u člověka ve střevech či u rostlin v parenchymu. [33][34]

Normálně by tento první krok metabolismu byl detoxikací, ale studie in vitro a in vivo ukázaly, že diesterové ftaláty se stávají bioaktivnějšími, když jsou hydrolyzovány na monoesterové ftaláty. [35]

Krátce rozvětvené ftaláty se vylučují hlavně močí jako ve formě svých nekonjugovaných monoalkyl derivátů, zatímco ftaláty s delšími řetězci (s 8 a více uhlíky) procházejí několika biotransformacemi, včetně další hydroxylace a oxidace, než se vylučují močí a stolicí často jako

metabolity druhé fáze, a to jako konjugované sloučeniny. Fáze II – konjugace, je často katalyzována enzymem uridin 5'-difosfoglukuronyl transferázou, přičemž vzniká hydrofilní glukuronidový konjugát, snadno vylučitelný močí. [36][37]

Primární i sekundární metabolity mohou konjugovat s kyselinou glukuronovou. Glukuronidy i volné metabolity jsou vylučovány močí. Průkaz metabolitů v moči se používá k odhadu expozice. Metabolity jsou detekovatelné v průběhu 24 h.



Obr. č. 8: Metabolická cesta ftalátů [45]

2.6.1 Metabolismus DEHP

Prvním krokem v metabolismu DEHP je velmi rychlá hydrolyzáza na mono(2-ethylhexyl) ftalát. Tento derivát spolu s mono(2-ethyl-5-hydroxyhexyl) ftalátem a mono(2-ethyl-5-oxohexyl) ftalátem podle současných studií poukazuje na expozici DEHP. Také byly pozorovány různé variace sekundárních metabolitů, jako jsou dikyseliny nebo keto-kyseliny. Tato pozorování byla prováděna na hlodavcích. V lidské moči byly rovněž identifikovány dva další hlavní metabolity, jimiž jsou mono(2-ethyl-5-karboxylpentyl) ftalát a mono(2-karboxymethylhexyl) ftalát. (Ndhlala et al., 2012). Studie zkoumající orální dávku prokázala vyloučení 71 % DEHP do 24 hodin, další 4 % byla vyloučena během následujících 20 hodin. Pík charakterizující mono(2-ethylhexyl) ftalát byl v moči pozorován již 2 hodiny po podání dávky. Po přibližně 4 hodinách se objevily píky patřící mono(2-ethyl-5-hydroxyhexyl) ftalátu mono(2-ethyl-5-

oxohexyl) ftalátu a mono(2-ethyl-5-karboxylpentyl) ftalátu. Oproti tomu pík, který charakterizuje mono(2-karboxymethylhexyl) ftalát, se objevil až po více než 8 hodinách. [45]

2.7 Ftaláty v potravinách

Ftaláty se do potravin mohou dostat různými způsoby. Buďto může být kontaminací při výrobě samotných potravin anebo migrací ftalátů z potravinových obalů či fólií. Jelikož se ftaláty používají jako změkčovadla plastických materiálů nebo jako součást tiskařských inkoustů, je možné, že při delším skladování se mohou tyto ftaláty dostat do potravin a poté následně do lidského organismu.

Mezi nejčastější příklady ftalátů, které se vyskytují v potravinových obalech, jsou například di(2-ethylhexyl) ftalát, butyl benzyl ftalát, diisobutyl ftalát nebo dicyhlohexyl ftalát. Obsah těchto ftalátů v obalových materiálech se snaží regulovat některé vyhlášky. Tyto vyhlášky mohou být buďto vládní dané země nebo nadnárodní jako jsou například vyhlášky Evropské unie.

Základní právní předpis, který se týká potravinových obalů, je vyhláška č. 38/2001 Sb. o hygienických požadavcích na výrobky určené pro styk s potravinami a pokrmy, která byla pozměněna vyhláškou č. 271/2008 Sb. (ta nabyla platnost 15. 8. 2008). [28] [32]

Samotná podstata PVC – obsah monomerního vinylchloridu ve výrobcích z PVC a jeho kopolymerů nesmí být podle vyhlášky vyšší než jeden miligram na kilogram konečného výrobku (1 mg monomerního vinylchloridu na 1 kg výrobu). (§ 14, odstavec 1). Ve vyhlášce je dále uveden seznam látek a jejich limitních hodnot, které mohou být v potravinovém obalu obsaženy. [28] [32]

PVC se týkají především látky, využívané jako změkčovadla. Nejčastěji jde o ftaláty nebo adipáty. Vyhláška upravuje obsah ftalátů v potravinových obalech a jejich použití následovně: BBP – butylbenzylftalát, DEHP – di (2-ethylhexyl) ftalát a DBP – dibutylftalát se smí používat jen jako změkčovadlo v materiálech a výrobcích určených pro opakované použití, dále se smí používat jako změkčovadlo v materiálech a výrobcích na jedno použití, které přichází do styku s potravinami bez obsahu tuku, kromě kojenecké výživy, jeho koncentrace v konečném výrobku je limitována na 0,1 %, (u DBP je limit o něco přísnější – 0,05 %) přičemž SML (specifický migrační limit viz dále) u BBP je stanoven na 30 mg/kg, u DEHP na 1,5 mg/kg potravin, u DBP je SML 0,3 mg/kg potravin. [28][32]

Pro často používaná změkčovadla potravinových obalů z PVC ze skupiny adipátů – DEHA (DEHA – di – (2-ethylhexyl) adipát) je stanoven SML na 18 mg/kg'. [28][32]

3 STANOVENÍ FTALÁTŮ

3.1 Úprava vzorku

3.1.1 Extrakce kapalinou

Při této metodě většinou dochází k extrakci složky z vodného roztoku či pevné látky do organického rozpouštědla, které je s vodou nemísitelné. Poté lze uvažovat o extrakci kapalina-kapalina (LLE), pevná látka-kapalina (SLE) nebo například zrychlenou extrakci kapalinou (ASE). Volba extrakčního činidla ovlivňuje selektivitu a účinnost extrakce. Mezi požadované vlastnosti extrakčních činidel patří již zmíněná nemísitelnost s vodou, polarita zabezpečující dobrou výtěžnost analytů, dostatečná těkavost a kompatibilita s analytickou koncovkou. Mezi dalšími faktory, které ovlivňují výtěžnost extrakce, patří úprava pH, která ovlivňuje i výtěžnost neionizovatelných sloučenin díky ovlivnění matrice, přidavek solí tzv. vysolovací efekt, přidavek kovových iontů anebo přidavek chelatačního či komplexotvorného činidla. Během vlastní extrakce musí být zajištěn dobrý kontakt mezi fázemi, aby docházelo k dostatečnému přenosu hmoty. Tento kontakt se zajišťuje například třepáním v dělicí nálevce či třepačce, odstředěním nebo mixováním. Někdy může hrozit riziko tvorby emulzí, hlavně u vzorků s obsahem povrchově aktivních látek a tučnými složkami. Pro odstranění takto vzniklých emulzí se využívá například filtrace přes skelnou vatu či filtrační papír, odstředění, zahřívání a chlazení extrakční nálev, přidavek soli nebo přidavek malého množství jiného organického rozpouštědla. Mohou se využít jednostupňová extrakce nebo extrakce vícečetná, u které se extrahuje menším objemem rozpouštědla a je tak účinnější než extrakce jednostupňová. Při praktickém provádění se nejlépe osvědčil chloroform, isooktan, hexan a dichlormetan. Metoda využívá Nernstův rozdělovací zákon (viz rovnice), který říká, že poměr koncentrací látky rozpuštěné ve dvou stýkajících se vzájemně nerozpustných látek, je za dané teploty konstantní. [8][9]

$$K_D = \frac{c_0}{c_{aq}}$$

K_D – distribuční konstanta

c_0 – koncentrace analytu v organické fázi

c_{aq} – koncentrace analytu ve vodné fázi

3.1.2 Soxhletova extrakce

Extrakce v Soxhletově extraktoru je metoda, která patří mezi nejstarší extrakční techniky, a proto často bývá používána jako standard pro nově vyvíjené extrakční techniky. Je součástí mnohých normovaných postupů. Aparatura potřebná ke Soxhletově extrakci se skládá z varné baňky, Soxhletova extraktoru, který má v sobě umístěnou patronu a chladiče (obr. č. 9). Rozpouštědlo ve varné baňce je zahříváno, dochází k jeho odpaření a přes chladič je kondenzováno do patrony, ve které je umístěn navážený tuhý vzorek. Ze vzorku jsou rozpouštědlem vymývány rozpustné komponenty a poté je rozpouštědlo obsahující rozpuštěné analyty vráceno zpět do varné baňky a tento proces je opakován, dokud nejsou požadované komponenty ze vzorku vyextrahovány v dostatečném množství. Vzorek je vždy extrahován čistým rozpouštědlem, zatímco ve varné baňce jsou koncentrovány netěkavé složky vyextrahované ze vzorku. Izolované látky tedy musí být stabilní při teplotě varu použitého extrakčního rozpouštědla. [38]

Hlavní výhodou extrakce podle Soxhleta je, že obsluha aparatury je velmi jednoduchá a pořizovací náklady nejsou vysoké. Nevýhodou však je, že celý proces je velmi zdoluhavý, pohybuje se v rozmezí 6–48 h. Další nevýhodou je, že většinou není možné použít směs rozpouštědel, protože rozpouštědla mají rozdílné teploty varu. [38]

Byly vyvinuty modernější techniky založené na principu extrakce podle Soxhleta. Nejvýznamnější z nich se nazývá Soxtec. Hlavní modifikací této metody je, že vzorek je v určité fázi procesu přímo ponořen do extrakčního rozpouštědla, čímž je celý proces výrazně urychlen (z 6–48 h na 2–3 h). Zvýšení teploty však může vyvolat degradaci vzorku u tepelně nestabilních materiálů, a proto tato metoda zpravidla není doporučována k extrakci lipidů. [42]

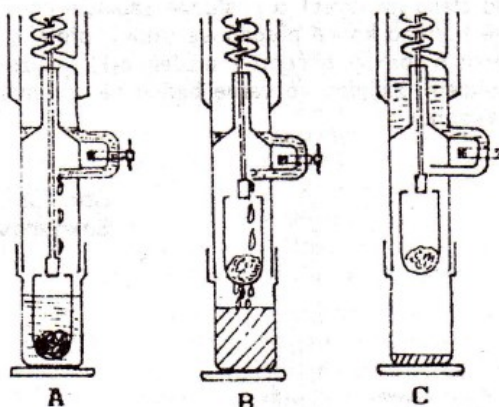


Obr. č. 9: Soxhletův extraktor [41]

3.1.2.1 Varianty Soxhletova extraktoru

3.1.2.1.1 Soxtec

V Soxtec přístroji je vzorek vložen do extrakční patrony a ponořen do vroucího solventu. To zajišťuje těsný kontakt mezi cílovou sloučeninou a solventem, jejímž výsledkem je rychlá extrakce organického analytu. Poté je patrona zvednuta nad hladinu solventu a vzorek promýván studeným rozpouštědlem po dobu nejčastěji 1 h, získaný extrakt se odpaří. Soxtec metoda je mnohem jednodušší a poskytuje výsledky velmi blízké nebo vyšší ve srovnání se Soxhletovou extrakcí. [39].



Obr. č. 10: Tři fáze extrakce tuhého vzorku v zařízení Soxtec [39]

A - extrakce horkým rozpouštědlem; B - extrakce chladným rozpouštědlem, C - odpaření rozpouštědla

3.1.2.1.2 Soxterm

Soxterm je šestimístný automatický systém s externím mikroprocesorovým ovladačem teploty a pětifázovým uživatelským programováním extrakčního procesu. Procesor umožňuje uschování až 99 různých uživatelských programů pokrývajících libovolné kombinace vzorků a rozpouštědel. V paměti uchované programy lze aktivovat pomocí jedнокlávesových povelů. Ovládání teploty může být realizováno ve dvou rozsazích do 200 °C nebo do 300 °C. Práce s jednotkou Soxterm je až pětikrát rychlejší než klasické extrakce. Sestava umožňuje běžně recyklovat 90 % rozpouštědel.

