

ZNANSTVENO MIŠLJENJE

Znanstveno mišljenje o utjecaju ambalaže na prirodne mineralne vode San Pellegrino
Radna grupa za donošenje znanstvenog mišljenja

(Zahtjev HAH – Z – 2011- 4)

Usvojeno 18. srpnja 2012.

ČLANOVI RADNE GRUPE

dr.sc. Željko Dadić, Nino Dimitrov, sveuč.spec.ekoing.dipl.ing, prof. dr. sc. Kata Galić, mr.sc. Marijan Katalenić, prof. dr.sc, Ivan Mijatović, mr.sc. Jasminka Papić, prof. dr. sc. Nada Vahčić

KOORDINATOR IZ HAH-a

Andrea Gross-Bošković, dipl.ing.

SAŽETAK

Hrvatska agencija za hranu (HAH) zaprimila je 12. ožujka 2012. godine od Ministarstva zdravlja (KLASA: 0540-01/12-01/14; URBROJ: 534-08-1-1/4-12-4) zahtjev za donošenjem znanstvenog mišljenja za novu tehnologiju proizvodnje boca za mineralne vode koje će imati dodatni sloj materijala s unutrašnje, kontaktne strane sa svrhom produljenja roka trajanja upakiranog proizvoda (mineralnih voda SanPellegrino i Panna) od trgovačkog društva Nestle Adriatic d.o.o. iz Hrvatske. U zahtjevu od strane trgovačkog društva Nestle Adriatic d.o.o. iz Hrvatske traži se i znanstveno mišljenje za tehnologiju proizvodnje staklenih boca. S obzirom na činjenicu da radna grupa HAH-a, u svojoj djelatnosti ne obuhvaća izdavanje mišljenja vezanog za tehnologiju proizvodnje boca, u općenitom smislu, kao i da nije dostavljena potpuna dokumentacija vezana za zdravstvenu ispravnost mineralne vode i staklene ambalaže odluka radne grupe je da se izradi odvojeno Znanstveno mišljenje za PET

ambalažu i odvojeno Znanstveno mišljenje za staklenu ambalažu, nakon što Zahtjevatelj dostavi traženu dokumentaciju. S obzirom na sve navedeno, radna grupa može se očitovati samo za utjecaj ambalaže na zdravstvenu ispravnost za tražene proizvode (mineralne vode San Pellegrino i Panna), za koje je dostavljena dokumentacija i specifikacije. Radna grupa je prilikom procjene i pregleda dostupnih dokumenta izradila traženo znanstveno mišljenje vezano za PET ambalažu u koju će se puniti navedene mineralne vode.

Poli(etilen-tereftalat) (PET) je vrsta polimera koji pripada skupini zasićenih poliestera sa vrlo širokim spektrom primjene zbog svojih odličnih toplinskih, mehaničkih i kemijskih svojstava. PET kao ambalaža za hranu najčešće se koristi u obliku boca, folija, filmova, i spremnika. Kao ambalaža za gazirana i negazirana pića (sokovi, prirodne mineralne, izvorske i stolne vode, piva, mlijeko) koristi se već više od 40 godina. Ukoliko se koristi kao ambalaža za gazirana i negazirana pića u novije vrijeme koristi se dodatna obrada nanošenjem barijernog sloja ambalaže. „Funkcionalnom barijerom“ smatra se barijera koja se sastoji od jednog ili više slojeva plastike koja osigurava da gotovi materijali i predmeti odgovaraju u pogledu zdravstvene ispravnosti zahtjevima pravilnika (Pravilnik 2009, EC 2004; EC 2009).

Barijerna svojstva standardnog PET materijala za gazirana i negazirana pića ne mogu u uvjetima produženog roka trajanja udovoljiti zahtjevima u pogledu propusnosti na O₂ (Palzer, 2001), CO₂ i vlagu. Ovo je posebno izraženo ako se smanjuje masa za izradu standardne PET boce. Propusnost PET ambalaže za neposredan dodir s hranom moguće je smanjiti uporabom novih tehnologija na različite načine. Osnovni ciljevi ovih tehnologija su: produžetak roka trajnosti upakiranog sadržaja, inertnija ambalaža u pogledu globalnih i specifičnih migracija te smanjenje mase uz niži utrošak energije za proizvodnju.

Jedan od načina smanjenja propusnosti PET boce je postupak oblaganja unutrašnjeg kontaktnog sloja boce sa slojem SiO_x maksimalne debljine do 100 nm. U ovom slučaju radi se o tehnološkom postupku oblaganja PET ambalaže (boca) u 2 sloja, kemijskim taloženjem zasićenih para pojačanih impulsom plazme (*eng. plasma impulse chemical vapour deposition*) (PICVD) gdje u struji argona ili kisika, reaktivni monomeri hesametildisiloksan (HMDSO) i hesametildisilazan (HMDSN) *in situ* tvore sloj SiO₂ (EFSA 2007). Navedenu tehnologiju prva je razvila tvrtka Schott (Walther i sur.,1996). Prilikom PICVD postupka nanošenja na unutrašnji sloj PET ambalaže, postoji mogućnost zaostajanja reaktivnih monomera (HMDSO i HMDSN) i njihovih *prekursora* (Macan, 2011) u kontaktnom sloju PET boce koji mogu migrirati u hranu (mineralnu vodu).

