

Kontaminacija slada ftalatima

Benc, Danijela

Master's thesis / Diplomski rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:109:798581>

Rights / Prava: [Attribution-ShareAlike 4.0 International/Imenovanje-Dijeli pod istim uvjetima 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-20**

REPOZITORIJ

PTF

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology Osijek](#)



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

Danijela Benc

KONTAMINACIJA SLADA FTALATIMA

DIPLOMSKI RAD

Osijek, rujan 2022.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek
Zavod za procesno inženjerstvo
Katedra za bioproceno inženjerstvo
Franje Kuhača 20, 31000 Osijek, Hrvatska

Diplomski sveučilišni studij Prehrambeno inženjerstvo

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Nastavni predmet: Biotehnološka proizvodnja hrane

Tema rada je prihvaćena na VII. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2021./2022. održanoj 28. travnja 2022.

Mentor: izv. prof. dr. sc. *Kristina Mastanjević*

Komentor: dr. sc. *Brankica Kartalović, zn. sur.*

Kontaminacija slada ftalatima

Danijela Benc, 0113141244

Sažetak: Ftalati su poznati kao endokrini disruptori i česti su u plastičnim polimerima, lakovima i bojama za ispis. Ipak, u ljudski organizam najčešće dopijevaju putem hrane. Cilj ovoga rada bio je odrediti koncentraciju i tipove ftalata u sladu te promotriti utjecaj temperature sušenja na njihov sadržaj u sladovima dobivenim sušenjem na temperaturama do 220 °C.

Ključne riječi: ftalati; slad; temperatura;

Rad sadrži: 35 stranica
8 slika
3 tablica
0 priloga
32 literaturnih referenci

Jezik izvornika: Hrvatski

Sastav Povjerenstva za ocjenu i obranu diplomskog rada i diplomskog ispita:

- | | |
|---|----------------|
| 1. prof. dr. sc. <i>Vinko Krstanović</i> | predsjednik |
| 2. izv. prof. dr. sc. <i>Kristina Mastanjević</i> | član-mentor |
| 3. dr. sc. <i>Brankica Kartalović, zn. sur.</i> | član -komentor |
| 4. doc. dr. sc. <i>Krunoslav Aladić</i> | zamjena člana |

Datum obrane: 30. rujna, 2022.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.

BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

University Josip Juraj Strossmayer in Osijek
Faculty of Food Technology Osijek
Department of Process Engineering
Subdepartment of Bioprocess Engineering
Franje Kuhača 20, HR-31000 Osijek, Croatia

Graduate program Food engineering

Scientific area: Biotechnical sciences

Scientific field: Food technology

Course title: Biotechnological food production

Thesis subject was approved by the Faculty of Food Technology Osijek Council at its session no. VII held on April 28th 2022.

Mentor: *Kristina Mastanjević*, PhD, associate prof.

Co-mentor: *Brankica Kartalović*, PhD, sci. assoc.

Contamination of malt with phthalates

Danijela Benc, 0113141244

Summary: Phthalates are known as endocrine disruptors and are common in plastic polymers, varnishes and printing inks. However, they most often enter the human body through food. The aim of this study was to determine the concentration and types of phthalates in malt and to observe the impact of drying temperature in malt content obtained by drying up to 220 °C.

Key words: phthalates; malt; temperature;

Thesis contains: 35 pages
8 figures
3 tables
0 supplements
32 references

Original in: Croatian

Defense committee:

- | | |
|---|---------------|
| 1. <i>Vinko Krstanović</i> , PhD, prof. | chair person |
| 2. <i>Kristina Mastanjević</i> , PhD, associate prof. | supervisor |
| 3. <i>Brankica Kartalović</i> , PhD, sci. assoc. | co-supervisor |
| 4. <i>Krunoslav Aladić</i> , PhD, assistant prof. | stand-in |

Defense date: September 30, 2022.

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of the Faculty of Food Technology Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.

Veliku zahvalnost, prije svih, dugujem svojoj mentorici izv. prof. dr. sc. Kristini Mastanjević koja mi je pomogla svojim savjetima pri izradi diplomskog rada, i što je uvijek bila vedra i nasmijana i odgovarala s lakoćom na moje upite, te me ohrabivala kada mi je to u zadnjim trenucima studiranja bilo najpotrebnije.

Također, zahvaljujem se svojoj prijateljici Ivi koja je bila uvijek uz mene i bez čije prisutnosti cijelo studiranje ne bi imao smisla. Hvala Ti za svako smijanje do suza, za svaku nesebičnu pomoć i podršku koju si mi podarila, dužnik sam Ti!

Posebnu zahvalnost iskazujem cijeloj svojoj obitelji koja me uvijek podržavala u donešenim odlukama i odvela na pravi put, te je neizmjereno ponosna na moj dosadašnji uspjeh.

Moram spomenuti i cijeli svoj kolektiv Optime Telekoma, bez čije prilike ja danas ne bi bila tu gdje jesam. Svojim studentskim radom uz sve svoje studentske obaveze koje sam uspješno izvršavala tijekom studiranja, uspjela sam završiti ovaj ni malo lagan fakultet!

I na kraju, najveću zaslugu za ono što sam postigla pripisujem svojem zaručniku Silvestru, koji je uvijek bio TU, uz mene, kao oslonac i rame za plakanje.

Velika HVALA svima!

Sadržaj

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DIO	3
2.1. PROIZVODNJA SLADA	4
2.1.1. Slad.....	4
2.1.2. Postupci dobivanja slada.....	5
2.2. FTALATI	7
2.2.1. Fizikalno-kemijska svojstva ftalata	8
2.2.2. Ftalatni esteri.....	10
2.2.3. Utjecaj ftalata na ljudsko zdravlje	13
2.2.4. Načini smanjenja izloženosti ftalatima	15
3. EKSPERIMENTALNI DIO	16
3.1. Zadatak	17
3.2. Materijal i metode.....	17
3.2.1. Postupak mikroslađenja.....	17
3.2.2. Reagensi i materijali	18
3.2.3. Obrada uzoraka	19
3.3. Statistička analiza	19
4. REZULTATI I RASPRAVA	20
5. ZAKLJUČCI	23
6. LITERATURA	25

Popis oznaka, kratica i simbola

ADHD – Poremećaj pažnje urokovano hiperaktivnošću (engl. Attention deficit hyperactivity disorder)

BBP – benzil butilftalat

DBP – dibutilftalat

DEHP – bis(2-etilheksil) ftalat

DEP – di-etil ftalat

DIDP – diizodecil ftalat

DINP – diizononil ftalat

DNBP – di-n-butil ftalat

DMP – di-metil ftalat

DnOP – di-n-oktil ftalat

EFSA – Europska agencija za sigurnost hrane (engl. European Food Safety Authority)

HMW PAEs – ftalati visoke molekularne težine

Kow – Mjera lipofilnosti (engl. measure of lipophilicity)

LMW PAEs – ftalati niske molekularne težine

mBP – monobutil ftalat

mEHP – mono-(2-etilheksil) ftalat

mBzP – monobenzil ftalat

PAE – ftalati

PE – esteri ftalatne kiseline

PE – polietilen

PET – polietilend tereftalat

PVA – polivinil acetat

PVC – polivinil klorid

SAD – Sjedinjene Američke Države

SSM – suspendirana čvrsta tvar

SVOC – poluhlapljivi organski spojevi

Sw – topljivost u vodi (engl. water solubility)

TDI – Dopuštene dnevne doze (engl. Tolerable Daily Intake)

1. UVOD

Slad je proklijala žitarica često primjenjiva u proizvodnji raznih alkoholnih pića, a dobiva se kontroliranim klijanjem samih žitarica koje su namakne u vodi. Najčešće korištena žitarica u proizvodnji slada je ječam, ali primjenjuju se i ostale poput pšenice, zobi, kukuruza, raži ili riže. S obzirom da se u današnje vrijeme često konzumira alkohol, kontaminacija ftalatima koji se u njemu mogu pronaći ako dođe do kontaminacije istih predstavlja velik utjecaj na zdravlje konzumenta.