Kromě klasického stanovení tuků v potravinářských vzorcích prověřil Soxterm svoji praktičnost a vysokou užitnou hodnotu také ve zbytkové analýze pesticidů, PCB a PAU v půdách. [40]



Obr. č. 11: Zařízení Soxterm [62]

3.1.2.1.3 Büchi

Pro metodu extrakce horkým rozpouštědlem lze využít také universální automatický extraktor od firmy Büchi. Přístroj pracuje na podobném principu jako zařízení Soxtec, ale extrakci lze provést několika způsoby:

- Standardní Soxhletova extrakce – solvent se odpařuje z extrakční nádoby, páry stoupají do chladiče, kondenzují a kondenzát stéká do extrakční patrony se vzorkem. Hladina rozpouštědla v extrakční patroně/nástavci stoupá, v okamžiku, kdy dosáhne optického senzoru, dojde k vypuštění rozpouštědla do extrakční nádoby.
- Soxhletova extrakce za horka – počáteční fáze se neliší od standardní Soxhletovy extrakce. Jakmile optický senzor detekuje hladinu rozpouštědla, zapne se horní zahřívací člen a rozpouštědlo v extrakční cele se zahřívá. Poté následuje otevření skleněného ventilu, kterým rozpouštědlo proteče zpět do extrakční nádoby.
- Horká extrakční metoda – tato varianta se od Soxhletovy extrakce za horka odlišuje tím, že v okamžiku, kdy hladina solventu v extrakční cele dosáhne optického senzoru, dojde k vypuštění pouze několika mililitrů rozpouštědla do extrakční nádoby. Odvedené množství je doplněno čerstvým podílem rozpouštědla stékajícím z chladiče. Tento děj se neustále opakuje, čímž dochází k obohacování extraktu analyty ze vzorku.
- Kontinuální metoda – v tomto případě je skleněný ventil uzavřen a optický senzor neaktivní. Rozpouštědlo se odpařuje z extrakční nádoby, páry stoupají do chladiče, kondenzují a kondenzát protéká extrakční patronou a nástavcem zpět do extrakční nádoby. [40]

3.1.3 Mikrovlnná extrakce (MAE)

MAE byla v posledních letech s úspěchem aplikována na extrakci organických polutantů z pevných matic. Výhody této techniky oproti Soxhletově extrakci jsou zřejmé po srovnání extrakčních časů (10 min vs. 6-48 h) a spotřeby rozpouštědla (30 ml vs. 250 ml). [39][43]

Při dielektrickém ohřevu dochází k přeměně energie střídavého elektrického pole o velmi vysoké frekvenci na tepelnou energii. Děje se tak působením pole na polární molekuly materiálu. Dipóly molekul se nepřetržitě natačejí dle okamžitého směru elektromagnetického pole a takto mění svoji orientaci až několik miliardkrát za sekundu. Přitom se využívá dvou procesů: mezimolekulárního tření, k němuž dochází při překonávání mezimolekulárních přitažlivých sil, a hystereze, která vzniká mezi působícím polem a indukovanou elektrickou odezvou vlivem setrvačnosti, jež závisí na elektrickém náboji, hmotě a tvaru molekul. Díky těmto jevům je ohřev produktu velmi rychlý a probíhá v celém objemu, ve kterém působí elektromagnetické pole na polární materiál. [43]

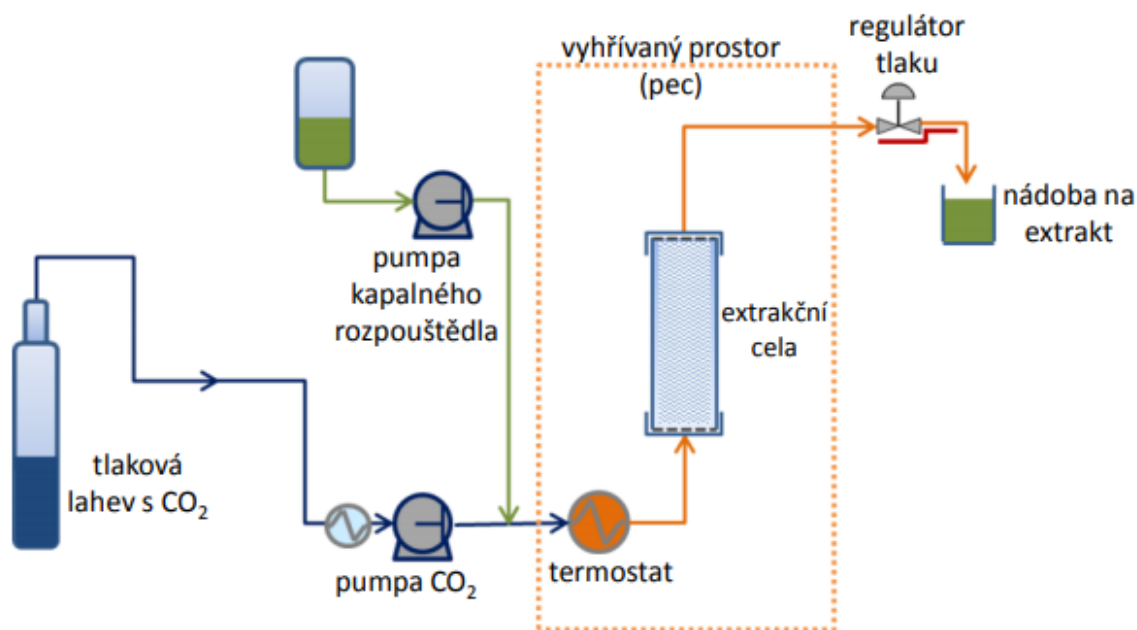
Generace tepla ve vzorku je podmíněna přítomností dielektrické sloučeniny. Čím větší dielektrická konstanta, tím větší množství tepelné energie se uvolní a tím rychlejší je ohřev při dané frekvenci záření. Přeměna mikrovlnné energie na tepelnou je závislá na disipačním faktoru, což je poměr faktoru ztráty dielektricity a dielektrické konstanty. Dielektrická konstanta charakterizuje míru absorpce mikrovlnné energie, faktor ztráty dielektricity vyjadřuje schopnost disipace absorbované energie. Efekt mikrovlnného záření je silně závislý na povaze solventu a matrice. Většinou volíme solvent s vysokou dielektrickou konstantou, aby silně absorboval záření. Nicméně v některých případech může být zahřívána pouze matrice vzorku, takže analyty jsou uvolňovány do studeného solventu (užitečné především pro termolabilní komponenty k prevenci jejich degradace). Mikrovlny interagují s volnými molekulami vody např. v rostlinném materiálu. Tento proces je ale odlišný od klasické extrakce rozpouštědlem, kdy solvent difunduje do matrice a extrahuje komponenty rozpuštěním.

Mikrovlnnou extrakci lze provádět v otevřených nádobách (a MAE) nebo uzavřených celách (p MAE). [43][44]

3.1.4 Superkritická fluidní extrakce (SFE)

Extrakce superkritickým oxidem uhličitým je separační proces, který využívá skutečnosti, že nad teplotu 31 °C (kritickou teplotu) nelze oxid uhličitý dalším zvyšováním tlaku zkapalnit. Vysoce stlačený plyn pak v superkritickém stavu vykazuje mimořádné vlastnosti – s rostoucí hustotou vrůstá totiž schopnost rozpouštět látky. Jde o fyzikální proces, při kterém nedochází k

žádné chemické reakci ani k uvolňování tepla. V superkritickém stavu se CO_2 chová současně jako kapalina i plyn. Rozpouštěcí schopnost CO_2 lze ovlivnit změnami tlaku a teploty – většina extrakcí probíhá při tlacích 100-300 bar a teplotách 40-50 °C. V tomto stavu má CO_2 vlastnosti kapaliny, a to poskytuje ideální podmínky pro rychlé extrakce s maximální výtěžností. Regulací tlaku a teploty lze měnit extrakční sílu a hustotu superkritické kapaliny a tím se dosahuje vlastností organických rozpouštědel v rozsahu od chloroformu přes dichlormetan po hexan. Variabilní síly rozpouštědla můžeme využít pro širokou škálu aplikací jako je čištění, extrakce, frakcionace či rekrystalizace širokého spektra látek. Dochází zde ke kombinaci výhody obou skupenství. Při extrakci dochází pouze k šetrným tepelným zákrokům, aplikovatelným i na citlivé látky. Získané produkty neobsahují žádné zbytky rozpouštědla – získává se nejčistší možný extrakt. Jednou z dalších výhod je zejména solvatační vlastnost rozpouštědel či difuzivita plynů. Díky tomu, že se při této metodě využívá netoxický, a hlavně levný oxid uhličitý namísto organických rozpouštědel, je tato metoda levná a ekologicky výhodná. Další výhodou je, že je možné zařízení spojit přímo s analyzátozem. [9][10].



Obr. č. 12: Technická realizace SFE [10]

3.1.5 Extrakce tuhou fází (SPE)

Extrakce tuhou fází je jedna znejrozšířenějších technik a to především z důvodu jejího snadného použití a širokých možností aplikace. Výhodou je, že díky využití této metody, mohou být redukovány mnohé z problémů související s extrakcí kapalina-kapalina (např. použití křehkého

speciálního skla, likvidace velkého množství organických rozpouštědel atd.). SPE je rychlá, extrakce jsou snadno proveditelné a může být automatizována. Také extrakční čas a množství rozpouštědla jsou výrazně nižší.

Metoda je založena na principu zachycování molekul látky, které v důsledku mezimolekulových interakcí ulpívají na pevném sorventu, přes který separovaný vzorek protéká.

Nejčastěji se tato technika používá k přípravě kapalných vzorků obsahujících netěkavé analyty. Pokud se jedná o pevný vzorek (např. sušené rostliny), je předem extrahován do rozpouštědla. [83]

3.1.5.1 Mikroextrakce tuhou fází (SPME)

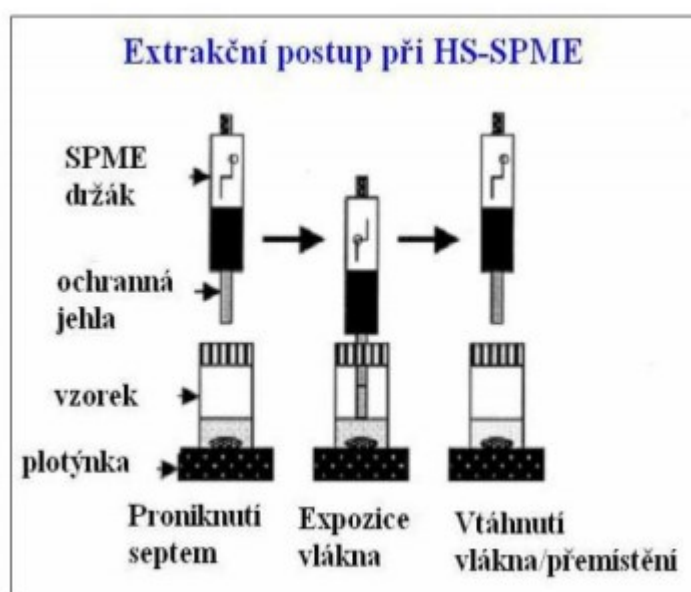
SPME (Solid phase microextraction) - mikroextrakce tuhou fází je izolační metoda, při níž dochází k sjednocení procesu vzorkování a extrakce. Principem této metody je sorbce složky vzorku na stacionární fázi pokrývající křemenné vlákno, které se nachází uvnitř kovové jehly. Vlákno o délce 1 cm pokryté polymerem je nejdůležitější součástí zařízení. Jehla slouží k ochraně vlákna před mechanickým poškozením a k propíchnutí septa v zátce vialky, ve které se nachází matrice. Jehla s vláknem se do zasune do vzorku, vlákno se z jehly při procesu vzorkování vysune pomocí pístu a po dosažení sorpční rovnováhy se zase zasune zpět do jehly. Po dosažení rovnováhy (individuální; 2–90 min) se vlákno zatáhne a celá jehla se ze vzorkované matrice vytáhne a vloží se do nástřikového prostoru chromatografu (plynového nebo kapalinového) a vlákno se opět vysune. K výhodám této metody patří rychlost stanovení, citlivost a také vysoká přesnost. [9][37]

Získání dobrých a spolehlivých výsledků při používání metody SPME je ovlivněna celou řadou faktorů, např. polaritou a tloušťkou stacionární fáze, způsobem vzorkování, hodnotou pH, iontovou silou roztoku, teplotou vzorku, mícháním apod. [9][37]

Na základě známého pravidla, že podobné se rozpouští v podobném, je třeba vybírat i vlákno. Znamená to, že nepolární vlákna by se měla používat pro extrakci nepolárních analytů a naopak. Panuje zde stejná shoda jako při vlastní analýze na chromatografické koloně při plynové chromatografii s tím rozdílem, že množství stacionární fáze vlákna je výrazně menší než na koloně. Proto i malé rozdíly v polaritě stacionární fáze nemusí vést ke srovnatelné sorpční selektivitě. Citlivost SPME metody ovlivňuje tloušťka stacionární fáze vlákna. Silnější vrstva je schopna vyextrahovat více analytu než vrstva tenká. Proto se vlákno se silnější vrstvou používá pro zachycení těkavějších látek. Tenká vrstva naopak zajišťuje zrychlenou difúzi a uvolnění výše vroucích látek během tepelné desorpce. [9][37]

Metoda SPME umožňuje provádět dva způsoby extrakce. První způsob je přímá SPME, označovaná zkratkou DI-SPME (Direct Immersing SPME), při které dochází přímo k ponoření vlákna do vzorku. Druhým způsobem je headspace SPME, označovaná zkratkou HS-SPME (Headspace SPME). Tato druhá varianta využívá extrakci analytů z prostoru nad vzorkem v uzavřené nádobě. [9][37]

DI-SPME se používá především pro látky v kapalném skupenství a u některých tuhých látek. HS-SPME se používá pro extrakci těkavých látek. Ustálení rovnováhy mezi vláknem a analytem v plynném stavu je rychlejší než u DI-SPME, protože molekuly analytu se rychleji pohybují v plynu než v ostatních skupenstvích. Čas, který je potřeba pro vzorkování HS-SPME je většinou relativně krátký, 5-15 min. [9][37]



Obr. č. 13: Mikroextrakce tuhou fází (SPME) [9]