Primjena PET ambalaže kao materijala koji dolazi u neposredan dodir s hranom ovisi o njenom sastavu kao i o količini monomera i dodataka koji su mu dodani sa svrhom poboljšanja uporabnih i preradbenih svojstava. Uporaba monomera, dodataka te ostalih sirovina koje se mogu koristiti za proizvodnju predmeta i materijala izrađenih od plastike te njihova ograničenja u pogledu globalne i specifičnih migracija propisani su u RH Pravilnikom o zdravstvenoj ispravnosti materijala i predmeta

koji dolaze u neposredan dodir s hranom (Pravilnik 2009; Pravilnik, 2011a), a u EU Uredbama 1935/2004/EZ (EC 2004) i 10/2011/EZ (EC 2011). Primjenu monomera HMDSO i HMDSN za unutrašnji, kontaktni sloj SiO₂, u PET ambalaži kao i ograničenje u pogledu specifične migracije koje iznosi 0,05 mg/kg hrane (mineralne vode) izraženo kao HMDSO odobrila je Radna grupa za aditive u hrani, arome, pomoćna sredstva u proizvodnji i materijale u dodiru sa hranom (AFC, *Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food*) Europske agencije za sigurnost hrane, EFSA (EFSA, 2007). Zdravstvena ispravnost mineralne vode u RH propisana je Pravilnikom o prirodnim mineralnim i prirodnim izvorskim vodama (Pravilnik 2011b), a u EU Direktivom 98/83/EZ (EC 1998). Za navedenu tehnologiju oblaganja PET boce za pakiranje mineralne vode s unutrašnje kontaktne strane sa SiO_x postoji nedovoljan broj literaturnih podataka kao i primjenskih ispitivanja pa prema tome Radna skupina ne može komentirati i dati odgovor na pitanje da li je navedena promjena PICVD postupka unutar okvira dobre proizvođačke prakse kako to tvrdi Zahtjevatelj.

KLJUČNE RIJEČI

PET ambalaža za hranu, SiO₂ premazi za PET ambalažu, mineralna voda, postupak kemijskog taloženja para pojačanog impulsom plazme PICVD

SUMMARY

Croatian Food Agency (HAH) received from the Ministry of Health (CLASS: 0540-01/12-01/14; File No.: 534-08-1-1/4-12-4) on 12 March 2012 a request made by the trading company Nestle Adriatic d.o.o., Croatia, for scientific opinion on the novel technology of production of mineral water bottles with additional layer of material on the inner contact side with a view to prolonging shelf life of packaged goods (San Pellegrino and Panna mineral waters). Nestle also requests scientific opinion on glass bottle production technology. Given the fact that the CFA working group (WG) within its activity does not issue an opinions on any bottle production technology in a general sense, as well as that complete documentation, supporting the safety of mineral water and glass packaging, was not delivered, it was decided by the WG that two scientific opinions, on PET packaging and glass packaging, will be prepared separately, after the Client submits the required documentation. Considering the above mentioned, the WG may respond only on the impact of packaging on the requested products (S. Pellegrino and Panna mineral waters) that were supplemented by documentation and specifications. Upon evaluation and literature survey, the WG prepared a scientific opinion on PET packaging that will be used to hold stated mineral waters.

Poly(ethylene-terephthalate) (PET) is a kind of polymer belonging to the group of saturated polyesters with broad-spectrum application on account of good thermal, mechanical and chemical properties. PET as packaging is most commonly used in form of bottles, foils, films and containers. As packaging for carbonated and noncarbonated drinks (juice, natural mineral, spring and table water, beer, milk), PET has been used for over 40 years. If used as packaging for (non)carbonated drinks, additional treatment of barrier layer is needed.

"Functional barrier" means a barrier consisting of one or more layers of food contact materials which ensures that the finished material or article complies with regulation (Official Journal 2009, EC 2004; EC 2009).

Barrier properties of the standard PET material for (non)carbonated drinks, however, do not meet the requirements concerning the permeability to O₂ (Palzer, 2001) CO₂ and moisture in case of prolonged shelf life. This is especially emphasized if mass reduction of the standard PET bottle is required. Permeability of PET, on direct contact with food, can be reduced by various applications of novel technologies. The basic objectives of these technologies are prolongation of shelf life of packaged content, more inert packaging in terms of overall and specific migrations, as well as mass reduction with lower consumption of energy for the needs of production.

One of the ways of decreasing permeability of a PET bottle is by coating of the inner contact surface with a layer of SiO₂, no thicker than 100 nm. In this case, the technological coating of PET packaging (bottle) implies 2 layers by method of *plasma impulse chemical vapor deposition* (PICVD) in a stream of argon/oxygen by applying reactive monomers hexamethyldisiloxane (HMDSO) and

hexamethyldisilazane (HMDSN) which form, *in situ*, a layer of SiO₂ (EFSA 2007). This technology is developed by the Schott Company (Walther i sur.,1996). While applying the PICVD procedure on to the inner PET packaging layer, there is possibility of reactive monomers (HMDSO and HMDSN) and their precursors (Macan, 2011), remaining on the contact layer of PET bottle, to migrate into food (mineral water).