Ftalati su esteri ftalatne kiseline (PE) i alifatskih alkohola. Navedeni monomeri plastike su endokrini disruptori, što znači da remete hormonsku ravnotežu u ljudskom organizmu. Ftalati su organski lipofilni spojevi koji se prvenstveno koriste kao plastifikatori za povećanje fleksibilnosti plastičnih polimera. Ostale primjene su u tiskarskim bojama i lakovima. Izloženost ljudi ftalatima uglavnom se događa unosom hrane i može uzrokovati štetne učinke na zdravlje (Fierens i sur., 2012).

Često korišteni ftalatni spojevi uključuju di(2-etilheksil) ftalat (DEHP), diizodecil ftalat (DIDP), diizononil ftalat (DINP), dimetil ftalat (DMP), dietil ftalat (DEP), di-n-butilftalat (DBP), butilbenzil ftalat (BBP) i polietilen tereftalat (PET) koji se koriste kao intermolekulska maziva i imaju tendenciju ispiranja iz plastične mase u koju su dodani (Chou i Wright, 2006).

Nalaze se u svemu što nas okružuje. Visoke temperature s PVC (polivinil klorid) proizvodima uzrokuju visoku razinu ftalatne kontaminacije. Tijekom dugotrajne konzumacije kontaminiranih proizvoda dolazi do štetnih posljedica (Edwards i sur., 2021).

Cilj diplomskog rada bio je utvrditi koncentraciju i vrste ftalata u sladu, te promatrati utjecaj temperature sušenja na njihov sadržaj u sladovima dobivenim sušenjem na temperaturama do 220°C.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. PROIZVODNJA SLADA

2.1.1. Slad

Slad je sirovina koja se proizvodi slađenjem žitarica u kontroliranim uvjetima. Žitarice korištene za slađenje su ječam i pšenica, ali se mogu koristiti i kukuruz, raž, riža ili zob. Svrha navedenog procesa je aktiviranje enzima amilaze, koja pretvara škrob u reducirajući šećer, te na taj način osigurava potrebnu hranu mikroorganizmima. Sušenjem dobivamo slad različitih svojstava, boja i okusa. Sve ovisi o vremenu i temperaturi sušenja, pa stoga razlikujemo tamne sladove, svijetle sladove, karamel sladove, bečke sladove, kisele sladove, te pšenični slad (Šakić i Blesić, 2011).



Slika 1. Prikaz zrna žitarica za proizvodnju slada (Izvor: <https://hocupivo.com/slad/>)

Glavni sastojak zrna slada čini škrob, polisaharid netopljiv u vodi. Boja slada je povezana s razgradnjom i sadržajem bjelančevina. Što je veća razgradnja i što je veći sadržaj bjelančevina u sladu, to je slad tamnije boje, ali ima nešto manji ekstrakt i smanjenu aktivnost amilaza. Postupak prerade žitarica u slad je zahtjevan proces, a sastoji se od sljedećih faza: močenje, klijanje i sušenje (Šakić i Blesić, 2011).

Ječam	Skladištenje	Vlaga	12-14 %
		Temperatura	12°C
↓	Močenje	Udio vode	45 %
	Klijanje	Vrijeme	5 dana
		Temperatura	12-16°C
	Sušenje	Temperatura	iznad 85°C
		Vlažnost	4 %
Slad	Uklanjanje korijenčića i klice, uskladištenje		

Slika 2. Faze slađenja od ječma do slada (prilagođeno prema Schuster i sur., 1988.)

2.1.2. Postupci dobivanja slada

Proizvodnja slada temelji se na biokemijskim procesima koji se zbivaju u samoj žitarici, u zemlji tijekom prirodnog klijanja zrna. Postupak se provodi u velikim industrijskim postrojenjima, odnosno tvornicama slada koje zovemo sladarama.

Ovaj postupak provodi se u strogo kontroliranim, umjetno stvorenim uvjetima. Prethodi mu čišćenje, sortiranje i skladištenje zrna žitarica čime se naročito sprječava narušavanje kvalitete samoga slada, a čuvanje zrna je važno do nastajanja dormantnosti. Zrna različitih dimenzija različito upijaju vlagu pa je stoga bitno razdvajanje zrna različitih dimenzija (Štefanić i Marić, 1990.; Šimić, 2009).

U tehnološki proces proizvodnje slada uključene su sljedeće faze procesa:

1. Čišćenje i sortiranje zrna žitarice
2. Močenje sortiranog zrna
3. Klijanje namočenog zrna
4. Sušenje zelenog slada
5. Dorada osušenog slada

Čišćenje i sortiranje zrna žitarice

U ovoj fazi provodi se čišćenje, sortiranje i pranje zrna, te se žitarica skladišti i transportira do sladare. Zrno se čisti i sortira na temelju fizikalnih karakteristika (veličina, aerodinamička svojstva, specifična masa, magnetska svojstva...). Cilj je ukloniti sve primjese i prašinu koji bi stvarali problem tijekom daljnje obrade zrna.

Ovi postupci često sprječavaju kvarenje slada, a skladištenje zrna je ključno za nastanak hibernacije. Odvajanje čestica različitih veličina kritično je jer različite veličine čestica različito primaju vlagu (Štefanić i Marić 1990, Šimić 2009). Zrno odležava tijekom skladištenja otprilike 7-8 tjedana kako bi bilo spremno za preradu u slad. Ono diše, pa mu je potrebna određena količina kisika, odnosno potrebno je provjetravati silos gdje se odmah odvodi udio CO₂, topline i vlage koji se oslobađaju kao nusprodukti procesa disanja.

Močenje sortiranog zrna

Ovo je prva faza procesa dobivanja slada tijekom koje dolazi do povećavanja volumena zrna žitarice za jednu trećinu. Ono bubri jer upija velike količine vode, dolazi do povećavanja vlage u samom zrnu, te se ono brani na ovaj način od raznih mikroorganizama. Povećanjem vlage zrna, ubrzava se proces disanja te se ujedno povećava i rast mikroorganizama. Stoga je vrlo važno mijenjati vodu da ne bude ustajala, te je potrebno više puta provjetravati prostor i miješati zrna žitarica da se spriječi navedena kontaminacija.

Tijekom ove faze potrebno je provoditi dezinfekciju zrna, te je poželjno da voda ima povećanu lužnatost koja pogoduje izlučivanju inhibitora klijanja i tvari jako neugodnog gorkog i opornog okusa (Marić, 2000).

Klijanje namočenog zrna

Svrha klijanja je prevođenje namočenog zrna žitarice u zeleni slad koji opisuje razgrađenost zrna uz visoki sadržaj amilolitičkih enzima (Štefanić i Marić, 1990). Ovaj proces traje otprilike tjedan dana, a temperatura koja se postiže je približno 20°C (optimalna 12-18°C).

