

Etilenglikol i dietilenglikol u zubnim pastama na hrvatskom tržištu

Vidić Štrac, Ivona; Žuntar, Irena; Dimitrov, Nino; Puklek, Maja

Source / Izvornik: **Farmaceutski glasnik, 2013, 69, 319 - 331**

Journal article, Published version

Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:834051>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-06**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



Etilenglikol i dietilenglikol u zubnim pastama na hrvatskom tržištu

IVONA VIDIĆ ŠTRAC¹, IRENA ŽUNTAR², NINO DIMITROV¹, MAJA PUKLEK²

¹Hrvatski zavoda za javno zdravstvo, Služba za zdravstvenu ekologiju,
Odjel za predmete opće uporabe i medicinske proizvode;

²Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Ethylene glycol and diethylene glycol in toothpaste on Croatian market

Abstract – Diethylene glycol (DEG) (CAS 111-46-6) is a highly toxic organic solvent that may cause nausea, dizziness, kidney failure, breathing problems, convulsions and even coma when ingested. The potential health risks from chronic exposure to DEG are a particular concern in specific vulnerable populations such as children and consumers with kidney or liver disease. DEG is forbidden as cosmetic ingredient but can be present as an impurity in glycerol and polyethylene glycols, common ingredients in oral care products. Maximum permitted concentration as impurity is 0.1 % m/m. The objective of this study was to determine the presence of diethylene glycol in toothpaste on the Croatian market using a gas chromatography–mass spectrometry method. Linearity of the response of mass detector was tested by analyzing standard solutions with increasing concentrations of ethylene glycol (EG) and diethylene glycol. Regression analysis of chromatographic data indicates that linearity of response in the detector was within the examined concentration area 0.5–50 mg/L, with correlation coefficients >0.998. Limit of detection (LOD) for DEG was < 6 mg/kg, and for EG < 4 mg/kg. Testing was conducted on 30 samples of toothpaste produced and marketed in Croatia and EU. Obtained results were significantly below the permitted threshold of 0.1 % thus assuring consumer safety.

(¹Croatian National Institute of Public Health, Zagreb, Croatia; ²Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Zagreb, Croatia)

UVOD

Etilenglikol i dietilenglikol su tekuće industrijske kemikalije široke primjene. Tako je najpoznatija uporaba etilenglikola u sredstvima protiv zamrzavanja (popularno nazvan antifriz), a dietilenglikol se koristi kao otapalo, sredstvo za ovlaživanje,

u proizvodnji eksploziva i poliesterskih smola. Kako je etileglikol slatkastog okusa i kemikalija iz kućnog okoliša tako su se bilježila slučajna otrovanja što je primjerice riješeno dodavanjem gorkih tvari u proizvod.

Tijekom povijesti zabilježeno je više masovnih otrovanja dietilenglikolom sa smrtnim ishodom većeg broja ljudi, a prvi takav slučaj poznat je pod nazivom »Incident Massengill«. Tom prigodom prvi put je otkrivena sličnost simptoma otrovanja etilenglikolom i dietilenglikolom. »Incident Massengill« dogodio se 1937. u Sjedinjenim Američkim Državama te se smatra jednim od najznačajnijih masovnih otrovanja 20. stoljeća. Uzrok tome bio je lijek pod nazivom »The Elixir Sulfanilamide«, pripravak tekuće formulacije koji je sadržavao sulfanilamid kao djelatnu tvar te dietilenglikol kao otapalo, u količini od 72 %. Lijek su konzumirale 353 osobe, od kojih je 105 umrlo (34 djece i 71 odrasli). 100 od 105 pacijenata koji su umrli, lijek je uzimalo prema preporuci liječnika (1).

Dva posljednja velika otrovanja dietilenglikolom, 2007. i 2008. godine, uključivala su proizvode za oralnu higijenu, što je dovelo do potrebe za većom kontrolom njegove razine u zubnim pastama (2).

Dietilenglikol se ne dodaje namjerno u proizvode za oralnu higijenu, nego se u njima može pojaviti kao posljedica korištenja sirovina u kojima se nalazi kao onečišćenje, najčešće u glicerolu i polietilenglikolima. Upravo zbog toga što se pojavljuje kao onečišćenje u sirovinama koje se upotrebljavaju za izradu proizvoda za oralnu higijenu, ponekad se ne može izbjeći njegova prisutnost u završnom proizvodu. Prema Pravilniku o zdravstvenoj ispravnosti predmeta široke potrošnje (3), dietilenglikol je svrstan na Listu tvari koje je zabranjeno stavljati u kozmetičke proizvode te na Listu tvari koje kozmetički proizvodi ne smiju sadržavati osim pod navedenim uvjetima, gdje je njegova maksimalna koncentracija u kozmetičkim proizvodima ograničena na 0,1 % te je određeno da se u kozmetičkim proizvodima može pojaviti samo kao onečišćenje u okvirima sastojaka, što je također propisano i u zemljama EU (1).

S obzirom na navedeno, jako je važno uspostaviti analitički sustav za analizu i kvantifikaciju dietilenglikola i etileglikola u zubnim pastama u smislu procjene zdravstvene ispravnosti proizvoda, u skladu s propisima.