The use of PET packaging, as material intended to come into direct contact with food, depends on its composition, amount of monomers and additives added in order to improve its properties during processing and application. The use of monomers, additives and other raw materials which may be included in the production of articles and materials made from plastic, as well as their restrictions in terms of overall and specific migrations, are laid down by the national legislation in the Ordinance on the safety of materials and articles coming into direct contact with food (Official Journal 2009; Pravilnik 2011a), and in the EU by Regulation (EC) No 1935/2004 of the European Parliament and of the Council of 27 October 2004 on materials and articles intended to come into contact with food (EC 2004) and Commission Regulation (EU) No 10/2011 of 14 January 2011 on plastic materials and articles intended to come into contact with food (EC 2011). The application of HMDSO and HMDSN monomers on the inner contact layer made of SiO₂ in PET packaging, as well as the restriction of specific migration at 0.05 mg/kg food (mineral water) expressed as HMDSO, were approved by the AFC, *Panel on Food Additives, Flavorings, Processing Aids and Materials in Contact with Food*, European Food Safety Agency (EFSA) (EFSA 2007). The safety of mineral water is regulated in Croatia by Ordinance on natural mineral and natural spring waters (Official Journal 2011b), in EU by Council Directive 98/83 of 3 November 1998 on the quality of water intended for human consumption (EC 1998). For the application of the mentioned technology for the PET manufacture, with the inner contact layer made of SiO_x, used for the mineral water packaging, there are neither sufficient scientific data nor real condition testing results. Thus, the working group is not able to comment and to provide an answer whether the modification in PICVD technology is performed within the good manufacturing practices as stated by the Nestle.

KEY WORDS

Food contact PET packaging, Silicon coatings for PET packaging, mineral water, plasma impulse chemical vapour deposition (PICVD)

SADRŽAJ

SAŽETAK	1
POZADINA SLUČAJA	7
PROCJENA RIZIKA	8
1. IDENTIFIKACIJA OPASNOSTI	8
1.1. Proizvodnja PET ambalaže.....	8
1.2. Barijerna svojstva PET-a u odnosu na zapakiranu hranu	9
1.3. PICVD POSTUPAK.....	11
1.4. Zakonodavni okvir.....	17
2. KARAKTERIZACIJA OPASNOSTI.....	18
2.1. Toksičnosti HMDSO, HMDSN i prekursora	18
2.1.1. Apsorpcija, raspodjela, metabolizam i izlučivanje HMDSO, HMDSN te prekursora	21
2.1.2. Posljedice toksičnosti HMDSO, HMDSN i prekursora	24
2.1.3. Genotoksičnost, teratogenost i mutagenost HMDSO, HMDSN i prekursora	24
2.1.4. Procjena doza – učinak (LOEL, NOEL, ADD) za oralno uzeti HMDSO i prekursore	26
2.2. Identifikacija	28
2.2.1. Analitičke tehnike.....	29
2.2.2. Izražavanje rezultata	32
RASPRAVA	32
ZAKLJUČCI	33
DOKUMENTACIJA DOSTAVLJENA HAH-U	35
LITERATURA (REFERENCES)	35

POZADINA SLUČAJA

Hrvatska agencija za hranu (HAH) zaprimila je 12. ožujka 2012. godine od Ministarstva zdravlja zahtjev za donošenjem znanstvenog mišljenja za novu tehnologiju proizvodnje boca za mineralne vode koje će imati dodatni sloj materijala SiO₂ s unutrašnje, kontaktne strane sa svrhom poboljšanja barijernih svojstava PET ambalaže i produljenja roka trajanja upakiranog proizvoda (mineralnih voda San Pellegrino i Panna) od strane trgovačkog društva Nestle Adriatic d.o.o. iz Hrvatske. Znanstveni izvještaj zatražen je s obzirom da se radi o relativno novoj tehnologiji proizvodnje PET ambalaže za mineralnu vodu koja se želi staviti na tržište RH. Za Plasmax tehnologiju oblaganja PET ambalaže za mineralnu vodu San Pellegrino koriste se strojevi proizvođača KHS Plasmax GmbH iz Hamburga, Njemačka, implementirani u proizvodnu liniju punionice mineralnih voda San Pellegrino u Termama San Pellegrino u Italiji. Tehnološki postupak oblaganja PET ambalaže odobren je od strane EFSA-e i Američke agencije za hranu i lijekove (FDA), pri čemu je, prema navodima proizvođača, došlo do poboljšanja tehnološkog postupka unutar zahtjeva dobre proizvođačke prakse korištenjem HMDSN u struji kisika, umjesto do tada korištenog argona, za prvi od dva sloja PET barijere. Prema notifikaciji od strane FDA (FDA 2003) dozvoljeno je korištenje KHS Plasmax tehnologije za oblaganje polimera za neposredan dodir s hranom amorfnim silicijevim slojem u struji plazme s unutrašnje kontaktne strane pri čemu maksimalna debljina oba sloja ne smije biti veća od 100 nm.