Tijekom klijanja dolazi do nastajanja nove biljke, te je potrebno jako puno energije i sastojaka kako bi se izgradila nova tkiva. To se postiže procesom disanja i drugim životnim aktivnostima. Razgradnja zrna događa se uz pomoć djelovanja enzima bez kojih proces sladovanja ne bi bio moguć, jer sudjeluju u transformacijama sastojaka koji naposljetku reagiraju s vodom. Od enzima, najzastupljeniji su α i β -amilaza, citolitički enzimi, beta gukanaza i citaza, zatim enzimi za razgradnju proteina, proteaze i enzimi za razgradnju estera fosfatne kiseline, fosfataze (Kunze, 1998).

Sušenje zelenog slada

Zeleni slad nastaje klijanjem zrna, ali je zbog velike količine vode jako nestabilan, pa mu se voda mora ukloniti sušenjem. U procesu sušenja koriste se atmosferske ili vakumske sušnice s toplim zrakom o kojima ovisi dužina, način sušenja i tip sušenja slada. Zeleni slad predstavlja enzimski pripravak pa treba biti pažljiv tijekom procesa sušenja, da ne bi došlo do inaktivacije enzima. Sve u svemu tijekom ovog procesa treba biti oprezan da ne bi došlo do različitih neželjenih kemijskih, biokemijskih i fizičkih promjena (Kunze, 1998).

Dorada osušenog slada

Zadnji korak koji podrazumijeva hlađenje slada odvija se u posebnim spremištima. Propuhivanje se odrađuje uz pomoć svježeg zraka, zatim se odvaja korijen zbog gorčine koju izaziva i utjecaja na samu boju sladovine. Slijedi poliranje slada kako bi se uklonile zaostale nečistoće kao što je prašina ili preostala pljevica (Kunze, 1998).

Nakon odležavanja od 21-og dana, vrši se transport slada do određene lokacije, gdje se provodi proizvodnja sladovine.

2.2. FTALATI

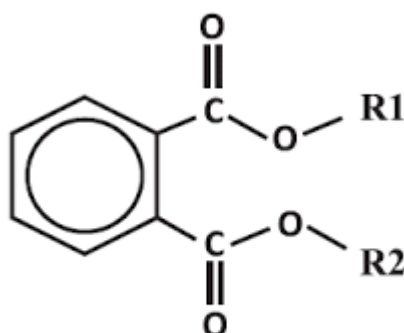
Ftalati su višenamjenske kemikalije široko korištene u trgovini, a proizvodi ih se u jako velikim količinama. Ftalati visoke molekularne težine poput di(2-etilheksil) ftalata (DEHP) i diisononil ftalata (DiNP) obično se koriste kao plastifikatori u materijalima od polivinil klorida (PVC) kao što su ambalaža za hranu i materijali koji dolaze u kontakt s hranom. U proteklih dvadeset godina Europska unija i Sjedinjene Američke Države (SAD) ograničile su upotrebu nekoliko ftalata, uključujući DEHP i di-n-butil ftalat (DnBP) u komercijalnim proizvodima (Edwards i sur., 2021).

Dopuštene dnevne doze (TDI) odredila je Europska agencija za sigurnost hrane (EFSA), naime 0,01 mg/kg tm za DnBP (EFSA, 2005a), 9,95 mg/kg tm za DEHP (EFSA, 2005b), 0,50 mg/kg tm za BBP (EFSA, 2005c) i skupina TDI od 0,15 mg/kg tm za DiDP i DiNP (EFSA, 2005d,e) (Fierens i sur., 2012).

Izloženost ljudi ftalatima široko je rasprostranjena jer oni lako migriraju iz proizvoda. Izloženosti biomarkerima ftalata otkrivaju se u više od 98% stanovništva SAD-a (Edwards i sur., 2021). Izloženost ftalatima kao što su DEHP i DNBP povezana je sa štetnim učincima na zdravlje

uključujući i neurorazvojne, metaboličke i reproduktivne poremećaje. DEHP je dobro poznati muški reproduktivni toksikant i izaziva kriptorhidizam i promjene u testikularnom testosteronu i homeostazi Leydigovih stanica (Edwards i sur., 2021).

Ftalati (PAE) su poluhlapljivi organski spojevi (SVOC) (Benson, 2009), a po kemijskom sastavu esteri ftalatne kiseline. Glavni su plastifikatori koji se koriste u industriji polimera od 1930-ih. Imaju raznoliku primjenu u potrošačkim proizvodima na bazi plastike, kao što su građevinski materijali (podne i zidne obloge i električni kabeli), igračke za bebe, odjeća, tiskarske boje, materijali za pakiranje, pesticidi, osobna njega i kozmetika, farmaceutski i medicinski proizvodi. Obično se dodaju plastičnim materijalima, kao što su polivinil klorid (PVC), polietilen tereftalat (PET), polivinil acetat (PVA) i polietilen (PE), u postotku od 10% do 60% PAE po težini kako bi se poboljšala rastezljivost, elastičnost i obradivost polimera (Giuliani i sur., 2020).



Slika 3. Kemijska struktura ftalata;

Rx – alkilne, alkenilne ili arilne skupine (Chou i Wright, 2006)

2.2.1. Fizikalno-kemijska svojstva ftalata

Fizikalno-kemijska svojstva ftalata variraju ovisno o kemijskoj strukturi (Schettler, 2006). Na sobnoj temperaturi gotovo su bezbojne uljaste tekućine bez mirisa i topljivost u mastima im raste ovisno o tome koliko im je dug lanac. Njihovo nisko talište i relativno visoko vrelište ih čini vrlo korisnima kao plastifikatorima, tekućinama za prijenos topline i nosačima u industriji

proizvodnje polimera. Linearni i razgranati esteri koriste se u proizvodnji plastike, posebice linearni koji pružaju vrhunsku fleksibilnost na niskim temperaturama i imaju nižu hlapljivost. Prema duljini bočnih lanaca R i R', klasificiraju se na ftalate niske molekularne težine (LMW PAEs) i ftalate visoke molekularne težine (HMW PAEs) (Giuliani i sur., 2020).

Ftalati niske molekularne težine uključuju one s 3-6 atoma ugljika u bočnom lancu (di-n-butil ftalat (DBP), benzil butilftalat (BBP) i di(2-etilheksil) ftalat (DEHP)). Koriste se u PVC proizvodima, kao i u medicinskim uređajima, ljepilima, bojama, tiskarskim bojama i enteričnim tabletama. Ftalati s kraćim akrilnim lancem (dimetil ftalat (DMP) i dietil ftalat (DEP)) široko su rasprostranjeni i koriste se kao otapala i fiksativi u mirisima, aditivi u kozmetici, medicinskim uređajima i kućanstvu i proizvodima za osobnu njegu. DMP i DEP dopuštaju mirisu parfema da sporije isparava, imaju učinak da što duže zadrže miris parfema (Giuliani i sur., 2020, Wypych, 2017).

Ftalati visoke molekularne težine s R i R₀ od 7 do 13 atoma ugljika uključuju uglavnom diisononil ftalat (DINP) i diizodecil ftalat (DIDP). U industriji se uglavnom koriste kao plastifikatori za povećanje mekoće, fleksibilnosti, istezanja i trajnosti krutih polimera kao što je PVC. Oni predstavljaju 80% PAE-a koji se koriste u Europi za plastificirane proizvode kao što su žice i kabeli, podovi, zidne obloge, samoljepljive folije ili naljepnice, sintetička koža, tkanine za presvlačenje, krovne membrane i automobilske aplikacije (Giuliani i sur., 2020, Chiellini i sur., 2013).