Etilenglikol

Etilenglikol (1,2-etandiol, EG, CAS br. 107-21-1) je viskozna tekućina slatkastog okusa, bez boje i mirisa. Kao otapalo nalazi se u velikom broju kućanskih proizvoda, a najpoznatija primjena mu je u sredstvu protiv zamrzavanja (antifriz). Upravo zbog njegove lake dostupnosti i slatkastog okusa, koristio se kao 'alkohol za siromašne' te je čest uzrok otrovanja zbog predoziranja, bilo slučajnog, najčešće djece, ili namjernog u pokušaju samoubojstva (4–7).

Do otrovanja dolazi nakon oralnog uzimanja etilenglikola. Minimalna toksična doza nije ustanovljena, a ozbiljnost otrovanja ovisi o količini progutanog etilenglikola,

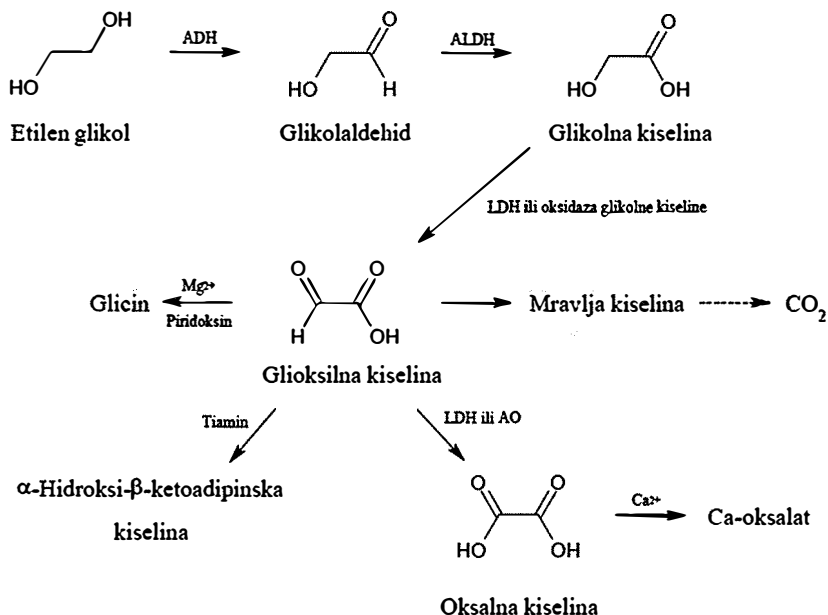
o njegovoj koncentraciji u uzetoj tekućini te o tjelesnoj težini pacijenta (Jolliff i Sivilotti, 2004.). Smatra se da je minimalna letalna doza 1,4 mL/kg te se smrt može javiti unutar 24 sata od konzumacije zbog oštećenja središnjeg živčanog sustava (SŽS) ili može nastupiti sporije (8–12 dana) zbog zatajenja bubrega (4,6,8). Maksimalnu koncentraciju u krvi postiže 1 do 4 sata nakon apsorpcije, ne veže se za proteine plazme, a volumen distribucije (V_d) mu je 0,5 do 0,8 L/kg (5).

Budući da ima nizak tlak para, pri normalnim uvjetima rada s otopinom etilenglikola ne dolazi do otrovanja, osim u slučaju zagrijavanja kemikalije kada može doći do udisanja aerosola. Etilenglikol ima i nadražujući učinak na oči, kožu i sluznice osjetljivih osoba. Kod uzimanja više doza, ciljni organ toksičnosti su bubrezi. Etilenglikol nije genotoksičan, a studije na miševima i štakorima su pokazale da nije karcinogen. Što se tiče reproduktivne toksičnosti, etilenglikol se na animalnim studijima pokazao embriotoksičnim i teratogenim nakon oralne primjene vrlo visokih doza (7,9), viših od 500 mg/kg tjelesne težine/dan (10). Etilenglikol ulazi u okoliš kao rezultat odlaganja industrijskih i potrošačkih proizvoda koji ga sadrže u svom sastavu. Prvenstveno odlazi u površinske i podzemne vode, ali se niti u jednom mediju ne zadržava dugo te je praktički netoksičan za vodene organizme. Međutim, u slučaju izlivanja većih količina u okoliš, može lokalno štetno djelovati na vodu i vodene organizme (4).

Metabolizam se odvija u jetri kroz niz uzastopnih oksidacija (slika 1.), a najznačajni produkt su oksalati koji s kalcijevim ionima tvore netopljive kristale kalcijevog oksalata monohidrata, koji se talože u bubregu, miokardu, mozgu i drugim tkivima te se nalaze i u urinu otrovane osobe. U bubrezima se kristali kalcijevog oksalata odlažu u proksimalne tubule, uzrokuju njihovu opstrukciju i posljedičnu akutnu tubularnu nekrozu te dovode do akutnog oliguričnog i anuričnog zatajenja bubrega. Kao rezultat svakog koraka oksidacije etilenglikola nastaje NADH (nikotinamid adenin dinukleotid), koji potiče pretvorbu piruvata u laktat što pridonosi metaboličkoj acidozi kojoj je glavni uzrok glikolna kiselina, a nakuplja se zbog zasićenosti enzima pretvorbe u glioksilnu kiselinu (4–9). Na staničnoj razini, međuprodukti metabolizma etilenglikola (glikolaldehid, glikolna kiselina i glioksilna kiselina) dovode do inhibicije oksidativne fosforilacije, metabolizma glukoze, Krebsovog ciklusa, sinteze proteina, sinteze RNA i replikacije DNA, što pridonosi oštećenju tkiva i poremećaju funkcije organa (6,7).

