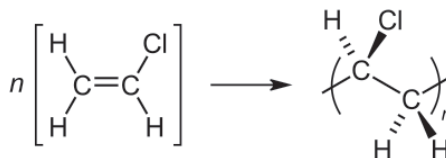


Ispitivanje migracije plastifikatora bis(2-etilheksil)-adipata iz polivinilhloridne (PVC) folije u sireve

Polivinilhloridna folija koja sadrži plastifikator bis(2-etilheksil)-adipat (DEHA) upotrebljava se za čuvanje hrane. Na osnovu strukture i nepolarnosti molekula bis(2-etilheksil)-adipata, pretpostavilo se da će oni migrirati u masnu hranu. U radu je ispitivana migracija ovog plastifikatora u tri vrste sira različite masnoće. Eksperiment je izveden u duplikatu, a uzorci su analizirani svakodnevno tokom 10 dana. Migracija DEHA u sireve merena je pomoću gasno-masene hromatografije. Rezultati su upoređeni u odnosu na vreme tokom kojeg su uzorci bili umotani u foliju, kao i u odnosu na vrstu sireva. Procenat plastifikatora sadržanog u foliji je 7.6%. Zbog male osetljivosti instrumenta GC/MS, pojedine koncentracije migriralog plastifikatora nije bilo moguće odrediti, jer su koncentracije plastifikatora bile ispod granice detekcije. U siru deklarisanе masnoće od min 35% nije bilo moguće odrediti udeo plastifikatora sve do 10. dana. Nakon 10. dana dobijen je rezultat od 211 mg/kg. U siru deklarisanе masnoće min 45%, nakon 5. dana određene vrednosti pokazale su da se koncentracija plastifikatora povećava, uz odstupanja koja bi se mogu pripisati grešci tokom homogenizacije. Najveća koncentracija plastifikatora u siru zapažena je 8. dana (272 mg/kg). U siru deklarisanе masnoće min 48% najbolje je uočljiv pravilan porast koncentracije tokom vremena, počevši od 3. dana (220 mg/kg) do 10. (284 mg/kg). Takođe se može uočiti i umereno povećanje koncentracije između različitih vrsta sireva, u zavisnosti od masnoće.

Uvod

Polivinilhlorid (PVC) je polimer opšte formule $[-CH_2-CHCl-]_n$. Dobija se polimerizacijom vinilhlorida (slika 1).



Slika 1. Polimerizacija vinilhlorida

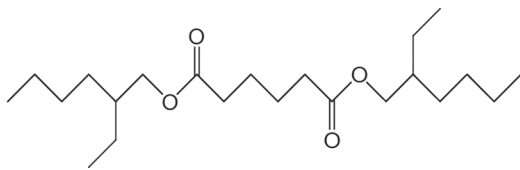
Figure 1. Polymerisation of vinyl chloride

Prednost ovog materijala u odnosu na druge jeste ta što je kompatibilan sa plastifikatorima i drugim aditivima, čime polivinilhlorid postaje mekši materijal i lakši za preradu. PVC folija se najčešće koristi za vakuumiranje i pakovanje hrane. Zbog male molekulske mase i pokretljivosti, plastifikatori imaju tendenciju da migriraju iz pakovanja u hranu, i tako postaju indirektni aditivi hrane (Petersen i Breindahi 1998; Goulas et al. 2000; Goluas et al. 2007). Plastifikator koji se najčešće dodaje ovoj foliji radi veće rastegljivosti je bis(2-etilheksil)-adipat (DEHA). To je estar adipinske kiseline i 2-etilheksanola; tečnog je agregatnog stanja, isparljivosti na 417°C, strukturne formule na slici 2.

Prema Međunarodnoj agenciji za istraživanje raka (International Agency for Research on Cancer – IARC), ovaj plastifikator ima kancerogeno dejstvo na miševе, ali ne dokazano i na ljude (IARC 2000). Međutim, dozvoljena količina ovog plastifikatora u hrani je određena na 60 mg/kg (CEC 1990).

Jovana Dinić učenica 2. razreda Gimnazije u Kruševcu

MENTOR: Miloš Pešić, Istraživačka stanica Petnica



Slika 2. Hemijska struktura DEHA

Figure 2. Chemical structure of DEHA

Cilj ovog istraživanja je određivanje količine plastifikatora bis(2-etilheksil)-adipata u sirevima koji se čuvaju u PVC foliji u zavisnosti od sadržaja masti i vremena izloženosti i upoređivanje sa dozvoljenim količinama.