S obzirom na navode iz zahtjeva i činjenicu da se radi o relativno novoj i optimiziranoj tehnologiji proizvodnje PET-a koja s kontaktne strane sadrži tanki sloj <100 nm SiO₂ i eventualnu prirodu opasnosti u pogledu mogućeg nepovoljnog učinka na zdravstvenu ispravnost hrane (mineralne vode) formirana je radna grupa za donošenje znanstvenog izvješća. Radna grupa je navode razmatrala i nakon pregleda dostupne literature, naknadno dostavljenih materijala na zahtjev radne grupe o tehnološkom postupku proizvodnje PET ambalaže za mineralne vode San Pellegrino i Panna te stručnih i znanstvenih dokumenata, donijela Znanstveno izvješće. Znanstveno izvješće odnosi se na PET ambalažu koja je obložena s unutrašnje strane slojem SiO₂ za pakiranje mineralne vode San Pellegrino, a koja je proizvedena tehnološkim postupkom PIVDC u struji argona i/ili kisika primjenom reaktivnih monomera heksametilidisiloksana i heksametildisilazana.

ZAHVALE

Hrvatska agencija za hranu zahvaljuje svim članovima Radne grupe na doprinosu u izradi ovog znanstvenog mišljenja.

PROCJENA RIZIKA

1. IDENTIFIKACIJA OPASNOSTI

1.1. Proizvodnja PET ambalaže

Poli(etilen-tereftalat) (PET) je plastomerni linearni poliester visoke molekulske mase, relativno visokog stupnja tališta i stupnja kristalnosti, odličnih mehaničkih svojstava, te kemijske i toplinske postojanosti (Šercer, 2000). S obzirom da PET može svoju dimenzijsku stabilnost i većinu svojih mehaničkih svojstva zadržati pri temperaturi iznad 100 °C ili ispod 0 °C definira se kao plastomer sa preradbenim svojstvima u taljevini i spada u skupinu konstrukcijske/inženjerske plastike (Clagett, 1986). Temeljne sirovine za proizvodnju PET-a su nafta i zemni plin pri čemu se od 1,9 kg nafte proizvede 1 kg PET-a (Radović i Milanović 2004). PET se dobiva polikondenzacijom estera tereftalne kiseline ili njenih derivata s etilen glikolom (EG) (Vujković i sur., 2007).

Temeljne reakcije dobivanja PET-a su: reakcije direktne esterifikacije i esterske izmjene uz dodatak katalizatora, a za primjene gdje se zahtijeva veća molekulska masa PET-a primjenjuje se postupak polimerizacije u čvrstom stanju (*eng. Solid State polymerization*) (SSP). Ovisno o vrsti reakcije u postupku polimerizacije PET-a koriste se 3 vrste monomera kao sirovine: EG, tereftalna kiselina (TPA) i dimetil tereftalat (DMT) (Janović, 2005) pri čemu njegovu kvalitetu određuje vrsta i broj nastalih sporednih reakcija. Preradba PET-a najčešće uključuje postupke ekstruzije, injektiranja i puhanja, a postoji i mogućnost preradbe drugim priznatim metodama (Vujković i sur., 2007). Tijekom preradbe moguće je utjecati na kristalnost što je jedan od razloga široke primjene ovog materijala u razne svrhe. PET je tijekom vremena podložan kristalizaciji pri čemu može doći do promjena u dimenzijskoj stabilnosti.

PET ambalaža za hranu s obzirom na sastav kojeg čine uglavnom tvari visoke molekulske mase ima niski migracijski potencijal što ga čini vrlo poželjnim materijalom za neposredan dodir s hranom. Difuzijski koeficijent PET-a je i do 100 puta niži nego kod ostalih polimernih materijala (ILSI 2000), pri čemu je štetnim tvarima puno teže migrirati iz i u PET ambalažu što je i razlog visoke kemijske inertnosti PET-a. Visoka kemijska inertnost znači da će materijal apsorbirati vrlo malu količinu supstancija koje mogu remigrirati kada su u neposrednom dodiru s hranom. U ovom slučaju prijenos tvari - migracija je difuzijski proces koji slijedi zakone difuzije. Razgradnja PET-a nastaje uzduž polimernog lanca pri čemu su glavni degradacijski produkti tereftalna kiselina, acetaldehid i ugljikov monoksid.

Na tržištu su najzastupljenije dvije kategorije PET-a i to PET za vlakna i PET za boce koji se međusobno razlikuju u molekulskoj masi i intrinzičnoj viskoznosti (IV) (Rieckmann i Völker 2003).

PET ambalaža dobivena postupkom ekstruzijsko-razvlačnog puhanja, općenito je pogodna kao ambalaža za hranu koja zahtjeva visoku prozirnost i sjaj, barijeru spram plinova, otpornost na puzanje pod tlakom, žilavost i čvrstoću (Brooks, 2002). Poželjna mehanička svojstva PET boce uglavnom ovise o molekulskoj masi, kristalnosti i orijentaciji, a mogu se postići modifikacijom polimera kombinacijama biaksijalne orijentacije s maksimalnim stupnjem kristalnosti (Göltner, 2003).