Etilenglikol i njegovi metaboliti se izlučuju putem bubrega, a poluvrijeme eliminacije ($t_{1/2}$) je 2,5 do 3 sata (5). Zbog brzog metabolizma i eliminacije, etilenglikol se ne akumulira u organizmu te u slučaju ponovljane izloženosti malim količinama ne uzrokuje pojavu otrovanja (4).

Otrovanje etilenglikolom liječi se suportivnim mjerama za liječenje kardiorespiratorne depresije, intravenskim davanjem natrijevog bikarbonata za korekciju acidoze, primjenom kalcijevog glukonata za korekciju hipokalcemije, primjenom inhibitora



Slika 1. Shematski prikaz metabolizma etilenglikola (priređeno prema referencama 4–9).
 ADH – alkohol dehidrogenaza; ALDH – aldehyd dehidrogenaza; LDH – laktat dehidrogenaza; AO – aldehyd oksidaza

ADH za sprječavanje razgradnje etilenglikola na toksične metabolite te ubrzavanjem eliminacije etilenglikola i njegovih metabolita iz organizma (6–8). Liječenje se provodi uporabom inhibitora ADH, etanola ili fomepizola, i hemodijalizom, a kao dopuna mogu se koristiti i vitamini (vitamin B6 i vitamin B1). Aktivni ugljen nije se pokazao učinkovitim jer veže etilen glikol na sebe u malim količinama, nedovoljnim za sprječavanje toksičnih učinaka, a pražnjenje želuca također je upitne učinkovitosti (5,7).

Dietilenglikol

Dietilenglikol (2,2'-oksidietanol, DEG, CAS 111-46-6) je bezbojna, viskozna, vrlo higroskopna tekućina bez mirisa i slatkastog je okusa. Koristi se kao otapalo, sredstvo za ovlaživanje, u proizvodnji eksploziva i poliesterskih smola, a koristio se i kao zamjena za glicerol. Pojavljuje se kao međuprodukt u proizvodnji polimera i tri-etilen glikola, korišten je u antifrizu, u tekućini za kočnice, kod dehidracije prirodnog plina te kao tvar za ovlaživanje duhana. Korišten je i kao zaslađivač vina u Austriji i Njemačkoj 1985., pri čemu nije prijavljeno niti jedno otrovanje, ali je milijun boca vina uklonjeno s tržišta. Uporaba dietilenglikola u prehrambenoj industriji nije dozvoljena zbog nedostatka znanstvenih podataka koji dokazuju njegovu sigurnost za peroralnu primjenu (1).

Do otrovanja dietilenglikolom dolazi nakon oralnog uzimanja. Minimalna letalna doza nije ustanovljena već se procjenjuje na temelju slučajeva masovnih otrovanja iz

prošlosti. Kao najbolje procijenjena letalna doza uzima se doza od 1,6 mg/kg tjelesne težine/dan, ustanovljena u masovnom otrovanju na Haitiju 1995., koja je u korelaciji s dozom od 1,2 mg/kg tjelesne težine/dan, ustanovljenoj pri otrovanju eliksirom sulfanilamida iz 1937. godine (1). Budući da ima nizak tlak para, pri normalnim uvjetima rada s otopinom dietilenglikola ne dolazi do otrovanja, osim u slučaju zagrijavanja kemikalije kada može doći do udisanja aerosola. Dietilenglikol, kao i etilenglikol, ima i nadražujući učinak na oči, kožu i sluznice osjetljivih osoba. Ciljni organ toksičnosti dietilenglikola su bubrezi i neurološki sustav. Otropane osobe obično razviju akutno zatajenje bubrega i tešku metaboličku acidozu. Manjak podataka o kratkoročnim i dugoročnim učincima dietilenglikola povezan je s nedostatkom podataka o točnom mehanizmu njegove razgradnje i eliminacije nakon ingestije te s nedostatkom podataka o načinu na koji uzrokuje specifične učinke na krajnje organe. Dietilenglikol nije genotoksičan, a studije na miševima i štakorima su pokazale da nije karcinogen. Što se tiče reproduktivne toksičnosti, na animalnim studijima dietilenglikol se nije pokazao embriotoksičnim i teratogenim (1). Dietilenglikol ulazi u okoliš kao rezultat odlaganja industrijskih i potrošačkih proizvoda koji ga sadrže u svom sastavu. Prvenstveno odlazi u površinske i podzemne vode, ali se niti u jednom mediju ne zadržava dugo te je praktički netoksičan za vodene organizme. Međutim, u slučaju izlijevanja većih količina u okoliš, može lokalno štetno djelovati na vodu i vodene organizme.