Materijal i metode

Esterifikacija adipinske kiseline i 2-etilheksanola. U balonu od 250 mL pomešano je 1.51 g (0.01 mol) adipinske kiseline, 5 mL 99% 2-etilheksanola (0.03 mol), rastvarač toluen i 0.19 g monohidrata p-toluensulfonske kiseline (0.001 mol). Balon je povezan sa Dean-Starkovim nastavkom za koji je povezan kondenzator. Reakciona smeša je zagrevana u peščanom kupatilu, pri temperaturi rešoa 500°C tokom 20 h (temperatura u balonu iznosila je oko 110°C – temperatura ključanja toluena). Dobijena smeša prečišćena je od preostale kiseline ekstrakcijom sa 10% rastvorom natrijum-hidrogenkarbonata, nakon toga sušena anhidrovanim natrijum-sulfatom, pa potom ceđena. Zbog eventualnog viška rastvarača, smeša je uparavana na vakuum-uparivaču. Preostali 2-etilheksanol, koga zbog visoke tačke ključanja nije bilo moguće upariti, razdvojen je od sintetisanog bis(2-etilheksil)-adipata na gravitacionoj koloni. 15 g silika gela rastvoreno je u čistom petroletru koji je korišćen kao eluent, a kasnije je zamenjen smešom petrol etar (PE) / etil acetat (EtOAc) u odnosu 97 : 3. Frakcije sakupljane u epruветama analizirane su tankoslojnom hromatografijom (TLC) u eluentu PE/EtOAc 9 : 1. Sadržaji epruветe (za koje se analizom na TLC-u pokazalo da pored reaktanata sadrže i proizvod) upareni su do suva. Estar je okarakterisan na GC/MS-u, a korišćen za pripremanje standardnih rastvora različitih koncentracija. Konstruisana je kalibraciona kriva – zavisnost koncentracije DEHA od površine pika.

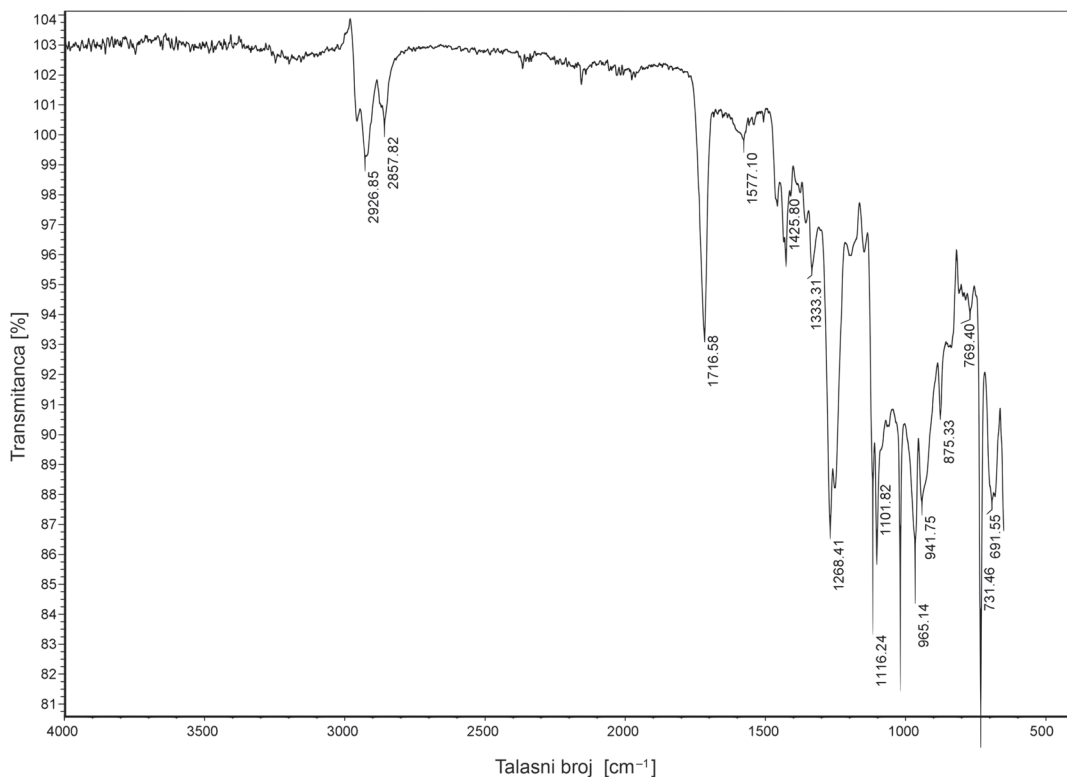
Priprema uzoraka za ispitivanje migracije. Tri vrste sira sa različitim procentima masnoće sečeni su na delove dimenzija (4×4×0.5) cm, a potom obmotani jednim slojem PVC-folije. Svi uzorci stajali su u frižideru na temperaturi 2±1°C. Po dva uzorka svake vrste sira ispitivana su svakodnevno, od prvog do desetog dana.