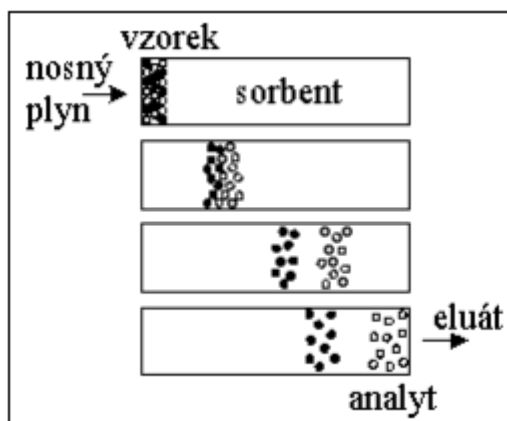
3.2 Metody stanovení

Analytických metod pro finální stanovení ftalátů je mnoho. Nejčastěji bývá používána plynová chromatografie, která pro detekci látek využívá hmotnostní spektrometrie, jenž umožňuje dokonalou identifikaci látek pomocí hmotnostních spekter. Jako další detektor se dá využít i plamenoionizační detektor (FID). Ten má ale pro ftaláty nižší odezvu a mohou se zde projevit i interferenční vlivy jinými látkami, které jsou obsažené ve vzorku. Další možností je využití detekce pomocí elektronového záchytu. Jako další varianta stanovení ftalátů, zejména DEHP, je možné využít kapalinovou chromatografii s použitím UV detekce. Vlastnímu stanovení ještě předchází extrakce vzorku vhodným rozpouštědlem a přečištění. A v neposlední řadě se začínají

využívat i moderní analytické metody jako mikroextrakce na tuhou fázi a superkritická fluidní extrakce. [6][7][8]

3.2.1 Plynová chromatografie (GC)

Chromatografie je separační metoda, při které dochází k oddělování složek obsažených ve vzorku na základě postupného uvolňování z kolony. Vzorek se vnáší mezi dvě nemísitelné fáze: stacionární a mobilní. Stacionární fáze je nepohyblivá a mobilní fáze je pohyblivá. Vzorek se umísťuje na začátek stacionární fáze a je unášen pohybem mobilní fáze. Složky vzorku se mohou se stacionární fází poutat a dochází tak k zadržování složek v koloně. K delšímu zadržování dochází u složek, které mají pevnější/intenzivnější vazbu se stacionární fází. Tak dochází k separaci složek. [9]



Obr. č. 14: Separace v GC [63]

U této metody se využívá jako mobilní fáze nosný plyn, do kterého je dávkován vzorek, který je následně spolu s nosným plynem unášen kolonou. Poté co je vzorek vpraven do kolony, tak dojde k jeho převodu do plynné fáze. Při průchodu kolonou dochází k separaci jednotlivých složek a jednotlivé složky jsou pak po opuštění kolony detekovány pomocí detektoru, jenž určuje kvalitativní a při použití kalibrační řady i kvantitativní zastoupení jednotlivých složek. [11]

Instrumentace plynového chromatografu je následovná: zásobník s nosným plynem, čistící zařízení, dávkovací ventil, kolona, detektor a vyhodnocovací zařízení. Zásobník s nosným plynem je tlaková nádoba naplněná plynem, který musí být inertní vůči složkám. Většinou se používá například helium, vodík, dusík nebo případně argon. Volba plynu závisí na zvolené koloně a druhu detektoru. [9]

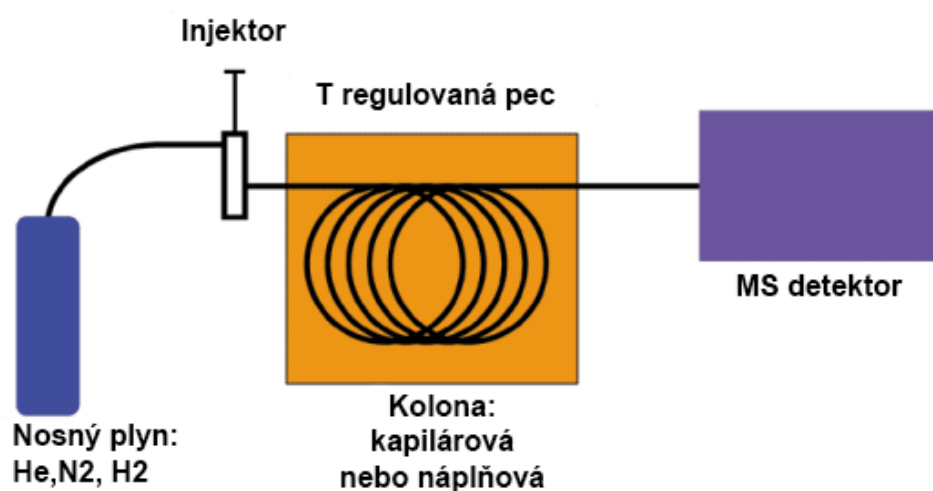
Injektor slouží k zavedení vzorku do proudu nosného plynu, musí zde ale dojít k odpaření vzorku a jeho převodu do plynné fáze v co nejkratším možném čase a bez chemické změny. Vpravení vzorku se nejčastěji provádí pomocí speciální injekční stříkačky. [12]

Existují dva druhy používaných kolon pro plynovou chromatografii, a to kapilární a náplňová. Kapilární kolony bývají zhotoveny z křemenného skla potažené polyimidem. Jejich průměr je 0,5mm a délka se pohybuje mezi 20 a 60 m. Stacionární fáze je na vnitřní straně kapiláry. Náplňové kolony jsou podstatně kratší než kolony kapilární. Jejich délka se pohybuje v rozsahu 1 až 3 m. Jejich průměr je ale oproti kolonám kapilárním větší (2 až 5 mm). Jedná se o trubice, které obsahují sorbent nebo nosič, který je pokrytý kapalnou fází. Materiál, ze kterého jsou náplňové kolony zhotoveny, většinou bývá nerezová ocel nebo skla. [12]

3.2.1.1 Detekce hmotnostní spektrometrií (MS)

Plynový chromatograf s hmotnostní spektrometrií představuje kombinaci vysoce účinné separační schopnosti plynové chromatografie s identifikačními možnostmi hmotnostní spektrometrií. Používá se pro identifikaci širokého spektra látek v rámci stanovovaného vzorku. GC-MS se skládá ze dvou hlavních částí: plynového chromatografu a hmotnostního spektrometru. [11]

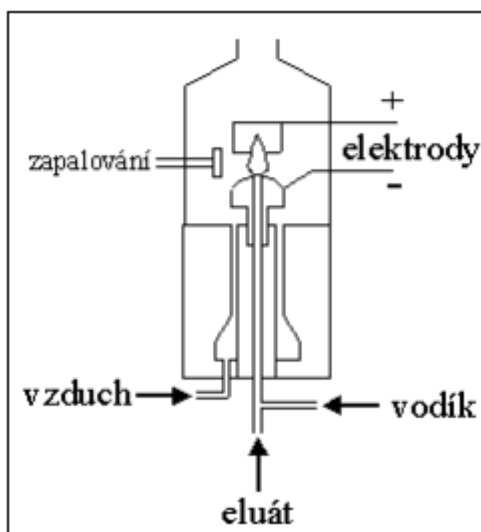
Hmotnostní spektrometrie je separační technika, která je založena na převádění vzorku na ionizovanou plynnou fázi. Takto vzniklé ionty separuje podle hodnoty podílu jejich hmotnosti a náboje. [9]



Obr. č. 15: Schéma GC/MS [61]

3.2.1.2 Plamenoionizační detektor (FID)

V plamenoionizačním detektoru dochází nejdříve ke spalování separovaných molekul plamenem, který vzniká hořením vodíku v syntetickém vzduchu. Vznikají tak částice schopné přenášet náboj mezi elektrodami. Vodík se směšuje s eluentem z GC kolony a hoří v malé trysce. Cylindrická elektroda obklopuje pláminek a mezi trysku a elektrodu je vloženo relativně vysoké napětí, které sbírá ionty formující se v plameni. V přítomnosti složky se zvýší ionizaci a elektrický proud se zvětší. Výsledný proud je zesílen vysokoimpedančním zesilovačem a na výstupu veden do data akvizice systému. Detektor vyžaduje z pravidla tři nezávislé plyny společně s jejich přesnou regulací. Obvykle se používají vodík pro hoření, helium nebo dusík jako nosný plyn protékající kolonou a dále pak kyslík nebo vzduch pro podporu hoření. Detektor je vybaven nezávislým vyhříváním. Odezva FID je na teplotě závislá jen minimálně, hlavním důvodem dostatečného vyhřívání detektoru je zabránit kondenzaci v detektorovém prostoru. Detektor je velmi citlivý na uhlovodíky. [9]



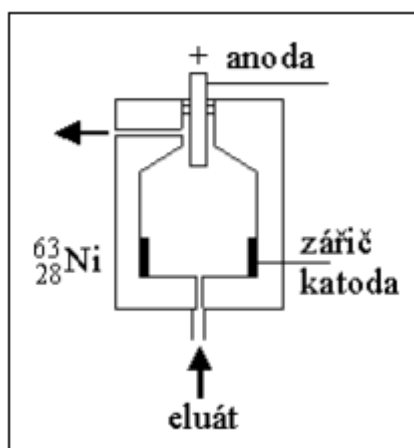
Obr. č. 16: Schéma plamenoionizačního detektoru [63]

3.2.1.3 Detektor elektronového záhytu (ECD)

Detektor elektronového záhytu ECD využívá principu, že vodivost plynů v ionizační komůrce se dramatickým způsobem mění přítomností nebo absencí kontaminujících látek v plynu. ECD sestává z ionizační komůrky obsahující radioaktivní zdroj β záření – nikl-63 (vyznačuje se dlouhou životností a stabilitou až do 450 °C) – a trysky přivádějící inertní plyn, obvykle dusík. β paprsky z ionizačního zdroje ionizují inertní plyn a vytváří tok volných elektronů. Ionizační cela je připojena ke zdroji nízkonapětového potenciálu. Vložený potenciál způsobí migraci volných elektronů k anodě, na které jsou sebrány, a výsledkem je ustanovení rovnoměrného

toku proudu. Pečlivým nastavením vloženého potenciálu se dosáhne ustanovení rovnovážného stavu, pomocí něhož všechny elektrony uvolněné v ionizačním procesu jsou sebrány na anodě. Mobilita volných elektronů je větší než pozitivně nabitých iontů, a proto než stačí dojít k rekombinaci, tak volné elektrony dospějí k anodě.

Proto je možné v komůrce v ustáleném stavu měřit konstantní proud. Prostor mezi zdrojem a anodou, ve kterém se pohybují volné elektrony, se nazývá jako oblast plazmy. [9]

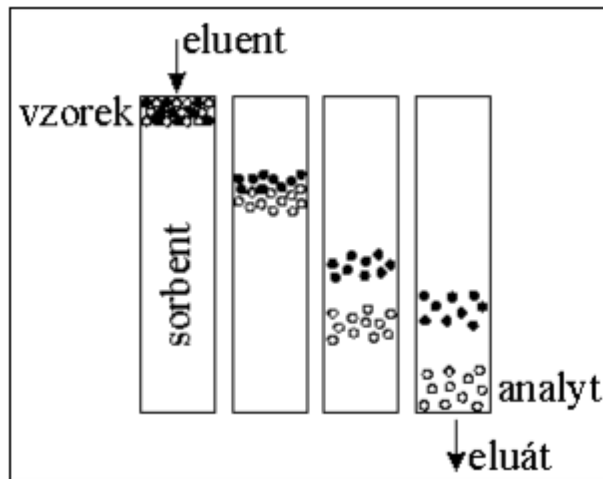


Obr. č. 17: Schéma detektoru elektronového záchytu [63]

3.2.2 Kapalinová chromatografie (LC)

Kapalinová chromatografie je separační metoda, která stejně funguje na stejném principu jako chromatografie plynová. Rozdílem zde je to, že jako mobilní fáze zde vystupuje kapalina. Rozdíl je zde i ve vlivu mobilní fáze na separaci složek. Na rozdíl od plynové chromatografie, zde mají vliv i interakce složek vzorku nejen se stacionární fází, ale i s fází mobilní. Čas, jaký stráví analyt v mobilní nebo stacionární fázi, závisí na afinitě analytu ke každé z nich. Rozlišujeme dva druhy kapalinové chromatografie, a to podle uspořádání stacionární fáze: kolonová a tenkovrstvá kapalinová chromatografie. [9][13]

Vysokoučinná kapalinová chromatografie (HPLC, High Performance Liquid Chromatography) je jedna z nejčastěji používaných separačních metod. Společným znakem všech technik HPLC je použití kapalně mobilní fáze, účinných kolon a vysokotlakých čerpadel. [14]



Obr. č. 18: Separace v HPLC [63]

HPLC instrumentace:

- Zásobník mobilní fáze
- Odplyňovač
- Programování gradientu
- Čerpadlo
- Dávkovací zařízení
- Kolona
- Detektor
- řídicí počítač

Využívá se zde nejčastěji bezpulzní čerpadlo se dvěma písty zapojenými sériově pro čerpání kapaliny do kolony. Ve většině případů se jako dávkovač využívá dávkovač obtokový, v němž je vzorek umístěn v kapilární smyčce kalibrovaného objemu, a do toku mobilní fáze se zařazují pomocí vícecestných ventilů. Materiálem, ze kterého se vyrábí pláště kolon, je nejčastěji nerezová ocel. Pro vhodný výběr mobilní fáze je teoreticky nutno brát v potaz hodnoty polarity a selektivity rozpouštědel. V praktickém použití je pak nadále nutno zohlednit i jejich viskozitu, mísitelnost, bod varu nebo brát v potaz typ zvoleného detektoru a k tomu i příslušné vlastnosti, které musí mobilní fáze splňovat (index lomu, hranici absorpce UV záření apod.). Detektor je zařízení, které převádí množství složky na elektrický signál. U HPLC se nejčastěji využívá detekce pomocí UV-VIS spekter. [14]

3.2.2.1 UV – VIS detektor

Patří k nejběžnějším detektorům. Měří absorbanci eluátu vycházejícího z kolony. Jednodušší detektory měří absorbanci při jedné vlnové délce. Složitější dovolují paralelní záznam několika vlnových délek, případně snímání UV-VIS spekter v průběhu analýzy. Detekce je selektivní, je však omezena na látky absorbující v dané vlnové délce. [9][14]

3.3 Migrační test

Jedná se o test prováděný v zařízeních na výrobu potravin, aby se zjistilo, zda se chemické látky přenášejí z balení potravin a výrobních zařízení do potravin.