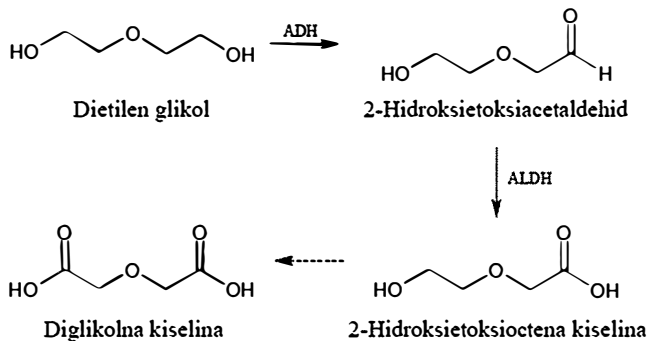
Istraživanja na životinjama pokazuju da se dietilenglikol brzo i gotovo potpuno apsorbira nakon oralne primjene. Brzo se raspodjeljuje u tkiva proporcionalno njihovoj prokrvljenosti, i to najviše u bubrege, zatim u mozak, slezenu, jetru, mišiće i masno tkivo (1,11).

Metabolizira se u jetri oksidacijom u dva koraka (slika 2.), oba ovisna o nikotinamid adenin dinukleotidu (NAD⁺/NADH). Budući da pri razgradnji dietilenglikola nastaje NADH, koji potiče pretvorbu piruvata u laktat, dolazi do nakupljanja laktata u organizmu (11).

U urinu otropane osobe mogu se naći kristali kalcijevog oksalata, međutim ne postoje naznake niti dokazi da se dietilenglikol u organizmu cijepa u etilenglikol te dalje metabolizira (1,4). Pojava kristala kalcijevog oksalata pripisuje se malim količinama etilenglikola koji se često može naći u dietilenglikolu kao onečišćenje (1).

Nakon oralne primjene, između 40 % i 70 % doze dietilenglikola izlučuje se nepromijenjeno putem urina, a dio, približno 10 % doze, se izlučuje kao 2-hidroksietoksiacetat (1,4). Poluvrijeme eliminacije procjenjuje se na 3,6 sati (SCCP, 2008.). Dietilenglikol ubrzava vlastitu eliminaciju indukcijom osmotske diureze (11).

Za razliku od etileglikola, mehanizam toksičnosti dietilenglikola nije još sasvim razjašnjen. Neki autori pretpostavljaju da je za toksičnost odgovoran dietilenglikol i njegov metabolit 2-hidroksietoksiacetat (11). Pojedini smatraju da je prvenstveno 2-hidroksietoksiacetat nefrotoksičan i neurotoksičan (1), dok treći spominju i diglikolnu



Slika 2. Shematski prikaz metabolizma dietilenglikola (priredeno prema referencama 1,4,8,11)
ADH – alkohol dehidrogenaza

kiselinu kao metabolit koji je, uz 2-hidroksietoksiacetat, odgovoran za razvoj nefrotoksičnosti (8). Za metaboličku acidozu je odgovoran 2-hidroksietoksiacetat (8,11) te u manjoj mjeri nakupljanje laktata u organizmu (11). Pretpostavlja se da do nefrotoksičnosti dolazi zbog higroskopskog oticanja parenhimskih stanica i posljedične opstrukcije lumena bubrežnih tubula. Točan mehanizam neurotoksičnosti nije opisan, ali se smatra da je tome glavni uzrok 2-hidroksietoksiacetat. Pri otrovanju može doći i do razvoja hepatotoksičnosti zbog akumulacije 2-hidroksietoksiacetata unutar stanica, što dovodi do stanične lize jetrenih stanica i stanica bubrežnih tubula (1).

Smrtnost kod otrovanja dietilenglikolom je 70 % do 100 % te u nekim slučajevima ne pomažu ni intenzivna njega niti hemodijaliza. Pacijentima sa zatajenjem bubrega, koji prežive otrovanje, bubrežna se funkcija obično vrati na normalnu razinu (11).

Kod otrovanja dietilenglikolom ne postoji specifični antidot niti dokazani terapeutski pristup te su metode liječenja iste kao i kod otrovanja etilenglikolom. Odmah nakon ingestije provodi se dekontaminacija gastrointestinalnog sustava. Pacijent mora biti na odijelu za intenzivnu njegu te se primjenjuju suportivne mjere za liječenje kardiorespiratorne depresije. Kao i kod otrovanja etilenglikolom, cilj liječenja je korekcija metaboličke acidoze intravenskim davanjem natrijevog bikarbonata, sprječavanje nastajanja toksičnih metabolita dietilenglikola te potpuna eliminacija dietilenglikola i njegovih metabolita iz organizma. Za sprječavanje razgradnje dietilenglikola i nastajanja njegovih toksičnih metabolita, primjenjuju se inhibitori ADH (fomepizol ili etanol), budući da je taj enzim ključan za razvoj toksičnosti. Fomepizol se kao inhibitor ADH u dosadašnjim slučajevima otrovanja pokazao korisnim, pogotovo u kombinaciji s hemodijalizom. Hemodijaliza se kod otrovanja dietilenglikolom primjenjuje odmah, kod svih otrovanih pacijenata, a pogotovo u onih pacijenata kod kojih je došlo do acidoze i zatajenja bubrega. Na taj se način dietilenglikol uklanja iz organizma prije no što dođe do njegove razgradnje. Nije poznato da li se hemodijalizom iz organizma uklanjaju i toksični metaboliti dietilenglikola, 2-hidroksietoksiacetat i diglikolna kiselina (8,11).