Proizvodnja PET ambalaže za hranu mora zadovoljiti vrlo stroge zahtjeve legislative u pogledu čistoće i fizikalnih svojstva polaznih sirovina. Osim dobrih mehaničkih svojstava PET boca za neposredan dodir s hranom mora zadovoljiti postavljene kriterije zdravstvene ispravnosti. Gubitak arome, vode i CO₂ te migracija O₂ u sadržaj značajno ovise o barijernim svojstvima ambalaže i utječu na njenu kvalitetu. Permeacija kisika u sadržaj može uzrokovati promjene u mikrobiološkim i organoleptičkim svojstvima hrane, oksidaciju arome te degradaciju vitamina.

PET ambalaža, odnosno boce u koje se pune pića kao što su sokovi, piva i različite vrste vode moraju biti stakleno prozirne u amorfnom stanju pri čemu prosječna molekulska masa iznosi između 24000-36000 g/mol što odgovara intrinzičnoj viskoznosti (IV) između 0,75-1,00 dL/g dok IV standardne PET boce iznosi 0,85 dL/g (Rieckmann i Völker 2003). Prednosti PET boca u odnosu na staklene boce su mala masa, otpornost na udarce i prilagodljivost u transportu što PET čini idealnim materijalom za transport na velike udaljenosti i skladištenje (Radović i Milanović 2004).

PET boce od 2L kao ambalaža za hranu (pića) pojavile su se prvi puta 1976. godine (Palzer, 2001) i do danas se koriste za neposredan dodir s hranom. S obzirom na veliku zastupljenost PET-a na tržištu u raznim primjenama i na činjenicu da je osnovna sirovina PET-a nafta, a plastika je na neki način posuđena nafta, poželjna je uporaba PET-a u razne namjene pa i za neposredan dodir s hranom.

1.2. Barijerna svojstva PET-a u odnosu na zapakiranu hranu

Prijenos tvari (migracija) kisika, vodene pare, CO₂, te ostalih plinova iz okoliša kroz ambalažu u hranu (sadržaj) uzrokovati će nepovoljne promjene u hrani kao što su oksidacija, mikrobní rast, rast plijesni te promjena okusa i mirisa. S obzirom da je migracija reverzibilan proces prijenos tvari iz hrane u okoliš kroz ambalažu uzrokovati će dehidraciju i dekarbonaciju. Gubitak CO₂ iz mineralne vode može nepovoljno djelovati na kvalitetu vode. Svrha primjene barijernog sloja u PET ambalaži je bolja zaštita od vanjskih utjecaja, prijenosa tvari te na taj način i produžetak roka trajanja upakiranog proizvoda.

Barijerna svojstva u pogledu propusnosti PET-a moguće je poboljšati različitim postupcima. Jedan od najjednostavnijih načina je povećanje gustoće materijala, odnosno stupnja kristalnosti bez značajnijih promjena u preradbenim svojstvima. Modifikacija PET-a komonomerima kao što su izoftalna kiselina

(IPA) i cikloheksan-dimetanol (CHDM) (Göltner, 2003), usporit će kristalizaciju, ali je neće u potpunosti spriječiti. Dodatak izoftalne kiseline (IPA) umjesto TPA u količini od 10 % smanjiti će propusnost na kisik za 25% bez značajnijih promjena u preradbenim svojstvima PET-a (Göltner, 2003). Razvijen je i veliki broj polimernih materijala kao što su poli(etilen-naftalat) (PEN) i etilen/vinil-alkohol (EVAL) koji pokazuju znatno poboljšana barijerna svojstva od PET-a (Walther i sur., 1996).

Na slici 1. prikazana je propusnost na kisik u bocu volumena od 0,5 L izrađenu od navedenih vrsta polimernih materijala i njihovih kompozita (Brooks, 2002). Premazi na bazi silicijeva oksida (SiOx) najčešće su debljine od 10-100nm i mogu smanjiti propusnost na kisik polimernog filma za dva reda veličine (Leterrier i sur., 2001) što je i vidljivo na slici 1. Barijerni materijali kao što su EVAL ili PA-MXD6 se uobičajeno koriste za sprečavanje gubitka CO₂ duž stijenke boce dok debljina barijernog sloja utječe na vijek trajanja upakiranog sadržaja (Brooks, 2002).

Općenito, postupke poboljšanja barijernih svojstava PET boce moguće je podijeliti na: postupke koji koriste barijerne premaze koji se nanose na kontaktni ili vanjski sloj boce i postupke koji koriste barijerne materijale koji se injekcijskim prešanjem ugrađuju u predoblik i kao jedan od slojeva u višeslojnoj PET boci ostaju ugrađeni u polimeru (Brooks, 2002).

Barijerni premazi koji se nanose na kontaktni ili vanjski sloj boce mogu biti organskog ili anorganskog podrijetla.