Zbog svoje raširene industrijske primjene, PAE su sveprisutni zagađivači u svim dijelovima okoliša: zraku (atmosferski aerosoli i unutarnji zrak), rijeci, morskoj vodi/sedimentima, tlu (mulj iz obrade kanalizacije i otpadnih voda) i bioti (Giuliani i sur., 2020, Net i sur., 2015.). U vodenom sustavu, ispiranje, drenaža i atmosfersko taloženje glavni su izvor PAE. Prisutni su i u otopljenoj fazi i povezani sa suspendiranom čvrstom tvari (SSM). DMP, DEP, DBP, BBP, DEHP i di-n-oktil ftalat (DnOP) su među najčešće deklariranim u površinskim vodama (morskoj i slatkoj vodi). DBP i DEHP prevladavaju u slatkoj i morskoj vodi. Biorazgradnja je najvažniji proces uklanjanja PAE iz voda (Giuliani i sur., 2020).

U tlu su DBP i DEHP najzastupljeniji PAE kao rezultat atmosferskog taloženja i izmjene kanalizacijskog mulja. Prema Vikelsøe i sur. (2002) postoji korelacija između koncentracije PAE u tlu i razine izmijenjenog mulja. Općenito, neobrađeno tlo sadrži najniže PAE, što sugerira da ove vrste onečišćujućih tvari uglavnom potječu od ljudskih poljoprivrednih aktivnosti (Giuliani

i sur., 2020). Toksičnost PAE za vodenu sredinu uvjetovana je njihovim fizikalno-kemijskim svojstvima. Njihova topljivost u vodi utječe na njihovu toksičnost za vodenu sredinu, bioakumulaciju i biorazgradnju. Kow, mjera lipofilnosti, raste kako se povećava broj atoma ugljika u bočnom lancu, tako se PAE s dužim lancem lakše akumuliraju u organizam. Međutim, visoko hidrofobni spojevi se ne ponašaju isto. Podaci o akutnoj i kroničnoj toksičnosti pokazuju da dok niži ftalati (<C6) pokazuju toksičnost, viši ftalati (>C6) imaju smanjenu toksičnost za vodene organizme (ribe, alge i beskralješnjake) čak i pri koncentracijama do graničnih vrijednosti topljivosti (Giuliani i sur., 2020).

2.2.2. Ftalatni esteri

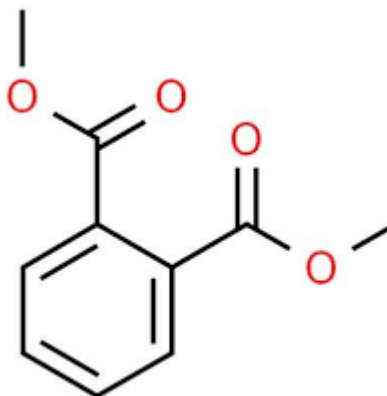
Ftalati su skupina diestera orto-ftalatne kiseline (dialkil ili alkil/aril esteri 1,2-benzendikarboksilna kiseline) (Cao, 2010). Oni ulaze u ljudsko tijelo na različite načine uključujući apsorpciju preko kože, disanjem i gutanjem, gdje se najveća izloženost odvija gutanjem kontaminirane hrane. Većina ftalatnih estera pripada endokrinim i metaboličkim disruptorima i dugotrajna izloženost ovim spojevima može rezultirati različitim štetnim učincima kao što su rak dojke, rak prostate, poremećaji biosinteze i funkcije androgenih hormona, poremećaji štitnjače, neplodnost, poremećaj pažnje i hiperaktivnost (ADHD), pretilost, oštećenje jetre, proliferacija slobodnih radikala, mutagenost i teratogenost (Rastkari i sur., 2017).

Esteri ftalatne kiseline s kratkim alkilnim skupinama, npr. metilne i butilne skupine topljivi su u vodi, dok su ftalati s dugim alkilnim ili aromatskim dijelovima u bočnim lancima manje topljivi u vodi. Zbog lipofilnosti najviše ftalata nalazi se u masnoj hrani kao što su meso i riba (Jurica i sur., 2013).

Ftalatni esteri nalaze se u širokoj paleti potrošačkih proizvoda i pakiranja hrane, stoga postoji široka izloženost ljudske populacije ovim kemikalijama. Poznato je da su neki od ftalatnih estera toksični za muški reproduktivni sustav u razvoju. Esteri ftalata koriste se kao plastifikatori za davanje fleksibilnosti i otpornosti plastičnim proizvodima. Mnogi potrošački proizvodi i proizvodi za pakiranje hrane sadrže estere ftalata. Ftalatni esteri nisu kovalentno vezani u proizvodima u kojima se koriste i mogu završiti u okolišu (Benson, 2009).

Dimetil ftalat

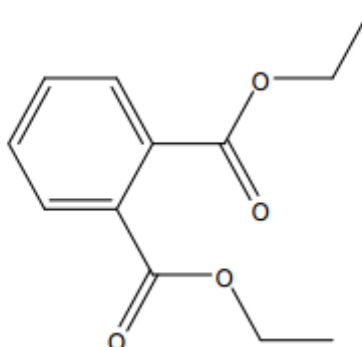
Najčešće se primjenjuje u medicini i veterinarskoj medicini. Za životinje služi kao alat za zaštitu od insekata, u prvom redu komaraca i muha, zatim buha, krpelja, mušica i dr. Populacija ljudi ga koristi protiv gljivica i za redovitu prevenciju od krpelja. Često se koristi i u industriji mirisa, zatim u plastici i reaktivnim gorivima (<https://hr.puntomariner.com/dimethyl-phthalate-what-it-is/>).



Slika 4. Kemijska struktura dimetil ftalata (Izvor:<http://hr.alfachemar.com/organic-chemistry/dimethyl-phthalate-cas-no-131-11-3.html>)

Dietil ftalat

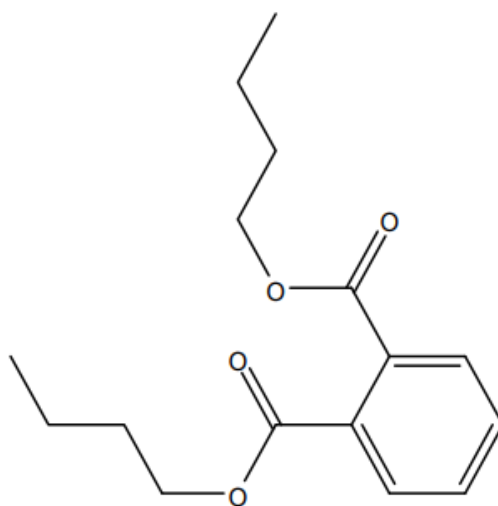
Pronalazimo ga u dječjim igračkama, četkicama za zube, automobilskim dijelovima, alatu, ambalaži za hranu, kozmetici, insekticidima, aspirinu i dr. (Benson, 2009).