CILJ RADA

Ciljevi ovog rada bili su uspostavljanje analitičkog sustava i određivanje sadržaja etilenglikola i dietilenglikola u zubnim pastama s hrvatskog tržišta i procjena njihove zdravstvene ispravnosti u skladu s propisima.

MATERIJALI I METODE

Etilenglikol i dietilenglikol analizirani su i kvantificirani u 30 uzoraka zubnih pasta, različitih proizvođača iz Hrvatske i zemalja Europske unije, tehnikom plinske kromatografije sa spektrometrijom masa (GC-MS) (12).

Otopine korištene u eksperimentalnim postupcima bile su analitičke i HPLC čistoće.

Priprema uzoraka

Pri pripremi uzoraka, prvih 1–2 cm zubne paste istisnuto je iz tube. Odvagano je približno 0,5 grama uzorka u plastične epruvete za centrifugiranje. Dodano je 5 mL metanola, zatim je uzorak miješan električnom miješalicom, a daljnja ekstrakcija provedena je u ultrazvučnoj vodenoj kupelji na sobnoj temperaturi tijekom 15 minuta. Nakon ekstrakcije, dodano je približno 400 mg bezvodnog natrijevog sulfata, promućkano se centrifugira na 3500 rpm 10 minuta, potom filtrira kroz 0,2 µm mikro-filtar, a završni ekstrakt napuni u staklene bočice.

Prije nanošenja uzoraka, na kapilarnu kolonu GC-MS injektirane su unaprijed pripremljene standardne otopine radi izračunavanja kalibracijske krivulje za etilenglikol i dietilenglikol. Uzorci za svaku zubnu pastu izrađeni su u triplikatu te je svaki primjerak u tri navrata injektiran na kapilarnu kolonu GC-MS. Kolona je prije nanošenja uzoraka i između svakog injektiranja uzorka tri puta ispirana metanolom.

Priprema standardnih otopina i izrada kalibracijskih krivulja

Za pripremu standardnih otopina kupljene su sljedeće kemikalije: standard etilenglikola čistoće 99,5 % (CAS 107-21-1; Dr.Ehrenstorfer GmbH) i standard dietilenglikola čistoće 99,0 % (CAS 111-46-6; Dr.Ehrenstorfer GmbH).

Pripremljena je temeljna standardna otopina u metanolu koncentracije 1 g/L i čuvana u hladnjaku na 7 °C. Radne standardne otopine priredene su u 5 različitih koncentracija, 5–50 mg/L, te je za njih također načinjena i kalibracijska krivulja.

Kalibracijske krivulje za etilenglikol i dietilenglikol izrađene su na način da su prethodno pripremljene standardne otopine različitih koncentracija analizirane na GC-MS instrumentu.

GC-MS tehnika za analizu etilenglikola i dietilenglikola

Kvantitativna analiza etilenglikola i dietilenglikola u zubnim pastama provedena je plinsko-kromatografskom metodom odjeljivanja na kapilarnoj koloni uz selektivni detektor masa (GC-MS) pri čemu su praćeni karakteristični ioni (12).

Princip odjeljivanja i detekcije upotrebom GC-MS je da se uzorak nanosi na kolonu putem grijanog sustava za uštrcavanje gdje ispari. Plinovita mobilna faza prolazi kroz grijanu kolonu prevučenu tekućom stacionarnom fazom te dolazi do odjeljivanja sastojaka smjese u skladu s vremenom provedenim na stacionarnoj fazi (13).

Odjeljeni sastojci zatim jedan po jedan, ovisno o vremenu prolaska kroz kolonu, dolaze u ionizacijsku komoru detektora masa gdje su bombardirani snopom elektrona pri čemu se analizirani spoj razdvaja na fragmente pozitivnog naboja. Tako nastali pozitivni ioni ubrzavaju se velikom razlikom električnog potencijala, a brzina koju poprimaju ovisi o njihovoj masi. Snop brzih iona ulazi u analizator, koji se sastoji od magneta između čijih polova prolaze ioni. Magnetsko polje djeluje na naboj u kretanju na način da se putanje iona zakrivljuju (otklanjaju), a otklon je najveći za ione male mase, te samo određeni ioni mogu proći kroz izlaznu pukotinu i biti detektirani na detektoru. Kako se mijenja jakost magnetskog polja, mijenjaju se polumjeri zakrivljenosti iona te se ioni različitih masa redom fokusiraju na ionskom detektoru. Ispis detektora, maseni spektar, slijed je signala koji odgovaraju omjeru mase jedinice prema njezinom naboju (m/z), a visine signala daju njihovu selektivnu zastupljenost (14).