Test migrace se provádí jako obecný a speciální test migrace na obalové materiály potravin, kuchyňské nádobí a stroje na zpracování potravin, které přicházejí do styku s potravinami. Neexistuje žádné omezení týkající se doby platnosti migračního testu pro balené potraviny. U biopotravin by to mělo být prováděno v určitých intervalech, u baleného produktu to však stačí udělat jednou. [84]

Migrace je přechod chemických látek do potravin prostřednictvím látek, které přicházejí do styku s potravinami. Potraviny vystavené migraci by měly být určeny dříve, než se dostanou ke spotřebiteli. Proto se určuje, zda chemické látky přecházejí do potravin, zejména na oblasti výroby nebo na obalech. [84]

Faktory ovlivňující migraci

- Kontaktní doba (1 hodina, 1 den, 1 rok...)
- Vlastnosti potravin (mastné, kyselé, suché)
- Kontaktní povrchová plocha (1 dm², 1 lt, 1 galon)
- Obsah, množství obalového materiálu (plast, silikon, přísada do plastu, změkčovadlo)
- Kontaktní teplota (například lednička, pokojová teplota, sterilizace, teplota vaření)
- Faktory ovlivňující migraci obalových materiálů

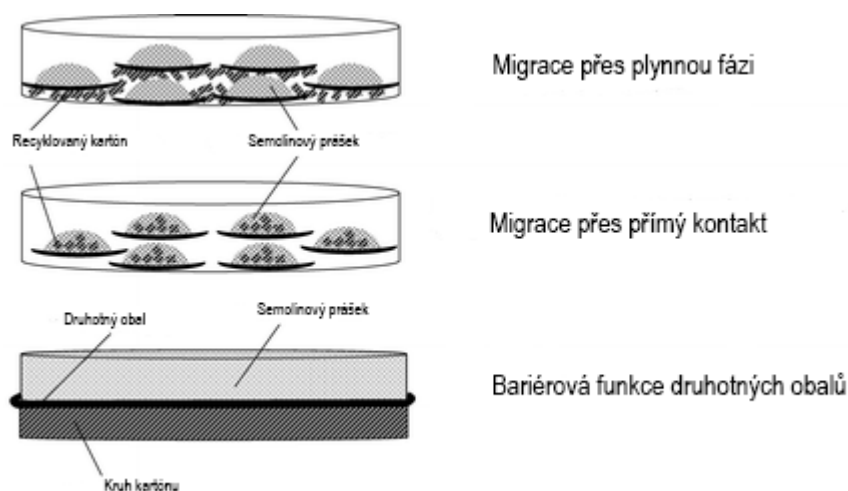
Obsah potraviny přímo ovlivňuje rozpustnost chemických látek v obalovém materiálu.

Chemická látka v obalu interaguje s potravinářskou látkou a reaguje za určitých teplotních podmínek. Pokud jsou obalové materiály skladovány za vhodných teplot a podmínek, nehrozí migrace. Spolu s obalovým materiálem ovlivňují migraci také kontaktní oblasti potravin. Při migraci je také důležitá doba kontaktu obalových materiálů a potravin.

Kontaktní migrace – zahrnuje přímý přenos látek z povrchu obalu, který je v kontaktu s potravinami, do potravin. Příkladem může být přenos látek z lepenkové krabice na pizzu na spodní stranu pizzy nebo přenos látek z plastové vany, podnosu, sáčku nebo balení do potravin. [18][84]

Migrace v plynné fázi – zahrnuje přenos těkavých látek vzdušným prostorem mezi potravinami a obaly a do potravin procesem difúze. Dobrým příkladem může být difúze minerálního oleje z recyklované papírové lepenky do pevných suchých potravin. Pamatujte, že v tomto případě může minerální olej potenciálně migrovat z kartonů, vzdušným prostorem, plastovým vnitřním vakem (s výhradou jeho bariérových vlastností) a druhým vzdušným prostorem do potravin. [18][84]

Penetrační migrace – zahrnuje přenos látek z nepotravinového (často potištěného nebo potaženého) povrchu obalu produktu přes substrát a na stranu obalu, která je v kontaktu s potravinami. Jakmile se dostanou na povrch přicházející do styku s potravinami, mohou být migrující látky přeneseny do potravin buď kontaktem, nebo migrací v plynné fázi. [84]



Obr. č. 19: Schéma migračního testování při 40 °C Petriho miskách [18]

4 STUDIE OBSAHU FTALÁTŮ V POTRAVINÁŘSKÝCH MATRICÍCH

Obecně byly DiBP, DnBP, BBzP a DEHP často detekovány v různých potravinách napříč studii monitorování potravin (> 50% detekce vzorků potravin v alespoň polovině studií), zatímco DEP, DMP, DnOP a DiNP měly nízký výskyt (0 - detekce 49 %). Na rozdíl od jiných

zemí byly DMP a DEP detekovány s vysokou frekvencí 82 %, respektive 81 %, ve vzorcích potravin na trhu v Číně, zatímco americká studie zjistila DEP v 57 % vzorků, na druhém místě za DEHP (74 %). [47][48]

Koncentrace pro DMP a DEP v těchto studiích však byly obecně nízké ve srovnání s jinými druhy ftalátů (<LOD - 25,98 µg/kg). Z omezených studií, které zkoumaly DiDP, bylo ve Spojeném království zjištěno, že pouze jeden vzorek ryb obsahoval hladiny nad detekčními limity. Díky analytickým metodám této konkrétní britské studie byly u DiNP a DiDP hlášeny vysoké hodnoty LOD (mez detekce) a LOQ (mez stanovení) v rozmezí od 42,6 do 9489,5 µg/kg a 28,2 až 6243,9 µg/kg, což vedlo k vysokým průměrným výpočtům koncentrací potravin. [49]

4.1 Potraviny s konzistentními zprávami o vysokých koncentracích ftalátů

4.1.1 Maso a masné produkty

Vyšetřovatelé primárně analyzovali hovězí, drůbeží a vepřové maso jak jednotlivě, tak v kombinaci i s jinými druhy mas. U drůbeží byly zjištěny všechny druhy ftalátů kromě DiDP. Více než polovina průměrných měření DEHP byla vyšší než 300 µg/kg, zatímco koncentrace ostatních ftalátů byly obecně nízké. Ve srovnání s jinými druhy masa byl obsah DEHP v hovězím masu proměnlivý a pohyboval se od limitu detekce ve vzorcích Spojených států po 1100 µg/kg v Kanadě. [47][50] Bylo zjištěno, že vepřové maso mělo detekovatelné hladiny DEHP ve všech hodnocených studiích kromě jedné a některá měření se blížila prahové hodnotě 300 µg/kg. Když byly masné výrobky analyzovány v kombinaci (hovězí, drůbeží, vepřové, jiné maso), většina průměrných koncentrací DEHP se přiblížila vysokým úrovním (175,8-758,3 µg/kg). Všechny ostatní druhy ftalátů byly hlášeny v nižších koncentracích. Je zajímavé, že kanadská studie uvádí vysoké koncentrace DnBP a DEHP v nezmrazených balených masných výrobcích, zatímco ve zmrazených potravinách nebyly zjištěny žádné druhy ftalátů. [50]

Tabulka č. 2: Vybrané druhy masa a masných výrobků

Produkt	Metoda	Extrakce	µg/kg				Zdroj
			DEHP	DiBP	BBP	DBP	
<i>Kuřecí</i>	LC-MS/MS	Ultrazvuková	420-450	-	0,200	3,725	[64][65]
<i>Vepřové</i>	LC-MS/MS	Ultrazvuková	620-800	-	-	-	[64]
<i>Klobásy</i>	GC/MS	SLE	<25	<1,5	-	-	[66]
<i>Plátkový salám</i>	GC/MS	SLE	117	4,2	-	-	[66]
<i>Plátková šunka</i>	GC/MS	SLE	<70	<4,0	-	-	[66]
<i>Hovězí</i>	GC/MS	SLE	LOD-1100	-	-	-	[47][50]

- nebylo stanovováno

4.1.2 Oleje a tuky

Všechny ftaláty byly detekovány v olejích a tucích, včetně másla, margarínu, kuchyňských olejů a živočišných tuků, jako je sádlo. Více než polovina průměrných koncentrací DEHP byla vysoká v rámci průzkumů v rozmezí od 404 do 5 591,7 µg/kg. Úrovně se lišily u DnBP a BBzP s nejvyššími průměrnými koncentracemi u kanadských vzorků 3 287,5 a 11 083 µg/kg [51]. Všechny ostatní druhy ftalátů byly pro tuto skupinu potravin nalezeny v nižších úrovních. Byly pozorovány výrazné rozdíly v koncentraci ftalátů u rostlinných olejů prodávaných v Itálii, které pocházejí z různých rostlinných zdrojů (olivový, slunečnicový, arašídový, kukuřičný nebo směsná semena) a v olejích, které prošly různým stupněm zpracování [67]. DINP, o kterém je známo, že nahradil DEHP v mnoha průmyslových aplikacích, byl mnohem vyšší než DEHP, DBP a DIBP v jedlých olejích zvažovaných ve studii. DINP byl nalezen na vysokých úrovních s procentním podílem od 57% (extra panenský olivový olej) do 95% (kukuřičný olej) z celkového obsahu ftalátů, následovaný DEHP, který byl přítomen od 3% v kukuřičném oleji po 37% v extra panenském olivový olej. Olivové oleje (extra panenský olivový olej, olivový olej a olivový olej z pokrutin) vykazovaly nejvyšší hladiny ftalátů, tj. DINP a DEHP. [67][68]

Tabulka č. 3: Vybrané druhy olejů

Produkt	Metoda	Extrakce	μg/kg			Zdroj
			DEHP	DiNP	DBP	
<i>Extra virgin olej</i>	GC/MS	LLE	1134	1722	90	[67]
<i>Slunečnicový olej</i>	GC/MS	LLE	134	971	35	[67]
<i>Kukuřičný olej</i>	GC/MS	Ultrazvuková	100	-	20	[68]
<i>Olivový olej</i>	GC/MS	Ultrazvuková	850	-	110	[68]
<i>Sezamový olej</i>	GC/MS	Ultrazvuková	290	-	80	[68]

- nebylo stanovováno

4.1.3 Mléčné výrobky: sýry, zmrzliny, smetana

Byly pozorovány vysoké koncentrace DEHP od 413,1 do 1300 μg/kg. Všechny ostatní ftaláty byly hlášeny na nižších úrovních. Ve srovnání s jinými mléčnými výrobky se měření zmrzliny a sýrů přiblížilo (a někdy překročilo) hranici 300 μg/kg. U sýrů byly všechny ftaláty kromě DnOP a DiDP detekovány s hladinami DEHP v rozmezí od 139,2 do 2270,6 μg/kg. [55]

Byly pozorovány vysoké koncentrace DEHP zejména ve výrobcích, které mají vyšší obsah tuku. Jak je možno vidět v tabulce níže, tak vysoké množství například obsahují smetany, které obsahují 35 % tuku. Dále je vhodné zmínit i to, že se liší množství DEHP u sýrů v různém stádiu zrání. U plně zralého sýru se hodnoty koncentrace DEHP mohou pohybovat v rozmezí 360-412 μg/kg, kdež to u sýrů, které vyzrálé nejsou, bývají tyto hodnoty nižší. [74]

Tabulka č. 4: Množství ftalátů ve vybraných druzích sýrů

Produkt	Metoda	Extrakce	μg/kg		Zdroj
			DEHP	DiBP	
<i>Tvrký sýr</i>	GC/MS	SLE	173	3,3	[66]
<i>Norský hnědý sýr</i>	GC/MS	SLE	124	5,4	[66]
<i>Smetana (35 % tuku)</i>	GC/MS	LLE	1060-1670	-	[73]
<i>Plně vyzrálý sýr (33 % tuku)</i>	GC/MS	SLE	360-412	20-23	[74]
<i>Čerstvý sýr (30 % tuku)</i>	GC/MS	SLE	731	22	[74]
<i>Sýr v polovině zrání (15 % tuku)</i>	GC/MS	SLE	530	36	[74]

- nebylo stanovováno

4.2 Potraviny s konzistentními zprávami o nízkých koncentracích ftalátů

4.2.1 Mléčné výrobky: jogurt, mléko, vejce

Mléčné výrobky s nízkou koncentrací zahrnovaly jogurt, mléko a vejce. Ve všech studiích byly ve vejcích s nízkými koncentracemi detekovány všechny ftaláty kromě DnOP, DiNP a DiDP. V jogurtových výrobcích byl detekován pouze DEHP, BBzP a DMP. Většina měření BBzP a DMP byla hlášena při nízkých průměrných koncentracích od limitu detekce po 8,4 μg/kg a limitu detekce po 11,7 μg/kg. Všechny druhy ftalátů kromě DiNP a DiDP byly detekovány v mléce v nízkých průměrných koncentracích (<50 μg/kg). [55]

Vzorky mléka z Norska získané v různých fázích sběru, zpracování a distribučního řetězce obsahovaly DEHP od 20 do 480 μg/kg a celkový obsah ftalátů od méně než 40 do 5120 μg/kg. Úrovně kontaminace se během přepravy ze skladovací nádrže do továrny nezvýšily. Zpracování mléka na výrobky od smetany po ostředěná mléka mělo nejvýznamnější účinek na hladiny DEHP, přičemž nejvyšší úrovně byly nalezeny ve šlehaných výrobcích a nejnižší úrovně ve světlém mléce.