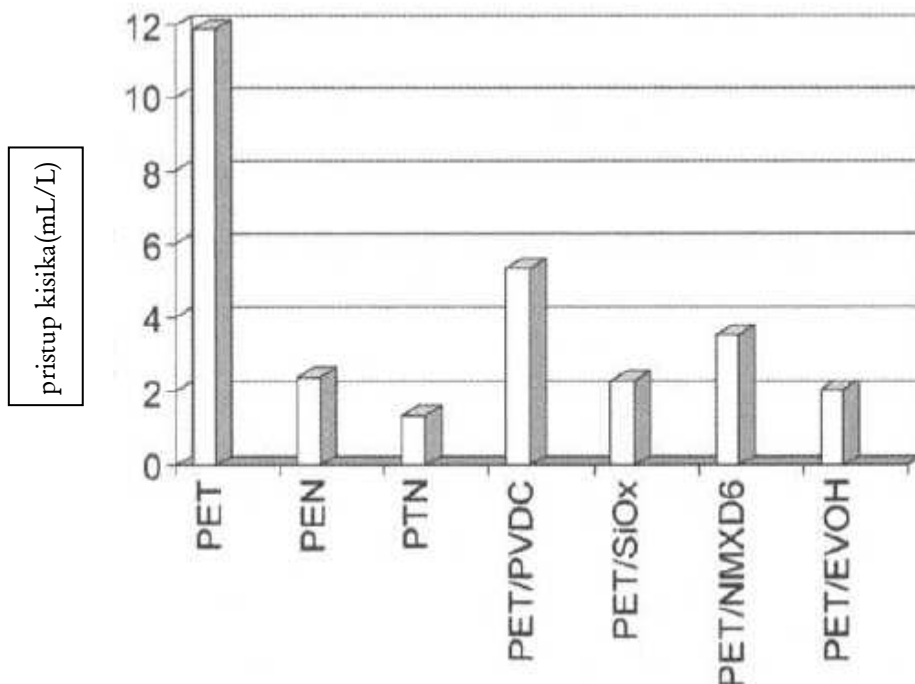
Tehnološki postupak oblaganja PET boce barijernim slojem moguće je podijeliti na (Brooks, 2002):

- Postupak kemijskog taloženja tankog sloja barijernog materijala kao što je ugljik ili silicij na kontaktni ili vanjski sloj pojačan plazmom ili vakuumom.

- Postupak rasprskavanja tekućeg organskog sloja barijernog materijala na vanjski sloj boce.

Osnovna prednost plinsko-faznog postupka je trodimenzionalno oblaganje površine pri niskim temperaturama (Walther i sur., 1996). Osim dobrih barijernih svojstava površina filma je transparentna, bezbojna, dobro podnosi mikrovalove, apsorbira UV zračenje i moguće ju je pasterizirati bez značajnijih promjena u sastavu te ne utječe nepovoljno na postupak uporabe (Grüniger i von Rohr 2003).

PICVD tehnologija našla je primjenu u različitim industrijama pri čemu je dobar primjer industrija poluvodiča koja koristi ovu tehnologiju za izradu tankih izolatorskih SiO₂ filmova (Pfuch i sur., 2006). Uloga HMDSN u proizvodnji poluvodiča je uklanjanje vode iz SiOx sloja ili neke druge površine supstrata, smanjenje površinske napetosti te osiguranje dobre foto-otporne adhezije (Cheng i sur., 2012).



Slika 1. Pristup kisika boci volumena od 0,5L tijekom 6 mjeseci skladištenja za različite vrste materijala i njihovih kompozita; PET, poli(etilen-naftalat) (PEN); poli(trimetilen-naftalat) (PTN); poli(viniliden-kloridna) plastika (PVDC), najlon (poliamid, PA) MXD6; etilen/vinil-alkohol (EVAL) (Brooks 2002).

1.3. PICVD POSTUPAK

S obzirom na barijerna svojstva, PET pripada skupini poliestera koji po svojoj strukturi imaju nedostatak površinskih mjesta za stvaranje kemijskih veza. Ovaj nedostatak moguće je modificirati različitim površinskim tretmanima koji potiču nastanak slobodnih radikala uporabom korozivnih kemikalija (npr. akrilnom kiselinom) ili ionskim bombardiranjem plazmom pri čemu dolazi do cijepanja molekularnih veza koje stvaraju više polarnih mjesta na površini osiguravajući na taj način bolje ovlaživanje i površinsku reaktivnost (Göltner, 2003). Na stjenku polimera se mogu ravnomjerno nanositi iznimno tanki slojevi premaza kao što je vidljivo na slici 2. pri čemu su prednosti SiOx sloja da je bezbojan i proziran (transparentan) (Orzinski, 2007).

Letierrier i suradnici te Wu i suradnici pokazali su da premazi na bazi SiOx debljine sloja od 30-50nm imaju optimalna barijerna svojstva na kisik i vodenu paru te da daljnje povećanje debljine sloja pogoršava barijerna svojstva premaza uslijed naprezanja induciranih napuklinama (Kim i sur., 2010). PICVD postupkom moguće je postići efikasnu izmjenu plinova unutar boce s jednakim svojstvima sloja duž čitave površine oblaganja (Walther i sur., 1996). Vrlo bitno je poznavati korelaciju između barijernih karakteristika koje se žele postići i morfologije premaza, a pri čemu su plinsko -barijerni

SiOx premazi izrazito ovisni o morfologiji (Kim i sur., 2010). Hrapavost površine sloja, na skali od 10s mikrona uzrokovana česticama prašine, krhotinama i antiblokirajućim česticama posljedica je stvaranja defekata u strukturi i gubitka barijernih svojstava (Howells i sur., 2008).