Mjerenja su izrađena na instrumentu Shimadzu QP2010 Plus, s kapilarnom kolonom ZB FFAP (dimenzije 30m/0,32mm/0,25 μ m) i s MS detektorom, uz pripadajuće računalo i Lab Solution programski paket. Maseni spektri etilenglikola i dietilenglikola uspoređeni su s bibliotekom spektara koji su sastavni dio programskog paketa instrumenta.

REZULTATI I RASPRAVA

Uzorci zubnih pasta s hrvatskog tržišta analizirani su na sadržaj etilenglikola i dietilenglikola primjenom GC-MS tehike uz specifične plinsko-kromatografske uvjete i uvjete analiziranja u spektrometru masa.

Uspostavljeni plinsko-kromatografski uvjeti bili su sljedeći:

Način unosa uzorka: sa cijepanjem (split)

Temperatura injektora: 200 °C

GC-kolona: ZB-FFAP (30 m x 0,25 mm ID x 0,25 μ m film)

Protok: 2,19 ml He/min

Temperaturni program: 100 °C 1 min / 10 °C min⁻¹ / 150 °C 8 min

Vrijeme analize: 14 min

Uspostavljeni uvjeti analiziranja u spektrometru masa bili su sljedeći:

Način i energija ionizacije: snopom elektrona 70 eV (EI)

Temperatura ionskog izvora: 220 °C

Napon detektora: 1.30 kV

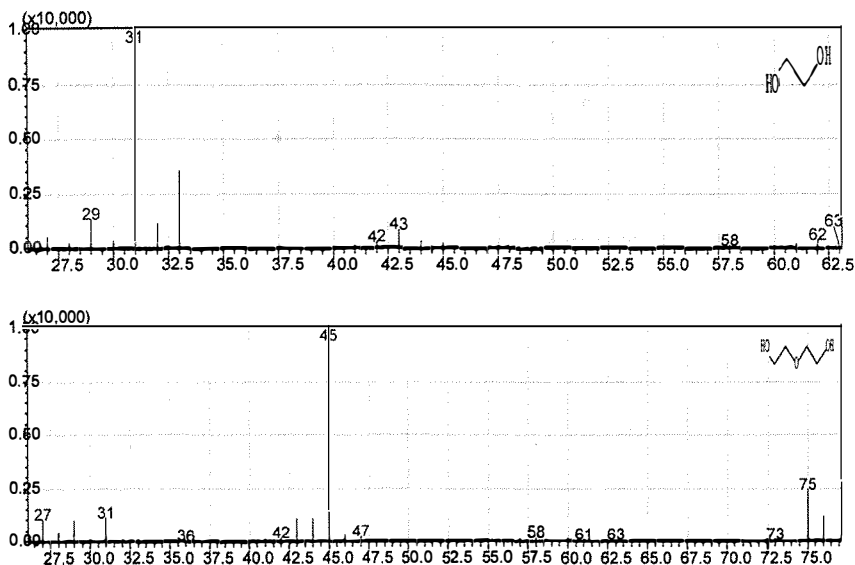
Način snimanja: potpuni spektri

Područje snimanja: od 25 do 600 Da

Interval snimanja: 0.5 s

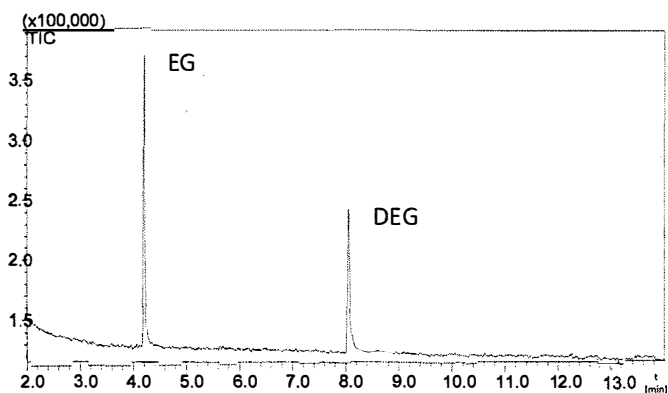
Brzina snimanja: 1250 Da/s

Dobiveni karakteristični maseni spektri, karakteristični ioni, zajedno sa strukturnim formulama za etilenglikol i dietilenglikol prikazani su na slici 3. Identifikacija je rađena s jednim ciljnim ionom (m/z 43), dva konfirmacijska iona za etilenglikol (m/z 31 i m/z 33) i jednim konfirmacijskim ionom za dietilenglikol (m/z 45), uz poznata vremena zadržavanja (8,21 min za etilenglikol i 11,94 min za dietilenglikol).



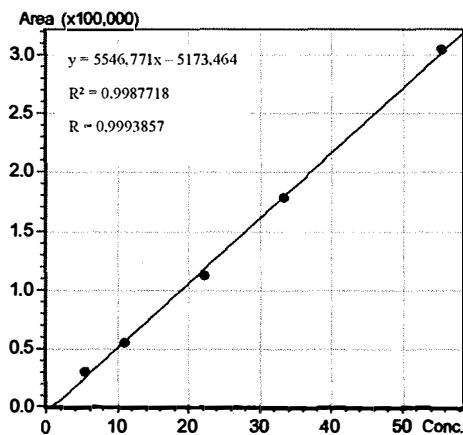
Slika 3. Karakteristični maseni spektri i strukturne formule za etilenglikol (gore) i dietilenglikol (dolje).