Slika 5. Kemijska struktura dietil ftalata (DEP-a) (Giuliani i sur., 2020)

Dibutil ftalat i diizobutil ftalat

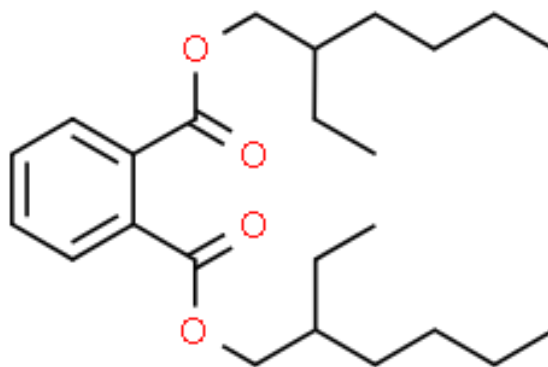
Primjenjuju se u plastičnim proizvodima koji sadrže nitrocelulozu, polivinil acetat ili polivinil klorid, zatim u raznim farmaceutskim premazima, lakovima za nokte, sprejevima za kosu (Benson, 2009), te dibutil ftalat najčešće možemo pronaći u nekim alkoholnim pićima. Jedan od izvora kontaminacije mogu biti plastični i gumeni dijelovi pumpi i druge opreme tijekom proizvodnje alkoholnih pića, posebno oni koji su u kontaktu s destilatom. Dibutil ftalat i diizobutil ftalat glavni su kontaminanti iz epoksidnih premaza za skladištenje i spremnike za fermentaciju (Horák, 2020).



Slika 6. Kemijska struktura di-n-butil ftalata (DBP) (Giuliani i sur., 2020)

Bis(2-etilheksil) ftalat

Glavna primjena mu je da se koristi kao plastifikator (Benson, 2009).

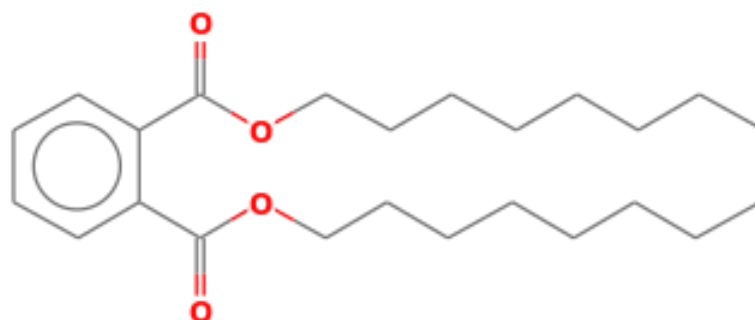


Slika 7. Kemijska struktura bis(2-etilheksil) ftalata

(Izvor: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.21106505.html>)

Di-n-oktil ftalat

Može se pronaći u predmetima za kućanstvo, u građevinskom materijalu, te se primjenjuje u proizvodnji hrane (Benson, 2009).



Slika 8. Kemijska struktura di-n-oktil ftalata

(Izvor: <https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=117-84-0&Units=SI>)

2.2.3. Utjecaj ftalata na ljudsko zdravlje

Plastika je donijela veliku korist društvu otkako je izumljena, 1907. godine. Međutim ima mnoge negativne utjecaje na okoliš i ljudsko zdravlje, što je postalo globalni problem (Wang i Qian, 2021). Izloženost ljudi ftalatima izaziva povećanu zabrinutost zbog nalaza toksikoloških studija na životinjama (Silva i sur; 2004). Primijećeni učinci kod laboratorijskih testiranja na životinjama dokazali su alergijske reakcije dišnog sustava i stvaranje tumora, iako nije znanstveno dokazano da ftalati mogu izazivati tumore kod ljudi (Chou i Wright, 2006).

Godišnje se globalno proizvede više od tri milijuna tona ftalata (Bizzari i sur, 2000). Prilike za njihovim izlaganjem veće populacije ljudi su velike zbog njihove raširene uporabe (Schettler, 2006).

DEHP je jedan od važnijih i široko korištenih ftalata, a karcinogen je za jetru glodavaca. DEHP, DBP i nekoliko ftalatnih metabolita, kao što su monobutil ftalat (mBP), monobenzil ftalat (mBzP) i mono(2-etilheksil) ftalat (mEHP), imaju teratogeni učinak na životinje (Silva i sur; 2004). U istraživanju koje su proveli Colon i sur. (2000) ftalati su najvjerojatnije uzrokovali prerani razvoja grudi kod Portorikanki. Istraživanja sugeriraju tri općenite vrste mogućih zdravstvenih problema izloženosti PFA: razvojna i reproduktivna toksičnost, alergija/astma i karcinogenost. Pregrišt drugih studija također povezuje alergije i astmu s izloženošću MBP-u, MEP-u, DEHP-u i BBzP-u. Čini se da su neki od tih učinaka specifični za kemijsku strukturu ftalata i ovisе o vremenu i putu izlaganja (Chou i Wright, 2006). Studijom Bornehag i sur. (2004) dokazana je poveznica između ftalata koji se nalaze u kućnoj prašini i astme i alergijskih simptoma kod djece.

Hrana je glavni izvor ljudske izloženosti ftalatima, stoga je važno pratiti podatke za procjenu izloženosti ljudi (Cao, 2010). Ftalati obično ne namjerno dospiju u hranu tijekom obrade i pakiranja, a najčešće dospiju izravnim kontaktom hrane s površinama procesne opreme i materijala za pakiranje koja sadrži PFA. Zagrijavanje hrane u pakiranjima gotovih proizvoda uvelike olakšava migraciju ftalata iz materijala pakiranja u hranu (Chou i Wright, 2006). Osim putem hrane, do unosa ftalata u organizam čovjeka može doći unosom lijekova, biljnih pripravaka, dodataka prehrani, preko dječjih igračaka za sisanje i drugih predmeta koji se stavljaju u usta. Koža također može doći u izravan kontakt s odjećom koja sadrži ftalate, kozmetikom, kremama za sunčanje, insekticidima, proizvodima za čišćenje i itd. Općenito, transdermalna apsorpcija ovisi o koncentraciji, kemijskoj strukturi, te topljivosti ftalata u vodi (Schettler, 2006).

Kontaminacija okoliša jedan je od izvora prisutnih ftalata u hrani s obzirom da ih se može pronaći bilo gdje oko nas. Iako se upotreba ftalata u materijalima za pakiranje hrane smanjuje, još uvijek ima mnoštvo proizvoda koji ih sadrže kao plastifikatore i koriste ih za pakiranje i preradu hrane. Ukoliko je hrana u kontaktu s plastifikatorima može doći do migracije PAE u nju. Ftalati se kao kontaminanti još mogu nalaziti u PVC cijevima za mužnju, u folijama za pakiranje hrane. Također ih sadrže i PVC brtve u metalnim čepovima za staklene posude,

tiskarske boje, ambalaža od papira i kartona, PVC rukavice, laminati od aluminijske folije i papira, premazi na posuđu, PET boce za flaširanu vodu, bezalkoholna pića i drugi prehrambeni proizvodi (Cao, 2010).

Unatoč kratkom poluživotu u tkivima, kronična izloženost ftalatima nepovoljno će utjecati na endokrini sustav i funkcioniranje organa, što ima negativne dugoročne učinke na uspjeh trudnoće, rast i razvoj djeteta, te reproduktivni sustav male djece i adolescenata (Wang i Qian, 2021).

U studijama na ljudima ftalati su povezani s lošijom kvalitetom sperme kod muškaraca. Biološki učinci uključuju poremećaj ravnoteže spolnih hormona, alergijske reakcije i inhibiciju enzima (Chou i Wright, 2006). Procjenjuje se da su ljudi u prosjeku izloženi ftalatima u količini od 1 g/dan (Giuliani i sur., 2020). Treba razmotriti alternative ftalatima s manjom toksičnošću i slabijom kvotom izlaženja iz plastičnih materijala, posebno u industriji zdravstvene zaštite (Benson, 2009).