PICVD tehnološki postupak tvrtke KHS Plasmax GmbH (KHS 2010) kao što je prikazano na slici 3. zasniva se na reakciji HMDSO u struji zraka, pri čemu nastaje vezivni sloj te HMDSN, odnosno argona pri čemu nastaje barijerni sloj SiOx. PET boca koja će se oblagati ulazi u vakuumsku komoru u koju će se reaktivni monomeri (HMDSO + O₂) upuhavati putem plinskih poluga (katode) i načiniti adhezivni sloj. Struja mikrovalova ulazi u komoru, pali plazmu, ionizira plin, cijepa veze plinskog monomera uz stvaranje neutralnih slobodnih radikala koji su izrazito reaktivni te uzrokuje da se materijal istaloži u sloju kontaktnog dijela boce u komori. Elektroni apsorbiraju energiju iz električnog polja koja se prenosi na monomerni plin uglavnom sudaranjem uz stvaranje pobuđenih molekula, iona i radikala uz održavanje niske temperature (Salge, 1996). Nakon toga u komoru se na isti način uvode plinoviti materijali za barijerni sloj (HMDSN + O₂) i talože na adhezivnom sloju stvarajući novi barijerni sloj paljenjem plazme strujom mikrovalova. SiOx slojevi istaloženi sa HMDSN + O₂ pokazali su značajno smanjenu poroznost površine uslijed poboljšanog umrežavanja za razliku od SiOx slojeva istaloženih sa HMDSO + O₂ (Plog i sur., 2011). Akceleracija iona na katodi i elektroni iz plazme imaju najznačajniji utjecaj na formiranje sloja (Salge, 1996). Struja argona pospješuje bolju zapaljivost plazme od kisika, kod kemijskog taloženja adhezivnog sloja, što osigurava bolju stabilnost postupka, odnosno kontrolu protoka plina u PICVD vakuumskoj komori i poboljšanje u detekcijskim metodama (KHS 2010), budući da se proces odvija u nano mjerilu. Yun sa suradnicima istraživao je utjecaj protoka argona u PICVD postupku na povećanje amorfne ugljikove mreže u sloju i kidanje OH skupina uslijed bombardiranja ionima argona (Yun i sur., 2008). Isto tako utvrdili su da promjena protoka argona povećava i smanjuje reakciju disocijacije u organosilikonskoj plazmi. Procesni parametri kao što su tip reaktora i geometrija, tlak, sastav plinova i protok, ulazna struja i temperatura zajedno utječu na proces polimerizacije pojačan plazmom (Zanini i sur., 2005).

Prema dostupnim podacima i provedenim istraživanjima od strane proizvođača (KHS 2010) očekivalo se smanjenje globalne oksidacije HMDSO u PICVD postupku sa argonom. Rezultati ispitivanja pokazali su upravo suprotno, došlo je do porasta organskog/ugljičnog sadržaja x' i y' (slika 3 plava boja) u adhezivnom sloju. Ovakvo povećanje organskog/ugljičnog sadržaja iz adhezivnog sloja može rezultirati akumulacijom rezidualnih nečistoća u završnom barijernom sloju (dvosloj) PET boce. Moguće, zaostale nečistoće nastale na takav način su ciklički i linearni metil-siloksani koji se mogu apsorbirati u polimernoj strukturi PET boce. Budući da ove nečistoće sadrže atome silicija i kisika koji se mogu umrežavati u cikličke i linearne strukture, od tuda su i dobili naziv prema IUPAC nomenklaturi ciklički ili linearni siloksani, općenito se nazivaju silikonima (Sánchez-Brunete i sur., 2010).

Ovi ciklički i linearni spojevi s obzirom na fizikalno-kemijske karakteristike koje posjeduju, imaju jaki afinitet prema organskoj tvari, visoki bioakumulacijski kapacitet te su izrazito rezistentni u okolišu (Companion-Damas i sur., 2012).

Apsorbirane nečistoće u PET boci, kada dođu u neposredan dodir s hranom (mineralna voda), posjeduju i određeni migracijski potencijal s obzirom na njihovu malu molekulsku masu, što može rezultirati specifičnom migracijom ovih spojeva iz PET boce u hranu odnosno-mineralnu vodu S.Pellegrino. U tablici 1., navedeni su neki od ovih spojeva s njihovim kraticama, CAS brojevima i strukturnim formulama. Treba naglasiti da su neki od ovih niskomolekulskih spojeva kao što je primjer heksametilciklotrisiloksana (D3), izrazito hlapljivi (Sánchez-Brunete i sur., 2010).