Karakterističan kromatogram za etilenglikol i dietilenglikol prikazan je na slici 4. Identifikacija etilenglikola i dietilenglikola je provedena usporedbom njihovih spektara masa dobivenih detekcijom na MS s bibliotekom spektara instrumenta.

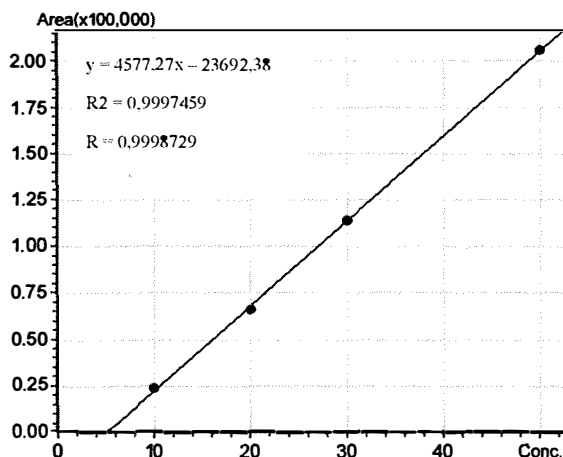


Slika 4. Karakteristični kromatogram za etilenglikol (EG) i dietilenglikol (DEG).

Kalibracijske krivulje za etilenglikol i dietilenglikol izrađene su na način da su pripremljene standardne otopine različitih koncentracija (5–50 mg/L) analizirane na GC-MS instrumentu. Iz dobivenog kromatograma očitane su vrijednosti površine pikova za svaku pojedinu koncentraciju etilenglikola i dietilenglikola. Korištenjem tih podataka načinjen je grafički prikaz signala nastalog analizom (površina ispod pikova) u ovisnosti o poznatim koncentracijama analita u standardnim otopinama. Kalibracijske krivulje za etilenglikol i dietilenglikol su linearne krivulje izrađene korištenjem vanjskog standarda te nisu forsirane (ne prolaze kroz ishodište). Izrađene su u koncentracijskom rasponu 5–50 mg/L te su prikazane na slikama 5. i 6. Izračunata je granica detekcije (eng. limit of detection, LOD) koja iznosi za etilenglikol < 4 mg/kg, a za dietilen glikol < 6 mg/kg.



Slika 5. Kalibracijska krivulja za etilenglikol u rasponu 5–50 mg/L.



Slika 6. Kalibracijska krivulja za dietilenglikol u rasponu 5–50 mg/L.

Analizirano je 30 zubnih pasti različitih proizvođača iz Hrvatske i iz zemalja Europske unije. Svaki uzorak zubne paste rađen je u triplikatu te je za svaki primjerak mjerenje provedeno tri puta. Za svaki uzorak dobiveni su kromatogrami koji prikazuju promjenu signala instrumenta (površina ispod pikova) u ovisnosti o vremenu izlaza komponenta u uzorku iz kapilarne kolone. Od 30 analiziranih uzoraka zubnih pasti, samo 5 uzoraka dalo je mjerljive rezultate i oni su prikazani u tablici 1., dok su sva ostala mjerenja bila u razini šuma instrumenta tj. LOD, te oni nisu prikazani u tablici 1. U 5 uzoraka izmjeren je dietilenglikol, dok je u ostalim uzorcima bio ispod LOD.

Tablica 1. Mjerljive koncentracije dietilenglikola (DEG) u uzorcima zubnih pasti dobivene tehnikom GC-MS.

Broj uzorka	C _{DEG} u metanolu (mg/kg)	C _{DEG} u zubnoj pasti (mg/kg)	% _{DEG} u zubnoj pasti
1*	5,62	0,028	0,005
2*	5,76	0,029	0,005
4*	5,86	0,029	0,005
5*	5,64	0,028	0,005
6*	6,56	0,033	0,006

* – uzorak zubne paste proizveden je u Republici Hrvatskoj

Koncentracije dietilenglikola u uzorcima izračunate su pomoću kalibracijskih krivulja iz signala dobivenih GC-MS-om te su iznosile između 5,62 i 6,56 mg/kg. Iz tako dobivenih koncentracija izračunate su koncentracije dietilenglikola u odvaganim uzorcima zubnih pasti te su iznosile između 0,028 i 0,033 mg/kg. Provedenom analizom zubnih pasti GC-MS dobiveni rezultati pokazuju dietilenglikol u rasponu od 0,005 % do 0,006 %.

Nedavni incidenti masovnog otrovanja dietilenglikolom s izrazito visokom stopom smrtnosti te incidenti koji su uključivali koncentracije od čak 7–8,3 % dietilenglikola u proizvodima za oralnu higijenu (1), ukazali su na nužnost provedbe analize zubnih pasti na tržištu radi kontrole njihove zdravstvene ispravnosti i sigurnosti potrošača.

Analiza je provedena uporabom plinske kromatografije sa selektivnim detektorom masa (GC-MS), nakon prethodne ekstrakcije glikola iz zubne paste metanolom te se korištena metoda pri tom istraživanju pokazala kao brza i jednostavna za detekciju glikola.