Maloobchodní vzorky mléka a smetany získané ze Španělska vedly ke kontaminaci DEHP od méně než 10 do 550 μg/kg a celkovým obsahem ftalátů od méně než 40 do 3040 μg/kg ve vzorcích smetany. Ve Spojeném království vzorky mléka získané ze skleněných lahví pro podomní dodávku obsahovaly nízké hladiny DEHP (10–90 μg/kg) a celkový obsah ftalátů (60 až 320 μg/kg). [69][71]

Nejvyšší koncentrace ftalátů byly nalezeny v třešňových jogurtech, mezi ovocnými jogurty, zatímco banánové, jablečkové a broskvové jogurty obsahovaly těchto látek nejméně. U nehomogenizovaných jogurtů byly zjištěny nejvyšší koncentrace ftalátů. [72]

Tabulka č.5: Množství ftalátů ve vzorcích mléčných potravin

Produkt	Metoda	Extrakce	μg/kg				Zdroj
			DEHP	DiBP	BBP	DBP	
<i>Mléko (dojené ručně)</i>	GC/MS	SPME	<60	29	<10	<15	[69]
<i>Mléko (dojené přístrojem)</i>	GC/MS	SPME	123,5	15,1	14,3	ND	[69]
<i>Jogurt s ananovou příchutí</i>	GC/MS	LLE	47,6	-	<LOQ	3,1	[72]
<i>Jogurt s jahodovou příchutí</i>	GC/MS	LLE	184,5	-	0,5	25,8	[72]
<i>Sušené mléko v maloobchodě (plechovka)</i>	GC/MS	LLE	566	-	12	53	[70]
<i>Sušené mléko v maloobchodě (sáček)</i>	GC/MS	LLE	526	75	12	170	[70]

- nebylo stanovováno

4.2.2 Ovoce a zelenina

Denní konzumace zeleniny může představovat potenciální riziko pro lidské zdraví, protože půdní PAE by mohly rostliny přijímat a hromadit. [75] V Číně se průměrné koncentrace ftalátů, vztaženo na suchou rostlinnou hmotu, se pohybovaly v rozmezí od 128 do 2391 μg/kg pro DBP a od 654 do 1371 μg/kg pro DEHP v listech a kořenech těchto tří druhů. [76]

Příjem DBP i DEHP byl pozorován u tří druhů rostlin, přičemž celkové hladiny byly sledovány v pořadí mrkev > jahoda > salát. Rozdíly ve vychytávání ftalátů mezi rostlinnými druhy lze mimo jiné přičíst rozdílnému obsahu lipidů. V kořenech rostlin se akumulace DBP (1126–2712 μg/kg) zdála být vyšší než akumulace DEHP v mrkvi a jahodě a koncentrace DBP i DEHP v kořenech byly významně vyšší než v listech. Kořeny s vyšším obsahem lipidů než většina ostatních rostlinných tkání mohou přednostně akumulovat hydrofobní sloučeniny. [76]

Ačkoli všechny druhy ftalátů s výjimkou DiNP a DiDP byly zjištěny v ovoci a zelenině, koncentrace napříč studii byly obecně nízké. U čerstvé zeleniny se koncentrace DEP pohybovaly mezi detekčním limitem a 9 μg/kg a mezi detekčním limitem a 48,1 μg/kg v ovoci. U DMP dvě studie uváděly průměrné hladiny 10,3 a 13,5 μg/kg v plodech Číny a Francie

[48][52]. Jako celek byl obsah ftalátů u těchto skupin potravin uváděn při minimálních hodnotách. Koncentrace všech druhů ftalátů v několika naměřených vzorcích ovoce a zeleniny v konzervách byly srovnatelné s čerstvými produkty. Zelenina a ovoce nalezené ve sklenicích však byly významně vyšší než čerstvé produkty s koncentracemi 490,6 µg/kg v okurkách a 181,7 µg/kg u džemů a želé. [50]

Tabulka č. 6: Množství ftalátů ve vzorcích ovoce a zeleniny

Produkt	Metoda	Extrakce	µg/kg			Zdroj
			DEHP	DEP	DBP	
<i>Zelí</i>	GC/MS	SLE	0,14	-	0,11	[50]
<i>Banán</i>	GC/MS	SLE	ND	-	0,12	[50]
<i>Ananas</i>	GC/MS	SLE	ND	ND	0,05	[50]
<i>Borůvky</i>	GC/MS	SLE	ND	0,73	0,09	[50]

- nebylo stanovováno; ND – nebylo detekováno

4.2.3 Nápoje a voda

Jako celek měly nápoje a voda nízké hladiny ftalátů. Byly zkoumány migrace DMP, DBP, DEP, BBP a DEHP v PET lahvových nealkoholických nápojích a minerálních vodách s různým pH a typem použitého konzervačního prostředku (benzoan sodný a / nebo sorbát draselný). [77] Vypozorováno bylo, že migrace ftalátů z PET lahví na nealkoholický nápoj byla 5 až 40krát vyšší než u minerálních vod. Nejprve byly hladiny ftalátů v minerální vodě bez konzervačních látek nízké (20,22 µg/L) v důsledku slabé kyselosti (pH = 5,8) minerální vody. Silná kyselost (pod pH = 3) nealkoholických nápojů zvýšila migraci ftalátů. Nejvyšší hladiny ftalátů byly nalezeny v nealkoholických nápojích s K-sorbanem (819,40 µg/L), následovaných jeden a půlkrát nižšími hladinami v nápojích konzervovaných Na-benzoátem a K-sorbanem (116,93 µg/L), sedmkrát nižší hladiny v nápojích s Na-benzoátem a devětkrát nižší v nápojích konzervovaných kyselinou ortofosforečnou (91,67 µg/L). DMP byl nalezen na nejvyšší úrovni migrace do nápojů, zatímco všechny ostatní ftaláty byly měřeny v úrovních nižších než 19 %. Byly také pozorovány vysoké koncentrace DEHP a DBP. [78]

Vliv typu konzervačních látek a doby skladování byl zkoumán také ve studii, která studovala kontaminaci ftalátů různých značek nápojů získaných z různých místních trhů v Turecku. Průměrná koncentrace ftalátů byla mezi 95 a 633 µg/L v sodě (s příchutí pomeranče), 18 a 1219

µg/L v limonádě, 19 a 1123 µg/L v cole a 85 až 312 µg/L v minerálech voda. Hladina DMP se pohybovala od 74 µg/L (soda s pomerančovou příchutí) do 105 µg/L (cola). DEHP vykazoval nejvyšší úroveň migrace do nealkoholických nápojů s průměrnou koncentrací mezi 248 µg/L (minerální voda) až 1123 µg/L (cola). DBP byl nalezen v koncentracích mezi 91 µg/L (soda s pomerančovou příchutí) a 367 µg/L (cola). Celkové množství ftalátů také rostlo s prodlužováním doby trvání kontaminace. [78] Nejvyšší průměrné koncentrace byly také pozorovány u DnBP v čínském pivu (155,8 µg/kg) a DEHP v kanadském džusu (183 µg/kg) [48][50]. Jedna studie uváděla jak vodu z vodovodu, tak balenou vodu a ukázala srovnatelné hladiny ftalátů s nejvyššími pro DEHP (12 µg/kg) [53].

Tabulka č. 7: Množství ftalátů ve vzorcích nápojů

Produkt	Metoda	Extrakce	µg/kg				Zdroj
			DEHP	DMP	DEP	DBP	
<i>Voda v PET lahvi</i>	GC/MS	SPE	0,196	-	0,432	0,046	[79]
<i>Soda s pomerančovou příchutí</i>	GC/MS	LLE	-	74	91	-	[78]
<i>Cola</i>	GC/MS	LLE	1123	105	-	-	[78]
<i>Minerální voda</i>	GC/MS	LLE	8,79	ND	-	9,00	[77]
<i>Sportovní nápoje</i>	GC/MS	LLE	15-98	-	-	-	[78]

- nebylo stanovováno; ND – nebylo detekováno

4.3 Potravinové zprávy o různých koncentracích ftalátů

4.3.1 Mořské plody

Všechny druhy ftalátů byly detekovány v mořských plodech obecně v nízkých koncentracích, ačkoli DEHP byl nalezen na různých úrovních. Koncentrace byly zjištěny od minima 13 µg/kg v souhrnných vzorcích ryb a mořských plodů z Evropy, Severní Ameriky a Asie až po úroveň až 928,6 µg/kg ve vzorcích zmrazených ryb z Kanady. [50]

Několik studií však zkoumalo kontaminaci ftaláty a zbytky insekticidů v krevetách. Zjistilo se například rozmezí koncentrací DEHP v několika vzorcích krevet a to 0,02-0,70 mg/kg. [80]

Nejvyšší koncentrace DEHP ve vzorcích ryb byla zjištěna u *Liza subviridis* (253,9 mg/kg) a tlamouna nilského (129,5 mg/kg). DEHP u *L. subviridis* a tlamouna nilského byly vyšší než u

jiných druhů ryb, což naznačuje, že životní návyky ryb a fyzikálně-chemické vlastnosti ftalátů mohou ovlivnit biologickou dostupnost ftalátů v rybách. Data naznačují, že hladina DEHP v rybách byla ovlivněna stanovištěm ryb a fyziologickými vlastnostmi znečištěných kontaminujících látek. [81]

Tabulka č. 8: Vybrané vzorky mořských plodů

Produkt	Metoda	Extrakce	μg/kg				Zdroj
			DEHP	DEP	DMP	DBP	
<i>Krevety bílé</i>	LC-MS/MS	Ultrazvuková	0,45±0,01	-	-	-	[80]
<i>Travní krevety</i>	LC-MS/MS	Ultrazvuková	0,50±0,01	-	-	-	[80]
<i>Tlamoun nilský</i>	GC/MS	ASE	129,5	0,110	0,026	0,225	[81]
<i>Pražman černý</i>	GC/MS	ASE	7,7	0,33	<0,05	0,24	[81]
<i>Ostropysk podivný</i>	GC/MS	ASE	0,57	ND	ND	0,79	[81]
<i>Liza subviridis</i>	GC/MS	ASE	253,9	0,052	0,267	0,098	[81]

- nebylo stanovováno; ND – nebylo detekováno

4.3.2 Hladiny DEHP v koření

Koření, analyzované ve směsi, se lišila mezi třemi studii s nejvyšší koncentrací udávanou na 2 598 μg/kg. Ve stejné studii koncentrace DiBP, DnBP a BBzP rovněž překročily migrační limit 300 μg/kg, avšak hladiny ve dvou dalších studiích byly u těchto konkrétních druhů ftalátů nízké. [50][53][54]

V dalších studiích, které se například zabývaly kořením pocházejícím z Itálie a Tunisu. 18 ftalátů a residuí bylo stanovováno v 10 různých tuniských a italských kulinářských bylinách a kořeních (černý pepř, máta, kmín, koriandr, oregano, rozmarýn, tymián, fenykl, verbena a vavřín). Di-methylftalát, di-propylftalát, a di-fenylftalát byly nižší než jejich LOQ ve všech 118 vzorcích. Z tuniských vzorků byl ve všech typech vzorků nalezen di-(2-ethylhexyl)ftalát a v 50% typů di-butylftalát; všechny ostatní ftaláty byly přítomny ve velmi nízkých koncentracích. Di- (2-ethylhexyl) tereftalát byl nalezen ve všech typech vzorků. Ze sicilských

vzorků byly di-ethylftalát a di-(2-methylpropyl) ftalát detekovány pouze ve vzorcích máty; di-butylftalát a benzylbutylftalát byly identifikovány v oreganu a vavřínu; di-(2-ethylhexyl)tereftalát pouze v oreganu. Výsledky každopádně naznačují, že příjem těchto kontaminujících látek kořením a bylinkami nepředstavuje pro spotřebitele nebezpečné riziko. Pravděpodobně, jak již bylo pozorováno u ostatních potravin, by tyto kontaminanty mohly být důsledkem znečištění životního prostředí (ovzduší, vody a / nebo půdy) nebo zemědělských metod. [82]