2.2.4. Načini smanjenja izloženosti ftalatima

Ftalati se koriste u plastičnim proizvodima i sveprisutni su u sličnim proizvodima i zato ograničavanje njihove prisutnosti može biti izazovno. Kontaminirana hrana, mirisna kozmetika, proizvodi za osobnu higijenu, te aerosolni sprejevi u kućanstvu najviše doprinose izloženosti ftalatima u općoj populaciji. Hrana pakirana u plastiku (narezani sir, plastične kutije za mlijeko, itd.) vjerojatno ima veće koncentracije ftalata od proizvoda koji nisu pojedinačno zamotani ili zapakirani u plastičnu ambalažu. Svježe povrće za razliku od smrznutog povrća ili visoko prerađeni proizvodi, obično sadrže manje ftalata. Važno je znati da su mnogi proizvodi od papira na današnjem tržištu presvučeni plastičnim filmovima koji sadrže ftalate.

Količina izlaganja se može smanjiti dugoročnim korištenjem neplastičnih posuda za skladištenje hrane, izbjegavanjem direktnog kontakta vruće hrane ili pića sa plastičnom ambalažom koja sadrži ftalate i smanjenjem konzumacije visoko prerađene hrane (Chou i Wright, 2006).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Zadatak

Cilj ovog rada bio je procijeniti i kvantificirati pojavu različitih ftalata u sladu izloženom različitim temperaturama sušenja (50 - 210 °C) tijekom varijabilnog vremenskog okvira.

3.2. Materijal i metode

Uzorak ječma kupljen je u lokalnoj trgovini opremom za proizvodnju slada i piva. Postupak mikroslađenja je proveden na sljedeći način.

3.2.1. Postupak mikroslađenja

Mikroslađenje je provedeno prema MEBAK®. Dvjesto pedeset grama ječma namočeno je u 500 mL vode iz slavine, prema postupku opisanom u MEBAK® i prikazanom u tablici 2. Namakanje i klijanje obavljeno je u klima komori (Euclid, d.o.o, Vinkovci, Hrvatska) . Ukupno je oslađeno 15 šarži, što je rezultiralo cca 4 kg slada. Sušenje zelenog slada prilagođeno je prema osnovnom MEBAK® protokolu s porastom temperature za 10 °C svakih sat vremena od 50 - 210 °C, a posljednja dva uzorka su bila izložena visokim temperaturama dva sata (kao što je prikazano u tablici 2). Sušenje je obavljeno u sušnici Memmert UFE 400 (Memmert GmbH, Schwabach, Njemačka). Nakon sušenja, slad je prebačen u papirnate vrećice i držan na sobnoj temperaturi dva tjedna radi uspostavljanja ravnoteže vlage. Nakon dva tjedna, uzorci su samljeveni na mlinu IKA® M20 (IKA®-Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Njemačka) i potom zatvoreni u staklene posude (25 mL) s metalnim čepovima. Kako bi se spriječila vanjska kontaminacija uzoraka, staklenke i čepovi su isprani acetonom, označeni i proslijeđeni na analizu.

Tablica 2. Opća shema mikroslađenja uzorka ječma

DAN	KORAK MIKROSLAĐENJA I RADNI UVJETI	BROJ UZORKA
	Ječam	0
1.	namakanje uranjanjem 5 h na 14 °C; suho močenje tijekom 19 h na 14 °C, relativna vlažnost zraka 95 %.	
2.	namakanje uranjanjem 4 h na 14 °C; suho močenje 20 h na 14 °C, relativna vlažnost zraka 95 %.	
3.	Namakanje uranjanjem 1 h na 14 °C, relativna vlažnost zraka 95 %.	
3.- 6.	Klijanje je obavljeno prema shemi: 96 h na 14 °C Relativna vlažnost zraka u svakom koraku bila je 95 %	
7.	Sušenje je obavljeno 19 sati, prema standardnim postupcima za svijetli slad, nakon zadnjeg sata klijanja; dodatne temperature postavljene su prema standardnoj proceduri	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15
	otkicavanje slada; pakiranje u papirnate vrećice i skladištenje	

3.2.2. Reagensi i materijali

U ovom istraživanju korišteni su standardni ftalata (PAE), dimetil ftalat (DMP; $C_{10}H_{10}O_4$), dietil ftalat (DEP; $C_{12}H_{14}O_4$), diizobutil ftalat (DiBP; $C_{16}H_{22}O_4$), dibutil ftalat (DBP; $C_{16}H_{22}O_4$), bis(2-etilheksil) ftalat (DEHP; $C_{24}H_{38}O_4$), di-n-oktil-ftalat (DnOP; $C_{24}H_{34}O_4$) kupljeni od dr. Ehrenstorfer GmbH (Njemačka). Validacija metode uključivala je određivanje retencije i kvalitativno i kvantitativno praćenje iona. Korišteni n-heksan je HPLC čistoće (Carlo Erba, Milano, Italija). Otopine svakog ftalata pripremljene su u koncentracijama od 1 mg/mL. Otopine ftalata u različitim koncentracijama (0,005, 0,01, 0,1, 0,05, 0,5 $\mu\text{g/mL}$) pripremljene su razrjeđivanjem u n-heksanu, a zatim su pohranjene u bočicama na -20 °C. Kako bi se izbjegla unakrsna kontaminacija reagensima, materijalima i laboratorijskom opremom, proveden je

postupak temeljitog čišćenja: stakleno posuđe namočeno je i oprano u acetonu, sušeno na 140 °C najmanje 4 sata. Sva otapala korištena u analizi testirana su kako bi se provjerila potencijalna prisutnost PAE kontaminacije pomoću GC–MS analize. Ultra čista voda proizvedena je Milli-Q sustavom (Millipore, Bedford, SAD) (Kartalović I sur., 2021.).

3.2.3. Obrada uzoraka

Za pripremu uzorka korištena je QuEChERS modificirana metoda prema **Rodriguez-Ramon (2019)**. Količina od 5 ml uzorka prebačena je u staklenu epruvetu uz dodatak 5 ml acetonitrila i 5 ml vode. Smjesa je snažno trešena 1 minutu, a zatim nakon dodatka 3 g bezvodnog $MgSO_4$ i 1 g NaCl, uzorak je ponovno protrešen i potom centrifugiran 5 minuta.

1 ml ekstrakta prebačeno je u epruvetu od 15 ml koja sadrži 150 mg bezvodnog $MgSO_4$, 50 mg PSA i 50 mg C_{18} , zatim mučkana 1 minutu i centrifugirana sljedećih 5 minuta (5000 o/min).

Čisti ekstrakt acetonitrila prenesen je u GC bočicu i ubrizgan za analizu.

GCMS analiza i instrumentacija

Identifikacija ftalata (Kartalović I sur., 2021.) temeljila se na usporedbi vremena zadržavanja vršnih vrijednosti i ciljnih iona s onima dobivenim iz standardne mješavine ftalata (standardi koje je dostavio proizvođač instrumenta). Kvantifikacija se temeljila na vanjskim kalibracijskim krivuljama pripremljenim iz standardne otopine svakog od ispitivanih ftalata.

Provjera vršnih vrijednosti je provedena na temelju retencijskih vremena, a ciljni ioni uspoređeni su s onima vanjskih ftalata. Slijepe probe otapala su analizirane i kvantificirane, a neki ftalati su pronađeni u tim slijepim probama, ali je količina bila niža od LOQ.