Priprema uzoraka za GC/MS analizu. Uzorci sira homogenizovani su u avanu. 250 mg sira ekstrahovano je sa 7 mL metanola i rastvarano u ultrazvučnom kupatilu 20 minuta. Rastvor je ostavljen na sobnoj temperaturi (25-30°C) u normalnom sudu od 10 mL koji je dopunjen metanolom do crte. Nakon toga dodat je anhidrovani natrijum-sulfat da bi se uklonila eventualna voda. Ekstrakti su procedeni na koloni (stacionarna faza vata i silika gel). Svi eksperimenti izvođeni su u duplikatu, radi validnosti rezultata. Na isti način pripremljen je i uzorak folije za ispitivanje udela plastifikatora, osim što nije bilo potrebe za homogenizacijom na početku (Chan i Shuang 2012).

Određivanje procenta masti u sirevima. 10 g sira usitnjeno je u avanu i dodato je 12 g anhidrovanog natrijum-sulfata. Kapsula sa uzorkom stavljena je u ekstraktor i postavljena je aparatura za ekstrakciju po Soksletu. Balon u koji je sipano 200 mL petroletra zagrevan je na približno 60°C tokom 8 h. Po završetku ekstrakcije balon je uparavan na vakuum-uparivaču do konstantne mase. Na osnovu razlike mase balona sa mastima iz uzorka i praznog balona, određen je procenat masti u sirevima (Soxhlet 1879).

Rezultati i diskusija

Utvrđivanje vrste folije. Prijanjajuće folije najčešće su polietilenske ili polivinilhloridne, pa je bilo potrebno utvrditi precizan sastav pre početka rada. Utvrđeno je da se radi o PVC foliji na osnovu sledećeg: trake na 2926 cm⁻¹ i 2857 cm⁻¹ potiču od istežućih vibracija C–H veza iz CHCl i CH₂, traka na 1425 cm⁻¹ potiče od deformacije CH₂, deformacija veze C–H iz CHCl daje traku na 1333 cm⁻¹, istežanje C–C veze daje traku na 1101 cm⁻¹, traka na 965 cm⁻¹ potiče od deformacionih vibracija CH₂ i istežanje veze C–Cl daje traku na 691 cm⁻¹. Dobijeni FTIR spektar (slika 3) usaglašen je sa podacima iz literature (Beltran i Marcilla 1997). Određeno je da se DEHA nalazi u foliji u masenom procentu od 7.6%.



Slika 3. IR spektar ispitivane folije

Figure 3. IR spectrum of the investigated cling film

Procenat masti u sirevima. Udeo masti koji je određen u trima ispitivanim vrstama sira prikazan je u tabeli 1. Očekivano, zbog različitog postupka određivanja masnoće u sirevima u odnosu na proizvođačku, dobijeni su različiti rezultati.

Tabela 1. Procenat masnoće u ispitivanim sirevima

Vrsta sira	Proizvođačka deklaracija *	Određeno**
1	min 35%	19%
2	min 45%	32%
3	min 48%	29%

* Udeo masti u suvoj materiji; ** udeo masti u ukupnoj masi sira

Analiza uzoraka na GC/MS. Izračunate koncentracije (mg/kg) date u tabeli 2 predstavljaju srednje vrednosti koncentracija iz dva odvojena uzorka. Predstavljani su samo rezultati čije koncentracije su bile u opsegu koncentracija 4.375–35 µg/mL, ostale vrednosti su bile ispod limita kvantifikacije.

U siru 1 moguće je bilo izračunati koncentraciju migriralog plastifikatora tek nakon 10. dana i ona je iznosila 211.2 mg/kg. Odstupanja u 8. i 10. danu za sir 2 predstavljaju moguću grešku u radu tokom homogenizacije. U siru 3 uočljiv je pravilan porast koncentracije platsifikatora u siru i razlika između 10. i 3. dana je 63.4 mg/kg. Isključujući pomenuta odstupanja u 8 i 10. danu drugog sira, može se zaključiti da je porast koncentracije uglavnom uniforman i u odnosu na povećanje masnoće sireva.