Tabulka č. 9: Vybrané druhy koření

Produkt	Metoda	Extrakce	µg/kg			Zdroj
			DEHP	DEP	DBP	
<i>Černý pepř</i>	GC/MS	SLE + SPE	1,18	0,54	0,24	[82]
<i>Koriandr</i>	GC/MS	SLE + SPE	0,75	-	-	[82]
<i>Rozmarýn</i>	GC/MS	SLE + SPE	1,18	2,17	0,67	[82]
<i>Oregáno</i>	GC/MS	SLE + SPE	0,87	-	-	[82]
<i>Aloisie citronová</i>	GC/MS	SLE + SPE	0,8	-	0,14	[82]

- nebylo stanovováno

4.4 Analýza vzorků z belgického trhu

Tato analýza se zabývala potravinovými produkty a obalovými materiály, které byly volně dostupné na belgickém trhu. Zakoupeno bylo mnoho různých vzorků, které pokrývaly široké spektrum prodáváného sortimentu jako například mléčné produkty, ovoce, zelenina, dětská výživa, nápoje a také obalové materiály. Tyto vzorky se poté následně podrobily analýze na přítomnost ftalátů. [16]

4.4.1 Výsledky a jejich vyjadřování

Koncentrace ftalátů ve vzorcích potravin a nápojů byla vyjadřována jako mikrogramy na kilogram hmotnosti čerstvé potraviny nebo nápoje (µg/kg fresh weight) a jako nanogramy na centimetry čtverečné (ng/cm²) u obalových materiálů. U potravin s vysokým obsahem tuku se výsledky vyjadřovaly jako µg/kg tuku a přepočítávaly se na µg/kg hmotnosti čerstvé potraviny. [16]

Výsledky analýzy byly zpracovány do tabulky, kde je možné vidět počet pozitivních výsledků na jednotlivé druhy ftalátů u každé z testovaných skupin (viz tabulka č. 10). Nejvíce pozitivních výsledků vykazoval ftalát DEHP, který byl přítomen v 81 % všech vzorků, dále za ním byl DiBP se 75 %, DnBP se 69 % a BBP s 58 %. [16]

Tabulka č. 10: Počet pozitivních výsledků ftalátů ve vybraných skupinách analyzovaných vzorků [16]

Skupina	µg/kg							
	DMP	DEP	DiBP	DnBP	BBP	DEHP	DCHP	DnOP
<i>Ovoce/zelenina (27)</i>	11	4	18	21	11	13	2	6
<i>Mléko, mléčné výrobky (56)</i>	2	11	43	43	15	52	30	3
<i>Kojenecká výživa (17)</i>	4	9	17	17	15	16	6	10
<i>Obalové materiály (12)</i>	3	7	10	10	10	12	6	2
<i>Celkem (400)</i>	128	127	299	275	233	323	97	88
<i>Celkem [%]</i>	32	32	75	69	58	81	24	22

U všech analyzovaných skupin potravin, nápojů a obalových materiálů převažoval nejvíce ftalát DEHP, a to bez ohledu na skutečnost, že u některých konkrétních skupin potravin byly pozorovány vysoké koncentrace i jiných ftalátů. Dále stojí za zmínku, že byly detekovány vysoké koncentrace DEP a DiBP v obilovinách a jejich produktech, a to konkrétně v rýži a těstovinách. Zato u dětské výživy a vodných nápojů byly zjištěny nejmenší koncentrace ftalátů. U obalových materiálů, zejména u krabicových materiálů, převládalo zastoupení DiBP. Což se ale očekávalo, jelikož se tento ftalát často používá jako aditivum do tiskařských inkoustů.[16]

Tato analýza provedla testování u více než 400 vzorků z belgického trhu, které byly zakoupeny v rozmezí jednoho roku. I přesto, že se za použití GC-EI-MS povedlo stanovit většinu hledaných ftalátů, u některých potravin tomu bohužel nebylo možné. Například u vzorků piva docházelo k nepříznivým vlivům a interferencím matice. Díky tomu nebylo možné jednoznačně identifikovat a kvantifikovat ftalátové sloučeniny jako byly BBP, DEHP nebo DCHP. [16]

4.5 Analýza a migrace ftalátů v kojeneckých potravinách balených v recyklovaných kartónech

Tato studie se zabývala analýzou a migrací ftalátů ze vzorků kojeneckých potravin, které byly balené v recyklovaných kartónech, jelikož jsou kojenci citlivější na různé chemikálie než dospělí. A jinak tomu není ani u ftalátů a jejich nežádoucích účinků.

Doposud nebylo používání recyklovaných papírových obalů nijak regulováno, přesto že existují normy a předpisy, které hovoří o nařízeních pro materiály, které přicházejí do styku s potravinami. Jedním z těchto nařízeních je ES 1935/2004. Podle článku 3 toho nařízení by materiály, které přichází do styku s potravinami, měli být zpracovány tak, aby neuvolňovaly své složky do potravin v množství, které by mohlo být škodlivé lidskému zdraví. Existují i podrobnější konkrétní migrační limity pro kontaminující látky v potravinách. Ty jsou uvedeny v různých směrnících, které platí hlavně pro plastové materiály a předměty.[19][20]

Dle publikovaných hodnot tolerovatelného denního příjmu esterů ftalátů se, proto pro kojeneckou výživu uvádí migrační limity 0,5 mg/kg (DiBP). [19]

4.5.1 Výsledky a zhodnocení

4.5.1.1 Analýza GC-MS

Známým fenoménem týkajícím se analýzy GC-MS je zesílení odezvy vyvolané matricí, které je převážně pozorováno při stanovení semipolárních sloučenin v potravinových matricích. Podobně předběžné experimenty v této práci také ukázaly účinky zesílení matrice až o 600 % pro analýzu ftalátů ve vzorcích kojenecké výživy. Rozsah této zvýšené citlivosti se u každého ftalátu silně lišil v závislosti na lipofilním charakteru a vlastnostech vyplňování prostoru molekulární struktury odpovídajícího ftalátu. Proto je pro dosažení přesných výsledků absolutně nezbytné použití deuterovaných standardů pro každý ftalát, který má být kvantifikován. [18]

V této práci bylo analyzováno 20 vzorků kojenecké výživy metodou plynové chromatografie spojené s detekcí hmotnostním spektrometrem. Dále byly testovány i obaly v nichž byly vzorky prodávány. Tyto obaly byly z recyklovaného kartónu a byly testovány na estery ftalátů a DIPN, o nichž je známo, že jsou přítomny jako kontaminanty v recyklovaných vláknitých materiálech. Téměř ve všech kartónech byla zjištěna přítomnost ftalátových esterů DiBP, DnBP, BBP a DEHP. Tři z uvedených esterů ftalátů a to DiBP, BBP a DEHP byly také zjištěny téměř ve všech vzorcích potravin s výjimkou jednoho. Dále bylo 40 % vzorků potravin kontaminováno DINP. Podrobnější přehled je uveden v tabulce č. 11. [18]

4.5.1.2 Migrační test

Aby byl migrační test co nejvíce autentický a relevantní zejména pro tento druh potravinářské matrice, tak se jako testovací medium použilo samotné jídlo. Podmínky byly zvoleny tak, aby odpovídali předpokládané době skladování a to 2 měsíce s mírní zvýšenou teplotou (40 °C) pro vytvoření simulace toho nejhoršího scénáře. [18]

Je prokázáno, že proces migrace ftalátů probíhá poměrně rychle. Z výsledků bylo možné vidět, že ftaláty DiBP a DnBP dosáhly rovnováhy odpovídající nasycení potravinové fáze již po 1 týdnu. Je třeba poznamenat, že v tomto případě migrační potenciál ftalátů do potravin nezávisí hlavně na jejich lipofilním charakteru představovaném koeficienty oktanol-voda. Postup migrace spíše závisí na difúzních koeficientech a rozdělovacích koeficientech, které zohledňují specifické parametry materiálu, jako je pórovitost obalu a rozměr molekuly ftalátu. [18]

Je patrné, že pouze DiBP a DnBP vykazaly konstantní nárůst koncentrace ve vzorcích potravin, a to s maximálními hodnotami migrace 17,9 % (DiBP) a 10,7 % (DnBP). Odpovídající hodnoty migrace pro ftaláty DEHP a DOP byly po dobu 2 měsíců pod 1 %. Zdá se tak, že by samotná plynná fáze proto mohla fungovat jako migrační bariéra, když vezmeme v úvahu méně těkavé ftaláty. [18]

Je třeba také poznamenat, že proces migrace v třífázovém systému je zcela odlišný od prvního experimentu. U ftalátů DiBP a DnBP probíhá migrace lineárně bez dosažení rovnováhy podle kinetiky reakce nultého řádu. Ftaláty DiBP a DnBP se kontinuálně vypařují do plynné fáze, kde lze jejich koncentrace považovat za konstantní po dobu 2 měsíců. Jejich koncentrace v potravinách se však zvyšují s dobou skladování v důsledku adsorpce a rozdělování do potravin.

Je zřejmé, že papír není vhodnou bariérou pro přenos ftalátů z kartónu do potravin. V grafu je zřetelně vidět, že hodnoty migrace pro DiBP a DnBP jsou asi 6 a 5 % pro papírové obaly. K migraci BBP, DEHP a DOP dochází opět jen v menší míře.

Tyto výsledky potvrzují údaje z analýzy 20 vzorků kojeneckých potravin, kde pouze potraviny zabalené v papírových pytlích byly vysoce kontaminovány DiBP, DnBP a DIPN. Lze dojít k závěru, že papír neposkytuje vhodnou bariéru pro přenos nepolárních a těkavých látek zabudovaných do lepenky do suchých, a dokonce nemastných potravin. [18]

4.6 Potraviny z japonského trhu

Autoři provedli studii ke stanovení denního příjmu ftalátů v Japonsku pomocí duplikované dietní studie založené na jídlech získaných z nemocnic a balených obědech v samoobsluhách v roce 1999. Účelem této studie je zjistit přítomnost nebo nepřítomnost kontaminace potravin ftaláty. Byly stanovovány 4 různé zástupci a to di-n-butyl ftalát, n-butylbenzyl ftalát, di(2-ethylhexyl) ftalát a diisononyl ftalát. Tato změkčovadla byla v předchozí studii často detekována v potravinách nebo byla často přidávána do materiálů sloužících k balení potravin v Japonsku. Vzorky byly zakoupeny v obchodních řetězcích v oblasti Kinki v Japonsku, a to v období od srpna 2000 do února 2001. Jednalo se o vzorky nápojů (jako je saké, víno nebo pivo), olejů, mléčných produktů, kojenecké výživy nebo například instantních jídel. [46]

4.6.1 Výsledky a zhodnocení

Celkem 10 změkčovadel bylo dobře stanoveno za podmínek GC / MS popsaných výše. Ftaláty, které poskytly více než jeden píky, byly kvantifikovány součtem plochy píku. Byly k dispozici stabilní izomery DBP, BBP, DEHP a pro DINP byl použit di-n-nonylftalát (DNP-d4), protože nebyl k dispozici deuterovaný izomer DINP.

U celkem 10 druhů vzorků potravin byla zjištěna přítomnost ftalátů a výsledky jsou uvedeny v tabulce č. 12. Obsažené množství ftalátů pro každou potravinu bylo odlišné.

Tabulka č. 12: Množství ftalátů pro vybrané potraviny [46]

Obsažené množství [μg]					
Vzorky	Váha vzorku [g]	DBP	BBP	DEHP	DINP
Kojenecká výživa	50	96,3	98,4	101,6	124,6
Saké	100	99,7	98,1	98,4	103,7
Víno	100	93,4	92,3	91,8	101,1
Pivo	20	82,2	94,7	100,3	100,9
Máslo	2	96,0	94,3	92,4	117,9
Rostlinný olej	2	101,0	101,3	100,6	110,1
Instantní jídlo	20	98,7	99,1	102,0	105,4

Bylo zjištěno, že jednorázový příjem DEHP z jednoho ze vzorků dětské výživy s retortovým pouzdrém byl 39,5 μg/kg tělesné hmotnosti, což je velmi podobné japonskému TDI 40 μg/kg tělesné hmotnosti. U ostatních ftalátů nebylo v této studii pozorováno celkem více než 2 μg/kg tělesné hmotnosti na jednorázový příjem. Tuk a olej se obvykle nespotřebovávají ve vysokých jednorázových množstvích, a proto je pravděpodobné, že příjem kontaminantů v nich nebude působit problém i přes jejich vyšší úroveň kontaminace. Závěrem lze říct, že ftaláty v japonských maloobchodních potravinách byly stanoveny metodou GC / MS. Průzkum 93 vzorků ukázal, že vzorek dětské výživy s retortovým pouzdrém byl kontaminován DEHP na japonské úrovni TDI. Koncentrace DEHP a dalších ftalátů v ostatních studovaných potravinách byly ve srovnání s jejich TDI nebo NOAEL poměrně nízké. [46]

5 ZÁVĚR

Tato bakalářská práce se zabývala působením esterů kyseliny ftalové, zejména di-(2ethylhexyl) ftalátu a jejich vlivu na lidských organismus či životní prostředí. V každodenním životě se s ftaláty můžeme setkat snad ve všech materiálech, které jsou vyrobeny z polyvinylchloridu, jelikož se tyto sloučeniny využívají díky svým vlastnostem jako změkčovadla PVC nebo jako přísady tiskařských inkoustů.