Određivanje je provedeno u *splitless* modu. Plin nosač bio je helij, brzina: 35,698 cm/sek; tlak: 7,0 psi. Određivanje je obavljeno pri konstantnom protoku.

3.3. Statistička analiza

Provedena je analiza varijance (ANOVA) i Fisherov test najmanje značajne razlike (LSD), a najmanja statistička značajnost postavljena je na $p < 0,05$. Podaci su obrađeni pomoću programa Statistika 13.1. (TIBCO Software Inc., Palo Alto, CA, SAD).

4. REZULTATI I RASPRAVA

Ftalati su popularna skupina spojeva i danas se uglavnom na njih referira kao na spojeve koji negativno utječu na ljudsko zdravlje. Iz tog razloga sve se više vremena posvećuje uvođenju graničnih vrijednosti ftalata u legislativu koja se tiče prehrambene industrije. U zadnje vrijeme objavljeno je nekoliko radova koji se bave ftalatima u pivu i jasno je da se ftalati mogu pronaći u pivu (Nurlatifah i Nakata, 2021.; Carnol i sur., 2017.; Ye i sur, 2019.; Horák i Olšovská, 2020.). Pretpostavlja se da se u pivu mogu pronaći zbog kontakta sa plastičnim materijalima tijekom proizvodnog procesa (cjevovodi, spremnici i sl.) (Sendón i sur., 2012.; Carnol i sur., 2017.; Fasano i sur., 2012.), no kako je potvrdilo ovo istraživanje i slad može biti izvor kontaminacije. Prema Carnol i sur. (2017.) i Ye i sur. (2019.), etanol u pivu može pomoći oslobađanju ftalata u pivo.

U Tablici 3. prikazani su rezultati istraživanja. Iz tablice je vidljivo da se u sladu tijekom sušenja događaju promjene u koncentraciji ftalata. Dimetil ftalat i di-n-oktil ftalat nisu detektirani niti u jednom uzorku slada dok se bis(2-etilheksil) ftalat pronašao u svim uzorcima. Najviša koncentracija ovog spoja pronađena je u uzorku P7 koji je bio izložen temperaturi 110 °C tijekom sat vremena. Čini se da je viša temperatura djelovala redukcijski na koncentraciju ovog spoja, te ona doseže najmanju vrijednost u uzorku P10, te iznosi 15,097 µg/kg. Koncentracije dietil ftalata bile su niske u odnosu na prethodno opisani spoj pri čemu je maksimalna vrijednost iznosila 16,428 µg/kg za uzorak P4 koji je bio izložen temperaturi 80 °C. Već 10 °C viša temperatura u uzorku P5 uzrokovala je smanjenje koncentracije ovog spoja.

Tablica 3. Dobiveni rezultati analize ftalata u sladovima sušenim kroz 1 h ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

Uzorak	Dimetil ftalat	Dietil ftalat	Diizobutil ftalat	Dibutil ftalat	Bis(2- etilheksil) ftalat	Di-n-oktil ftalat	Zbroj
P1	< LOQ	7,441	35,686	12,487	98,460	< LOQ	154,074
P2	< LOQ	4,498	11,079	28,514	125,797	< LOQ	169,888
P3	< LOQ	0,632	0,000	45,803	93,886	< LOQ	140,321
P4	< LOQ	16,428	128,359	151,614	118,207	< LOQ	414,608
P5	< LOQ	0,000	19,310	0,000	77,228	< LOQ	96,538
P6	< LOQ	4,241	0,368	0,000	104,634	< LOQ	109,243
P7	< LOQ	5,260	23,047	289,071	133,980	< LOQ	451,358
P8	< LOQ	0,000	10,981	217,210	71,508	< LOQ	299,700
P9	< LOQ	0,574	24,796	209,511	35,825	< LOQ	270,706
P10	< LOQ	0,000	19,054	141,112	15,097	< LOQ	175,264
P11	< LOQ	0,000	16,343	160,992	21,251	< LOQ	198,586
P12	< LOQ	2,964	29,719	244,137	35,901	< LOQ	312,721
P13	< LOQ	0,000	37,611	308,450	42,945	< LOQ	389,006

Dibutil ftalat pojavljuje se u nekim uzorcima u koncentracijama višim od $200 \mu\text{g}/\text{kg}$. To su uglavnom uzorci sušeni na visokim temperaturama ($110\text{--}220 \text{ }^\circ\text{C}$) iz čega se može zaključiti da više temperature pogoduju nastanku/razvoju ovog spoja. Najviša detektirana vrijednost pronađena je u uzorku P13 ($308,450 \mu\text{g}/\text{kg}$).

Diizobutil ftalat je pronađen u gotovo svim spojevima osim u uzorku P3 pri čemu se iz dobivenih rezultata može zaključiti da se koncentracije ovog spoja ne mijenjaju značajno tijekom sušenja i sa povećanjem temperature.

Europska komisija je regulirala, i to prilično stogo koncentracije ftalata u materijalima koji imaju kontakt sa hranom, ali još uvijek se ta regulacija ne odnosi na koncentraciju ftalata u samoj hrani. Drugim riječima, nije regulirano kolike su dopuštene vrijednosti ftalata u pojedinoj hrani. Kako su ovi spojevi poznati kao endokrini disruptori i uzrokuju ozbiljne zdravstvene probleme kod ljudi i životinja, bilo bi dobro da se donese legislativa koja bi ograničavala koncentraciju ftalata u hrani.

Kako se slad u prehrambenoj industriji koristi i u pekarskoj i keksarskoj industriji, a ne samo kao sirovina za pivo, potrebno je obratiti pozornost na ove rezultate jer ftalati mogu završiti u gotovim proizvodima koje konzumiraju sve dobne skupine. Pri tome može doći do unošenja prevelike količine ftalata u organizam. Pivo je također vrlo raširena namirnica i konzumiraju ga i muškarci (većinom) i žene. Ovo istraživanje pokazalo je da se ftalati iz slada mogu potencijalno prenijeti i u pivo.

5. ZAKLJUČCI

Na osnovi rezultata istraživanja provedenih u ovom radu, mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. Ftalati su detektirani u uzorcima slada.
2. Dimetil ftalat i di-n-oktil ftalat nisu detektirani niti u jednom uzorku slada dok se bis(2-etilheksil) ftalat pronašao u svim uzorcima sa najvišom koncentracijom (133,980 µg/kg) ovog spoja u uzorku P7 koji je bio izložen temperaturi 110 °C tijekom sat vremena. Najmanju vrijednost detektirali smo u uzorku P10, 15,097 µg/kg.
3. Koncentracije dietil ftalata bile su niske u odnosu na prethodno opisani spoj pri čemu je maksimalna vrijednost iznosila 16,428 µg/kg za uzorak P4 koji je bio izložen temperaturi 80 °C. Već 10 °C viša temperatura u uzorku P5 uzrokovala je smanjenje koncentracije ovog spoja..
4. Obzirom da se slad koristi, osim u proizvodnji alkoholnih pića kao što su pivo i whiskey, i u proizvodima koji su dostupni svim dobnim skupinama (pekarski proizvodi, keksi i sl.), podaci su zabrinjavajući i zahtijevaju više pozornosti legislativnih tijela.