Analizirano je ukupno 30 zubnih pasti s hrvatskog tržišta koje su bile proizvedene u Republici Hrvatskoj i u zemljama Europske unije. Etilenglikol nije detektiran niti u jednom uzorku, što znači da je njegova količina u analiziranim zubnim pastama ispod granice detekcije, dakle manja od 4 mg/kg. Dietilenglikol je detektiran u 5

uzoraka zubnih pasti, od kojih je svih 5 proizvedeno u Republici Hrvatskoj. Od tih 5 uzoraka, u 4 uzorka je koncentracija dietilenglikola bila neposredno ispod granice detekcije, a samo u jednom uzorku je dietilenglikola bilo u mjerljivim količinama, točnije 6,56 mg/kg, što je jednako 0,006 % dietilenglikola u toj zubnoj pasti što je daleko ispod maksimalno dopuštene granice.

Iz rezultata ovog istraživanja možemo zaključiti da su u svim uzorcima vrijednosti etilenglikola i dietilenglikola ispod propisanih, što upućuje da su zubne paste na hrvatskom tržištu na taj parametar zdravstveno ispravne. Dobiveni podaci u skladu su s podacima koje je proveo i nacionalni laboratorij u Austriji u sklopu nadzora tržišta gdje je nađen samo jedan neispravan uzorak (15).

Također, s obzirom na to da je Europskom farmakopejom definirana gornja granica dietilenglikola od 0,1 % kao onečišćenja u glicerolu, te 0,4 % za zbroj etilenglikola i dietilenglikola kao onečišćenja u polietilen glikolima (1), dobiveni rezultati pokazuju da proizvođači analiziranih zubnih pasti koriste ispravne sirovine kontroliranog podrijetla.

ZAKLJUČAK

Na temelju provedene analize etilenglikola i dietilenglikola u zubnim pastama, u svrhu kontrole njihove zdravstvene ispravnosti, doneseni su sljedeći zaključci:

- Uspostavljeni analitički sustav (GC-MS tehnika) pokazao se brzim i jednostavnim za detekciju glikola.
- Primjenjena GC-MS tehnika ima granice detekcije (LOD) za etilenglikol < 4 mg/kg, a za dietilenglikol < 6 mg/kg.
- Etilenglikol nije nađen niti u jednom analiziranom uzorku.
- Maksimalna izmjerena koncentracija dietilenglikola bila je 6,56 mg/kg što je daleko niže od maksimalno dozvoljene koncentracije u zubnim pastama.
- Proizvođači analiziranih zubnih pasti koriste zdravstveno ispravne sirovine.
- Zubne paste na hrvatskom tržištu u pogledu sadržaja etilenglikola i dietilenglikola mogu se smatrati zdravstveno ispravnim.

1. Scientific Committee on Consumer Products. Opinion on diethylene glycol. Bruxelles, European Commission, 2008.
2. Brown CA, Brown SA. Food and pharmaceuticals: Lessons learned from global contaminations with melamine/cyanuric acid and diethylene glycol. *Vet. Pathol.* 2010; 47:45–52.
3. Pravilnik o zdravstvenoj ispravnosti predmeta široke potrošnje, Zagreb, Narodne novine, 2009, broj 125 (NN/125/09).
4. Bruckner JV, Anand SS, Warren DA. Toxic effects of solvents and vapours. U: Casarett and Doull's toxicology: The basic science of poisons. Klaassen CD, urednik, The McGraw-Hill Companies Inc., 2008; 1016–1019.
5. Jolliff HA, Sivilotti MLA. Ethylene glycol. U: Medical toxicology. Dart RC, urednik, Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2004; 1223–1229.

6. Timbrell J. Principles of biochemical toxicology. London, Taylor & Francis, 2000; 331–333.
7. Davis DP, Bramwell JP, Hamilton RS, Williams SR. Ethylene glycol poisoning: Case report of a record-high level and a review. J. Emerg. Med. 1997; 15:653–667.
8. Vale A. Alcohols and glycols. Med. J. 2011; 40:89–93.
9. Löser E, Stropp G. Polymere. U: Toxicology. Marquardt H, Schäfer SG, McClellan RO, Welsch F, urednici, Elsevier Inc., 1999; 927–928.
10. Carney EW, Freshour NL, Dittenber DA, Dryzga MD. Ethylene glycol developmental toxicity: Unraveling the roles of glycolic acid and metabolic acidosis. Toxicol. Sci. 1999; 50:117–126.
11. Yip L. Other alcohols, glycols and glycol ethers. U: Medical toxicology, Dart RC, urednik, Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2004; 1232–1233.
12. Steendam L, Schakel DJ, Dannen F. Determination of glycols in toothpaste using gas chromatography and mass selective detection (GC-MS). Food and Consumer Product Safety Authority, 2010.
13. Skoog DA, West DM, Holler FJ. Osnove analitičke kemije. Zagreb, Školska knjiga, 1999; 674–676.
14. Herak J. Osnove kemijske fizike. Zagreb, Farmaceutsko-biokemijski fakultet, 2001; 31.
15. Information exchange on national activities in the field of cosmetics, 2011.

Primljeno 18. ožujka 2013.