Při dlouhé expozici ftaláty byla v minulosti prokázána celá řada nežádoucích účinků, které jsou v této práci sepsány. Jelikož se ftaláty používají i například v obalech pro kojeneckou výživu, jedná se o značné riziko pro kojence, jelikož jsou náchylnější na chemické sloučeniny a do jejich těla bude v pravěna koncentrace vyšší, jelikož mají malou tělesnou hmotnost. Proto je důležité kontrolovat a regulovat obsah ftalátů v těchto materiálech a upravovat tolerovaný denní příjem pro kojence, aby nedocházelo ke zbytečné expozici ftaláty, které mohou narušit vývoj kojence nebo nějakým způsobem poškodit jejich orgány.

V této bakalářské práci jsou zahrnuty studie, které se zabývaly obsahy ftalátů v jednotlivých druhých potravin od masa, přes ovoce a zeleninu až po koření. Z těchto studií vyplývá to, že nejvíce ftalátů bylo možné pozorovat v potravinách, které obsahují velké množství tuku jako jsou například mléčné nebo masné výrobky. Nejméně ftalátů bylo možno pozorovat u ovoce a zeleniny. Tyto potraviny přichází do styku s obalovými materiály velice zřídka, či jen na krátkou dobu, takže možná migrace ftalátů z těchto obalů do potravin je velice nízká. Za to je možná kontaminace díky znečištěné vodě či půdě.

V této bakalářské práci jsou zahrnuty i tři studie spojené s analýzami vzorků z volného trhu. Jedna se zabývala vzorky, které byly na koupeny na belgickém trhu. Bylo zde zakoupeno 400 vzorků různorodých potravin od ovoce, zeleniny, přes mléko, pivo nebo například cereálie. Tyto vzorky byly podrobeny analýze na ftaláty. Tato analýza byla provedena za pomoci plynové chromatografie spojené s hmotnostní spektrometrií s nízkým rozlišením. Ze 400 vzorků poskytlo pozitivní reakci 81 % z nich na DEHP a 75 % na DiBP. Dále stojí za zmínku, že byly detekovány vysoké koncentrace DEP a DiBP v obilovinách a jejich produktech, a to konkrétně v rýži a těstovinách. Zato u dětské výživy a vodných nápojů byly zjištěny nejmenší koncentrace ftalátů. U obalových materiálů, zejména u krabicových materiálů, převládalo zastoupení DiBP. Což se ale očekávalo, jelikož se tento ftalát často používá jako aditivum do tiskařských inkoustů.

I přesto, že se za použití GC-EI-MS povedlo stanovit většinu hledaných ftalátů, u některých potravin tomu bohužel nebylo možné. Například u vzorků piva docházelo k nepříznivým vlivům a interferencím matice. Díky tomu nebylo možné jednoznačně identifikovat a kvantifikovat ftalátové sloučeniny jako byly BBP, DEHP nebo DCHP.

Další ze zahrnutých studií je zde analýza a migrace ftalátů v kojeneckých potravinách balených v recyklovaných kartónech. Zde bylo zakoupeno 20 vzorků z maloobchodních řetězců v Berlíně. Jednalo se o vzorky kojenecké výživy, která byla balená v recyklovaných kartónech. Tyto vzorky se podrobily dvěma analýzám. Jedna z nich sloužila ke zjištění množství ftalátů v této výživě a druhá sledovala migraci ftalátů z obalů do potravin. Při vlastní analýze ftalátů se využila zase plynová chromatografie s detekcí pomocí hmotnostního spektrometru. Tyto obaly byly z recyklovaného kartónu a byly testovány na estery ftalátů a DIPN, o nichž je známo, že jsou přítomny jako kontaminanty v recyklovaných vláknitých materiálech. Téměř ve všech kartónech byla zjištěna přítomnost ftalátových esterů DiBP, DnBP, BBP a DEHP. Tři z uvedených esterů ftalátů a to DiBP, BBP a DEHP byly také zjištěny téměř ve všech vzorcích potravin s výjimkou jednoho. Dále bylo 40 % vzorků potravin kontaminováno DINP. Dále zde jsou výsledky migračního testu, který se snaží s co největší autentičností sledovat přechod ftalátů z obalů do potravin, a to zejména jejich koncentraci v závislosti na čase. Proběhly zde testy přes přímý kontakt nebo například test v třífázovém systému. Tyto výsledky potvrzují údaje z analýzy 20 vzorků kojeneckých potravin, kde pouze potraviny zabalené v papírových pytlích byly vysoce kontaminovány DiBP, DnBP a DIPN. Lze dojít k závěru, že papír neposkytuje vhodnou bariéru pro přenos nepolárních a těkavých látek zabudovaných do kartónu do suchých, a dokonce nemastných potravin.

6 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] Martino-Andrade, Anderson & Chahoud, Ibrahim. (2012). Phthalates: Chemical properties, impacts on health and the environment. Phthalates: Chemical Properties, Impacts on Health and the Environment. 197-209.
- [2] The Danish EPA. Phthalate Strategy. Copenhagen, Denmark. 2012.
- [3] Ursel Heudorf, Volker Mersch-Sundermann, Jürgen Angerer, Phthalates: Toxicology and exposure, International Journal of Hygiene and Environmental Health, Volume 210, Issue 5, 2007, Pages 623-634, ISSN 1438-4639
- [4] Phthalates: metabolism and exposure. International journal of andrology. 2007, 51(7), 899-911. ISSN 0105-6263. Dostupné z: doi:10.1002/mnfr.200600243
- [5] SÝKORA, V. Chemickoanalytické tabulky. 1. vydání. Praha: SNTL, 1976. 282 s
- [6] Integrovaný registr znečišťování [online]. 2009 [cit. 2011-05-03]. DEHP. Dostupné na <<http://irz.cz/irz/new/search/node/dehp>>
- [7] ČSN EN ISO 18856 (757587): Jakost vod – Stanovení vybraných ftalátů. Praha: Český normalizační institut, 2006. 36 s.
- [8] POUSTKA J., HOLADOVÁ K., HAJŠLOVÁ J: Aplikační možnosti superkritické fluidní extrakce v reziduální analýze, Sborník přednášek, Kontaminace potravních řetězců, Milovy 1994
- [9] KLOUDA, P. Moderní analytické metody. Ostrava: Pavel Klouda, 2003. 132 s. ISBN 80-86369-07-2
- [10] COUFAL, P. Univerzita Karlova v Praze: Přírodovědecká fakulta [online]. 28.7.2004 [cit.2011-05-01]. Domovská stránka – Pavel Coufal. Dostupné na <<http://web.natur.cuni.cz/~pcoufal/>>
- [11] DOUGLAS, F. GC/MS Analysis. Scientific Testimony [online]. 11/07/08, 5, [cit. 2011-05-01]. Dostupný na: <<http://www.scientific.org/tutorials/articles/gcms.html>>
- [12] MOTYKA, K.; HLAVÁČ, J. Stručný přehled separačních metod. Olomouc: Univerzita Palackého, 2009. 45 s. ISBN 978-80-244-2304-3.
- [13] SOMMER, L. Základy analytické chemie II. Brno: VUTIUM, 2000. 347 s. ISBN 80-214-1742-0
- [14] JULÁK, J. Identifikace bakterií metodami instrumentální chemické analýzy. Praha: Karolinum, 1998. 195 s. ISBN 382-141-97
- [15] <https://www.bgb-info.com/home.php?cat=5059>

- [16] T. Fierens, K. Servaes, M. Van Holderbeke, L. Geerts, S. De Henauw, I. Sioen, G. Vanermen, Analysis of phthalates in food products and packaging materials sold on the Belgian market, *Food and Chemical Toxicology*, Volume 50, Issue 7, 2012, Pages 2575-2583, ISSN 0278-6915, <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.04.029>.
- [17] Thomas Kraemer, Hans H. Maurer, Chapter 8 Non-opioid analgesics, Editor(s): M.J. Bogusz, *Handbook of Analytical Separations*, Elsevier Science B.V., Volume 6, 2008, Pages 319-356, ISSN 1567-7192, ISBN 9780444522146, [https://doi.org/10.1016/S1567-7192\(06\)06008-6](https://doi.org/10.1016/S1567-7192(06)06008-6).
- [18] Analysis and Migration of Phthalates in Infant Food Packed in Recycled Paperboard
Sonja Gärtner, Matthias Balski, Matthias Koch, and Irene Nehls, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2009 57 (22), 10675-10681, DOI: 10.1021/jf902683m
- [19] EC Regulation 1935/2004 of the European Parliament and the Council of 27 October 2004 on materials and articles intended to come into contact with food and repealing directives 80/590/EEC and 89/109/EEC. *Off. J. Eur. Union* 2004, L 338, 4-17
- [20] EC Commission Directive 2002/72/EC (with amendments) relating to plastic materials and articles intended to come into contact with foodstuff. *Off. J. Eur. Union* 2002, L 39, 1-42.
- [21] National Center for Biotechnology Information (2021). PubChem Compound Summary for CID 3026, Dibutyl phthalate. Retrieved July 10, 2021 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Dibutyl-phthalate>.
- [22] Gray LE Jr, Ostby J, Furr J, Price M, Veeramachaneni DN, Parks L. Perinatal exposure to the phthalates DEHP, BBP, and DINP, but not DEP, DMP, or DOTP, alters sexual differentiation of the male rat. *Toxicol Sci.* 2000 Dec;58(2):350-65. doi: 10.1093/toxsci/58.2.350. PMID: 11099647.
- [23] Main KM, Mortensen GK, Kaleva MM, Boisen KA, Damgaard IN, Chellakooty M, Schmidt IM, Suomi AM, Virtanen HE, Petersen DV, Andersson AM, Toppari J, Skakkebaek NE. Human breast milk contamination with phthalates and alterations of endogenous reproductive hormones in infants three months of age. *Environ Health Perspect.* 2006 Feb;114(2):270-6. doi: 10.1289/ehp.8075. PMID: 16451866; PMCID: PMC1367843.
- [24] National Center for Biotechnology Information (2021). PubChem Compound Summary for CID 2347, Benzyl butyl phthalate. Retrieved July 10, 2021 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Benzyl-butyl-phthalate>.
- [25] Sdělení Komise o výsledcích hodnocení rizik a strategiích omezování rizik pro látky: BBP, Furfural, peroxiboritan sodný (2008/C149/04) Benzyl Butyl Phthalate (BBP) - Summary Risk

Assesment Report, Final Report, 2008. Norwa. Institute for health and Consumer Protection, European Commision.

[26] An environmental safety assessment of butyl benzyl phthalate, William E. Gledhill, Robert G. Kaley, William J. Adams, Orville. Hicks, Paul R. Michael, Victor W. Saeger, and Gerald A. LeBlanc, *Environmental Science & Technology* 1980 14 (3), 301-305, DOI: 10.1021/es60163a001

[27] National Center for Biotechnology Information (2021). PubChem Compound Summary for CID 8343, Bis(2-ethylhexyl) phthalate. Retrieved July 10, 2021 from https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Bis_2-ethylhexyl_-phthalate.

[28] Vyhláška č.38/2001 Sb., Vyhláška Ministerstva zdravotnictví o hygienických požadavcích na výrobky určené pro styk s potravinami a pokrmy ze dne 19. 1. 2001, Dostupné na: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2001-38>

[29] Bornehag, C. G., Carlstedt, F., Jönsson, B. A., Lindh, C. H., Jensen, T. K., Bodin, A., Jonsson, C., Janson, S., & Swan, S. H. (2015). Prenatal phthalate exposures and anogenital distance in Swedish boys. *Environmental health perspectives*, 123(1), 101–107. <https://doi.org/10.1289/ehp.1408163>

[30] 1,2 – Benzenedicarboxylic acid, DI-C8-10-branched alkyl esters, C9-RICH and Di-“isononyl“ phthalate (DINP) Summary Risk Assesment Report, European Commission. Final Report, 2003.

[31] Report to the U.S. Consumer Product Safety Commision by the Chronic hazard advisory panel on diisononyl phtalate (DINP) . U.S. Consumer Product Safety Commision. June 2001.

[32] Vyhláška č. 271/2008 Sb., Vyhláška, kterou se mění vyhláška Ministerstva zdravotnictví č. 38/2001 Sb., o hygienických požadavcích na výrobky určené pro styk s potravinami a pokrmy, ve znění pozdějších předpisů ze dne 8. 8. 2008, Dostupné na: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2008-271>

[33] Calafat, A. M., Ye, X., Silva, M. J., Kuklenyik, Z., et al., Human exposure assessment to environmental chemicals using biomonitoring, *Int. J. Androl.* 2006, 29, 166– 171.

[34] Calafat, A. M., Ye, X., Silva, M. J., Kuklenyik, Z., et al., Human exposure assessment to environmental chemicals using biomonitoring, *Int. J. Androl.* 2006, 29, 166– 171.