Tabela 2. Koncentracija DEHA u sirevima u za

Dan	Koncentracija (mg/kg)		
	Sir 1	Sir 2	Sir 3
3	–	–	220.56
4	–	–	223.9
5	–	210.1	242.6*
6	–	214.8	243.9
7	–	222.4*	264.9
8	–	272.1	269.4
9	–	260.6	210.7
10	211.2	210.7	283.9

Napomena: date srednje vrednosti određene su iz dva uzorka; jedino su vrednosti označene zvezdicom određene samo jednim uzorkom.

Zaključak

Visoke koncentracije bis(2-etilheksil)-adipata bile su određene u sva tri sira. U svim slučajevima je koncentracija plastifikatora bila veća od evropski dozvoljene granice od 60 mg/kg (CEC 1990). Faktori koji su uticali na migraciju plastifikatora su: udeo DEHA u foliji, temperatura skladištenja uzoraka i dodirna površina sa folijom. Količina plastifikatora koja je migrirala u sireve direktno je zavisila od dužine kontakta sa folijom i od masnoće sireva. Iz ovog istraživanja može se zaključiti da je potrebno smanjiti korišćenje polivinilhloridne folije za pakovanje i čuvanje masne hrane, poput sireva, zbog potencijalne opasnosti po zdravlje ljudi.

Literatura

Beltran M., Marcilla A. 1997. Fourier transform infrared spectroscopy applied to the study of PVC decomposition. *European Polymer Journal*, **33** (7): 1135.

Chan J., Shuang F. 2012. *Rapid, Sensitive, and Robust Detection of Phthalates in Food Using GC/MS or LC/MS*. Agilent Technologies

CEC (Commission of the European Communities) 1990. Commission Directive 90/128/EEC of 23 February 1990, relating to plastic materials and articles intended to come into contact with

foodstuffs. *The Official Journal of the European Union*, **L 75**: 19.

Goulas A. E., Anifantaki K. I, Kolioulis D. G, Kontominas M. G. 2000. Migration of di-(2-ethylhexyl) adipate plasticizer from food-grade polyvinylchloride film into hard and soft cheeses. *Journal of Dairy Science*, **83**: 1712.

Goulas A. E., Zygoura P., Karatapanis A., Georgantelis D., Kontominas M.G. 2007. Migration of di(2-ethylhexyl) adipate and acetyltributyl citrate plasticizers from food-grade PVC film into sweetened sesame paste (halawa tehineh): Kinetic and penetration study. *Food and Chemical Toxicology*, **45**: 585.

IARC 2000. Di(2-ethylhexyl) adipate. *International Agency for Research on Cancer (IARC) – Summaries & Evaluations*, **77**: 149.

Petersen J. H., Breindahl T. 1998. Specific migration of di-(2-ethylhexyl)-adipate (DEHA) from plasticized PVC film: results from an enforcement campaign. *Food Additives and Contaminants*, **15** (5): 600.

Soxhlet F. 1879. Die gewichtsanalytische Bestimmung des Milchfettes. *Dinglers Polytechnisches Journal*, **232**: 461.

Jovana Dinić

Investigation of Migration of Bis(2-ethylhexyl)-adipate from Polyvinyl Chloride (PVC) Cling Film into Cheeses

Polyvinyl chloride cling film containing plasticizer bis(2-ethylhexyl)-adipate (DEHA) is used for wrapping food and the migration of this plasticizer into three types of cheese with different percentage of fat was investigated. The experiment was carried out in duplicate and samples were examined after one-day time intervals, within 10 days. The migration of DEHA into cheese was analyzed on GC/MS and the results were compared depending on how long the samples had been wrapped in cling film, as well as among the cheese types. The percentage of plasticizer in the cling film is 7.6 %. Because of the sensitivity of the GC/MS, it was not possible

to determine some concentrations of plasticizer which migrated, as they were smaller than the smallest concentration from the calibration line. In cheese with the smallest amount of fat (min 35%), the concentrations could not be detected until the 10th day. After 10 days of exposure to the cling film, the result was 211.2 mg/kg. In cheese with min 45% of fat, values after the 5th day showed that the concentration of plasticizer is growing, with smaller deviations that could be ascribed to homogenization mistakes. The larg-

est concentration was detected after the 8th day (272.1 mg/kg). In cheese with min 48 % of fat, the concentration growth is best noticeable, starting from the 3rd day (220.5 mg/kg) to the 10th (283.9 mg/kg). Also, minimal growth in concentration is visible between different types of cheese, in the function of fat percentage.

Based on the structure and non-polarity of the molecule bis(2-ethylhexyl)-adipate, it was assumed that it would migrate into fatty foods, which was shown in this experiment. 