6. LITERATURA

- Benson R: Hazard to the developing male reproductive system from cumulative exposure to phthalate esters-dibutyl phthalate, diisobutyl phthalate, butylbenzyl phthalate, diethylhexyl phthalate, dipentyl phthalate, and diisononyl phthalate. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. Elsevier Inc., 53(2):90–101, 2020.
- Bornehag CG, Sundell J, Weschler CJ, Sigsgaard T, Lundgren B, Hasselgren M, Hagerhed Engman L: The association between asthma and allergic symptoms in children and phthalates in house dust: a nested case-control study. *Environ Health Perspect* 112:1393–1397, 2004.
- Cao XL: Phthalate Esters in Foods: Sources, Occurrence, and Analytical Methods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(1):21–43, 2010.
- Carnol, L., Schummer, C. & Moris, G. Quantification of Six Phthalates and One Adipate in Luxembourgish Beer Using HS-SPME-GC/MS. *Food Analytical Methods* 10:298–309 (2017).
- Chiellini F, Ferri M, Morelli A, Dipaola L, Latini G: Perspectives on alternatives to phthalate plasticized poly(vinyl chloride) in medical devices applications. *Prog. Polym. Sci.*, 38, 1067–1088, 2013.
- Chou K, Wright RO: Phthalates in food and medical devices. *Journal of medical toxicology : official journal of the American College of Medical Toxicology*, 2(3):126–135, 2006.
- Colon I, Caro D, Bourdony CJ, Rosario O: Identification of phthalate esters in the serum of young Puerto Rican girls with premature breast development. *Environ Health Perspect* 108:895-900, 2000.
- Edwards L, McCray NL, VanNoy BN, Yau A, Geller RJ, Adamkiewicz G, Zota AR: Phthalate and novel plasticizer concentrations in food items from U.S. fast food chains: a preliminary analysis. *Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology*. Springer US, September:1–8, 2021.
- Fasano E, Bono-Blay F, Cirillo T, Montuori P, Lacorte S. Migration of phthalates, alkylphenols, bisphenol a and di(2-ethylhexyl) adipate from food packaging. *Food Control*, 27(1):132–138, 2012.
- Fierens T, Servaes K, Van Holderbeke M, Geerts L, De Henauw S, Sioen I, Vanermen G: Analysis of phthalates in food products and packaging materials sold on the Belgian market. *Food and Chemical Toxicology*. Elsevier Ltd, 50(7):2575–2583, 2012.
- Giuliani A, Zuccarini M, Cichelli A, Khan H, Reale M: Critical review on the presence of phthalates in food and evidence of their biological impact. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(16):1–43, 2020.
- Horák T, Olšovská J: Phthalates in beverages - A review. *Kvasny Prumysl*, 66(3): 264–269, 2020.
- Kartalović B, Vranešević J, Petrović J, Đurđević B, Ratajac R. Detekcija ostataka mikroplastike - razvoj metode za ftalate u medu. *Arhiv veterinarske medicine*, 14(2):19 - 33, 2021.

- Kunze W.: *Technologie Bauer und Malzer*. 7. völlig neubearbeitete Auflage, VLB Berlin, 1994.
- Marić V: Proizvodnja ječmenog slada. U *Biotehnologija i Sirovine*, str. 155-180. Stručna i poslovna knjiga d.o.o., Zagreb, 2000.
- Net S, Sempéré R, Delmont A, Paluselli A, Ouddane B: Occurrence, fate, behavior and ecotoxicological state of phthalates in different environmental matrices. *Environ. Sci. Tech.* 49, 4019–4035, 2015.
- Nurlatifah, Nakata, H. Monitoring of polymer type and plastic additives in coating film of beer cans from 16 countries. *Scientific Reports* 11, 22115 (2021).
- Rastkari N, Jeddi MZ, Yunesian M, Ahmadkhaniha R: The effect of storage time, temperature and type of packaging on the release of phthalate esters into packed acidic liquids. *Food Technology and Biotechnology*, 55(4):562–569, 2017.
- Rezaei H, Moazzen M, Shariatifar N, Khaniki GJ, Dehghani MH, Arabameri M, Alikord M: Measurement of phthalate acid esters in non-alcoholic malt beverages by MSPE-GC/MS method in Tehran city: chemometrics. *Environmental Science and Pollution Research*. Environmental Science and Pollution Research, 28(37):51897–51907, 2021.
- Russo MV, Notardonato I, Avino P, Cinelli G: Fast determination of phthalate ester residues in soft drinks and light alcoholic beverages by ultrasound/vortex assisted dispersive liquid-liquid microextraction followed by gas chromatography-ion trap mass spectrometry. *RSC Advances*. 4:59655-59663, 2014.
- Schettler T: Human exposure to phthalates via consumer products. *International Journal of Andrology*, 29(1):134–139, 2006.
- Schuster K, Weinfurtnner F, Narziss L: Die Technologie der Würzebereitung, (1985) Tehnologija proizvodnje sladovine. 15-18,25-33, 236-243, prijevod S.Gaćeša, Posl. zajed. ind. piva i slada Jug. 1988.
- Sendón R, Sanches-Silva A, Bustos J, Martín P, Martínez N, Cirugeda M. Detection of migration of phthalates from agglomerated cork stoppers using HPLC-MS/MS. *Journal of Separation Science*, 35(10–11):1319–1326, 2012.
- Serrano SE, Braun J, Trasande L, Dills R, Sathyanarayana S: Phthalates and diet: A review of the food monitoring and epidemiology data. *Environmental Health: A Global Access Science Source*, 13(1), 2014.
- Silva MJ, Barr DB, Reidy JA, Malek NA, Hodge CC, Caudill SP, Brock JW, Needham LL, Calafat AM: Urinary levels of seven phthalate metabolites in the U.S. population from the national health and nutrition examination survey (NHANES) 1999–2000. *Environ Health Perspect* 112(3):331–8, 2004.
- Šakić N, Blesić M: *Osnovi tehnologija slada i piva*. Poljoprivredno-prehrambeni fakultet, Sarajevo, 2011.
- Šimić G: Utjecaj genotipa i okolišnih uvjeta na parametre sladarske kakvoće ozimog ječma

(*Hordeum vulgare* L.). *Disertacija*. Poljoprivredni institut Osijek, 2009.

Štefanić K, Marić V: *Pivarski priručnik*. Jugoslavensko udruženje pivovara, Beograd, 1990.

Vikelsøe J, Thomsen M, Carlsen L: Phthalates and nonylphenols in profiles of differently dressed soils. *Science of the Total Environment*, 296(1–3), pp. 105–116, 2002.

Wang Y, Qian H: Phthalates and their impacts on human health. *Healthcare (Switzerland)*, 9(5):1–9, 2021.

Wypych, A: *Databook of Plasticizers*, 2nd ed. ChemTec Publishing: Scarborough, ON, Canada, pp. 435–560, 2017.

Ye C-W, Gao J, Yang C, Liu X-C, Li X-J, Pan S-Y. Development and application of an SPME/GC method for the determination of trace phthalates in beer using a calix[6]arene fiber. *Analytica Chimica Acta*, 641(1–2):64-74, 2009.

Mrežni izvori:

<https://hocupivo.com/slad/> [12.8.2022.]

<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.21106505.html> [12.8.2022.]

<http://hr.alfachemar.com/organic-chemistry/dimethyl-phthalate-cas-no-131-11-3.html>
[12.8.2022.]

<https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=117-84-0&Units=SI> [12.8.2022.]

<https://hr.puntomariner.com/dimethyl-phthalate-what-it-is/> [12.8.2022.]