[35] Heindel, J. J., Powell, C. J., Phthalate ester effects on rat Ser-toli cell function in vitro: Effects of phthalate side chain and age of animal, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1992, 115, 116– 123.

- [36] Koch, H. M., Bolt, H. M., Preuss, R., Angerer, J., New metabolites of di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) in human urine and serum after single oral doses of deuterium-labelled DEHP, *Arch. Toxicol.* 2005, 79, 367–376.
- [37] Silva, M. J., Barr, D. B., Reidy, J. A., Kato, K., et al., Glucuronidation patterns of common urinary and serum monoesterphthalate metabolites, *Arch. Toxicol.* 2003, 77, 561–567.
- [37] Mjelová V., Pavlíková P., Dobiáš P., Adam M., Ventura K., Aplikace mikroextrakce tuhou fází pro analýzu bylinných silic, *Chemické listy* 2010, 104, 166-171
- [38] Extrakční techniky. In: Eknihovna [online]. [cit. 2019-03-27]. Dostupné z: https://is.mendelu.cz/eknihovna/opory/zobraz_cast.pl?cast=52968
- [39] SPORRING, S.; BØWADT, S.; SVENSMARK, B.; BJÖRKLUND, E. Comprehensive comparison of classic Soxhlet extraction with Soxtec extraction, ultrasonication extraction, supercritical fluid extraction, microwave assisted extraction and accelerated solvent extraction for the determination of polychlorinated biphenyls in soil. *Journal of Chromatography A* 2005, 1090, 1-9
- [40] BØWADT, S.; JOHANNSON, B.; WUNDERLI, S.; ZENNEGG, M.; ALENCASTRO, L. F.; GRANDJEAN, D. Independent comparison of Soxhlet and supercritical fluid extraction for the determination of PCBs in an industrial soil. *Analytical Chemistry* 1995, 67, 2424-2430
- [41] Soxhletův extraktor. In: Interaktivní-chemie [online]. [cit. 2019-03-27]. Dostupné z: <http://interaktivni-chemie.cz/wp-content/uploads/23-extrakce.pdf>
- [42] MITRA, S. Sample preparation techniques in analytical chemistry. Hoboken, N.J.: J. Wiley, c2003. ISBN 04-713-2845-6.
- [43] FLOTRON, V.; HOUSSOU, J.; BOSIO, A.; DELTEIL, C.; BERMOND, A.; CAMEL, V. Rapid determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sewage sludges using microwave-assisted solvent extraction Comparison with other extraction methods. *Journal of Chromatography A* 2003, 999, 175-184
- [44] SHU, Y. Y.; LAI, T. L.; LIN, H.; YANG, T. C.; CHANG, C. Study of factors affecting on the extraction efficiency of polycyclic aromatic hydrocarbons from soils using open-vessel focused microwave-assisted extraction. *Chemosphere* 2003, 52, 1667-1676
- [45] Frederiksen H, Skakkebaek NE, Andersson AM. Metabolism of phthalates in humans. *Mol Nutr Food Res.* 2007 Jul;51(7):899-911. doi: 10.1002/mnfr.200600243. PMID: 17604388.
- [46] Yukari Tsumura, Susumu Ishimitsu, Akiko Kaihara, Kimihiko Yoshii, and Yasuhide, Phthalates, Adipates, Citrate and Some of the Other Plasticizers Detected in Japanese Retail Foods: a Survey, *JOURNAL OF HEALTH SCIENCE*, Volume 48, Issue 6, Page 493-502, DOI 10.1248/jhs.48.493

- [47] Schechter A, Lorber M, Guo Y, Wu Q, Yun SH, Kannan K, Hommel M, Imran N, Hynan LS, Cheng D, Colacino JA, Birnbaum LS: Phthalate concentrations and dietary exposure from food purchased in New York state. *Environ Health Perspect.* 2013, 121: 473-494.
- [48] Guo Y, Zhang Z, Liu L, Li Y, Ren N, Kannan K: Occurrence and profiles of phthalates in foodstuffs from China and their implications for human exposure. *J Agric Food Chem.* 2012, 60: 6913-6919. 10.1021/jf3021128.
- [49] Bradley EL: Determination of phthalates in foods and establishing methodology to distinguish their source. 2012, London: Foods Standards Agency Report Number: FD 10/05
- [50] Page BD, Lacroix GM: The occurrence of phthalate ester and di-2-ethylhexyl adipate plasticizers in Canadian packaging and food sampled in 1985–1989: a survey. *Food Addit Contam.* 1995, 12: 129-151. 10.1080/02652039509374287.
- [51] Page BD, Lacroix GM: Studies into the transfer and migration of phthalate esters from aluminum esters from aluminum foil-paper laminates to butter and margarine. *Food Addit Contam.* 1992, 9: 197-212. 10.1080/02652039209374064.
- [52] Martine B, Marie-Jeanne T, Cendrine D, Fabrice A, Marc C: Assessment of adult human exposure to phthalate esters in the urban centre of Paris (France). *Bull Environ Contam Toxicol.* 2013, 90: 91-96. 10.1007/s00128-012-0859-5.
- [53] Wormuth M, Scheringer M, Vollenweider M, Hungerbuhler K: What are the sources of exposure to eight frequently used phthalic acid esters in Europeans?. *Risk Anal.* 2006, 26: 803-82. 10.1111/j.1539-6924.2006.00770.x.
- [54] Wormuth M, Scheringer M, Vollenweider M, Hungerbuhler K: What are the sources of exposure to eight frequently used phthalic acid esters in Europeans?. *Risk Anal.* 2006, 26: 803-82. 10.1111/j.1539-6924.2006.00770.x.
- [55] Sorensen LK: Determination of phthalates in milk and milk products by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom.* 2006, 20: 1135-1143. 10.1002/rcm.2425.
- [56] Zdroj: [online].[cit. 13. 7. 2021], Dostupné na: <http://www.prepchem.com>
- [57] Autor: Shaddack – Vlastní dílo pomocí: ChemDraw, Volné dílo, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=389242>
- [58] Autor: User:Bryan Derksen – Vlastní dílo, Volné dílo, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=1551354>
- [59] Autor: Kateřina Hyčarová – Vlastní dílo pomocí: ChemDraw
- [60] Autor: Dschanz – Own work using: BKchem, Public Domain, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=2850227>

- [61] By K. Murray (Kkmurray) - Own work, CC BY-SA 3.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=1935816>
- [62] Zdroj: [online].[cit. 13. 7. 2021], Dostupné na: <https://www.ilabo.cz/produkty/laboratorni-pristroje-na-extrakci-dle-soxhleta-stanoveni-tuku/extrakce-automacka-pristroje-soxtherm/prodej-laboratorni-techniky-automacka-extrakce-soxtherm-stanoveni-dle-soxhleta-gerhardt/>
- [63] Zdroj: [online].[cit. 13. 7. 2021], Dostupné na: <http://web.natur.cuni.cz/~pcoufal/gc.html>
- [64] Tsai, Ming-Yang, Chang-Hsun Ho, Hong-You Chang, Wei-Cheng Yang, Chuen-Fu Lin, Chien-Teng Lin, Yi-Jing Xue, Jyh-Mirn Lai, Jiann-Hsiung Wang, and Geng-Ruei Chang. 2019. "Analysis of Pollution of Phthalates in Pork and Chicken in Taiwan Using Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry and Assessment of Health Risk" *Molecules* 24, no. 21: 3817. <https://doi.org/10.3390/molecules24213817>
- [65] Yaqin Ji, Fumei Wang, Leibo Zhang, Chunyan Shan, Zhipeng Bai, Zengrong Sun, Lingling Liu, Boxiong Shen, A comprehensive assessment of human exposure to phthalates from environmental media and food in Tianjin, China, *Journal of Hazardous Materials*, Volume 279, 2014, Pages 133-140, ISSN 0304-3894, <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.06.055>. (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304389414005342>)
- [66] Amrit K. Sakhi, Inger Therese L. Lillegaard, Stefan Voorspoels, Monica H. Carlsen, Elin B. Løken, Anne L. Brantsæter, Margaretha Haugen, Helle M. Meltzer, Cathrine Thomsen, Concentrations of phthalates and bisphenol A in Norwegian foods and beverages and estimated dietary exposure in adults, *Environment International*, Volume 73, 2014, Pages 259-269, ISSN 0160-4120, <https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.08.005>. (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0160412014002530>)
- [67] Nanni, N.; Fiselier, K.; Grob, K.; Di Pasquale, M.; Fabrizi, L.; Aureli, P.; Coni, E. Contamination of vegetable oils marketed in Italy by phthalic acid esters. *Food Control*. 2011, 22, 209–214.
- [68] Long-Kai, S.; Ming-Ming, Z.; Yu-Lan, L. Concentration and survey of phthalic acid esters in edible vegetable oils and oilseeds by gas chromatography-mass spectrometry in China. *Food Control*. 2016, 68, 118–123.
- [69] Fierens, T.; Van Holderbeke, M.; Willems, H.; De Henauw, S.; Sioen, I. Phthalates in Belgian cow's milk and the role of feed and other contamination pathways at farm level. *Food. Chem. Toxicol.* 2012, 50, 2945–2953.
- [70] Fierens, T.; Van Holderbeke, M.; Willems, H.; De Henauw, S.; Sioen, I. Transfer of eight phthalates through the milk chain-a case study. *Environ. Int.* 2013, 51, 1–7.

- [71] Sharman, M.; Read, W.A.; Castle, L.; Gilbert, J. Levels of di-(2-ethylhexyl) phthalate and total phthalate esters in milk, cream, butter and cheese. *Food Addit. Contam.* 1994, 11, 375–385.
- [72] Sireli, U.T., Filazi, A., Yurdakok-Dikmen, B. et al. Determination of Phthalate Residues in Different Types of Yogurt by Gas Chromatography-Mass Spectrometry and Estimation of Yogurt-Related Intake of Phthalates. *Food Anal. Methods* 10, 3052–3062 (2017). <https://doi.org/10.1007/s12161-017-0854-x>
- [73] Petersen, J.H. Survey of di-(2-ethylhexyl)phthalate plasticizer contamination of retail Danish milks. *Food Addit. Contam.* 1991, 8, 701–705.
- [74] T. Fierens, M. Van Holderbeke, H. Willems, S. De Henauw, I. Sioen, Transfer of eight phthalates through the milk chain — A case study, *Environment International*, Volume 51, 2013, Pages 1-7, ISSN 0160-4120, <https://doi.org/10.1016/j.envint.2012.10.002>. (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S016041201200219X>)
- [75] Lü, H.; Mo, C.H.; Zhao, H.M.; Xiang, L.; Katsoyiannis, A.; Li, Y.W.; Cai, Q.Y.; Wong, M. Soil contamination and sources of phthalates and its health risk in China: A review. *Environ. Res.* 2018, 164, 417–429.
- [76] Sun, J.; Wu, X.; Gan, J. Uptake and Metabolism of Phthalate Esters by Edible Plants. *Environ. Sci. Tech.* 2015, 49, 8471–8478.
- [77] Bošnjir, J.; Puntarić, D.; Galić, A.; Škes, I.; Dijanić, T.; Klarić, M.; Grgić, M.; Čurković, M.; Šmit, Z. Migration of phthalates from plastic containers into soft drinks and mineral water. *Food Technol. Biotechnol.* 2007, 45, 91–95.
- [78] Ustun, I.; Sungur, S.; Okur, R.; Sumbul, A.; Oktar, S.; Yilmaz, N.; Gokce, C. Determination of Phthalates Migrating from Plastic Containers into Beverages. *Food Anal. Methods* 2015, 8, 222–228.
- [79] Casajuana, N.; Lacorte, S. Presence and release of phthalic esters and other endocrine disrupting compounds in drinking water. *Chromatographia* 2003, 57, 649–655.
- [80] Hong-You Chang, Wei-Cheng Yang, Yi-Jing Xue, Ming-Yang Tsai, Jiann-Hsiung Wang, Geng-Ruei Chang, Phthalates and organophosphorus insecticide residues in shrimp determined by liquid/gas chromatography–Tandem mass spectrometry and a health risk assessment, *Marine Pollution Bulletin*, Volume 144, 2019, Pages 140-145, ISSN 0025-326X, <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.04.047>.
- [81] Po-Chin Huang, Chien-Jung Tien, Yih-Min Sun, Cha-Yi Hsieh, Ching-Chang Lee,

Occurrence of phthalates in sediment and biota: Relationship to aquatic factors and the biota-sediment accumulation factor, *Chemosphere*, Volume 73, Issue 4, 2008, Pages 539-544, ISSN 0045-6535, <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.06.019>.

[82] DI BELLA, Giuseppa, Hedi BEN MANSOUR, Asma BEN TEKAYA, et al. Plasticizers and BPA Residues in Tunisian and Italian Culinary Herbs and Spices. *Journal of Food Science* [online]. 2018, 83(6), 1769-1774 [cit. 2021-7-20]. ISSN 00221147. Dostupné z: doi:10.1111/1750-3841.14171

[83] Klouda P.: *Moderní analytické metody*. Pavel Klouda, Ostrava 1996

[84] Zdroj: [online].[cit.20.7.21], Dostupné na: <http://www.foodtestingindia.com/importance-of-migration-testing-in-packaging-material/>