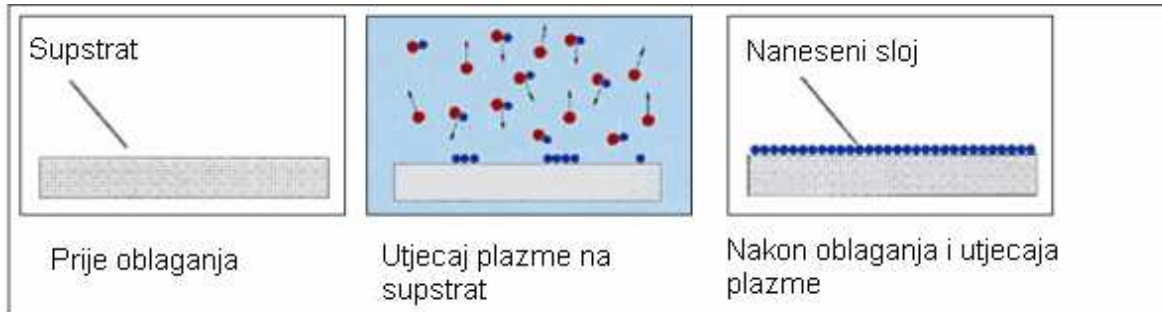
Prema podacima dostavljenim od strane zahtjevatelja/proizvođača (KHS, 2010) izvršena je analiza zaostalih nečistoća u stjenkama boce za mineralnu vodu, a rezultati ispitivanja prikazani su u tablici 2. Uspoređeni su rezultati zaostalih nečistoća u proizvodnim procesima oblaganja PET boce koji koriste i kisik i argon (slike 3a i 3b) u PICVD postupku, PET boce koja nije podvrgnuta PICVD postupku - bez premaza (kontrolni uzorak) sa maksimalno dopuštenim vrijednostima propisanim od strane FDA (FDA, 2003).

Rezultati ispitivanja dokazali su prisutnost D4 i D5 u kontrolnom uzorku - PET boca bez unutrašnjeg SiO₂ sloja. Prisutnost D4 i D5 u kontrolnom uzorku (nije podvrgnut PICVD postupku) najvjerojatnije potječe iz predoblika iz kojih se napuhuju boce jer se predoblici u tehnološkom postupku proizvodnje premazuju sa siloksanskim premazima, ali s vanjske strane koja ne dolazi u neposredan dodir sa sadržajem. Zaostale nečistoće D3, D4 i D5 u kontrolnom uzorku nisu uzete kao vrijednost slijepe probe za dobivene vrijednosti iz postupka a i b (slike 3a i 3b, tablica 2) (KHS 2010). Isto tako rezultati ispitivanja pokazali su da je količina nečistoća izmjerena u boci dobivenoj PICVD postupkom s argonom (slika 3b) nešto viša nego u boci koja je dobivena standardnim postupkom oblaganja u struji kisika (slika 3a). Osim povišenih vrijednosti zaostalih nečistoća u PICVD postupku s argonom primijećene su i različite vrste nečistoća kao što su PMDSO i OMT_rSO. Iz podataka dostavljenih od strane Zahtjevatelja izrađena je procjena izloženosti pri čemu je uzet odnos kontaktne površine obložene PET boce koja može doći u neposredan dodir s hranom, a koja iznosi 4,1 dm² boce s 0,5 L hrane, odnosno 0,5 kg mineralne vode (Fraunhofer, 2010; KHS 2010) što iznosi 8,2 dm²/kg. Rezultati dobivenih vrijednosti uspoređeni su sa maksimalno dopuštenim vrijednostima propisanim od strane FDA (FDA 2003). Rezultati izračuna prikazani su u tablici 3. Izračun je proveden prema primjeru za PMDSO. U tablici 2. PMDSO je kvantitativno određen u stijenki PET boce volumena od 0,5 L i njegova koncentracija iznosi 3 ng/dm². Uzimajući u obzir najgori mogući scenarij da je specifična migracija u hranu PMDSO potpuna te da kontaktna površina boce volumena 1L iznosi 8,2 dm²/kg uz faktor unosa propisan od strane FDA koji iznosi 0,16 moguće je izračunati:

$$\text{specifična migracija PMDSO} = 3 \text{ ng/dm}^2 \times 8,2 \text{ dm}^2/\text{kg} = 24,6 \text{ ng/kg} = 0,025 \text{ ppb}$$

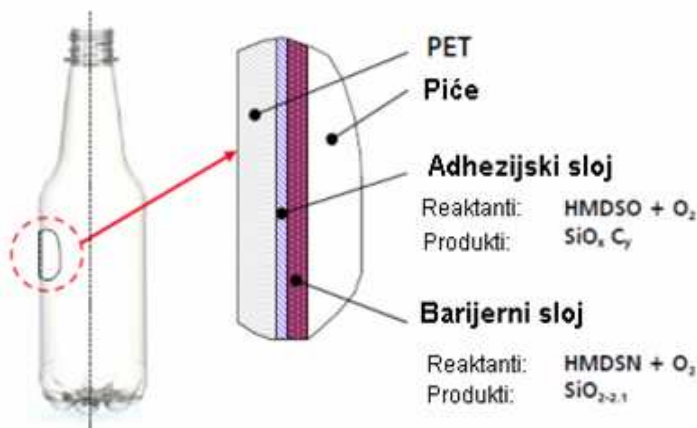
$$\text{koncentracija u hrani} = 0,025 \text{ ppb} \times 0,16 = 0,004 \text{ ppb}$$

Uzimajući ovu formulu za izračun svih količina primijećenih siloksana u uzorku boce obložene s unutrašnje strane SiOx slojem vidljivo je iz tablice 3., da niti jedna tvar nije prekoračila vrijednost od 0,5 ppb.

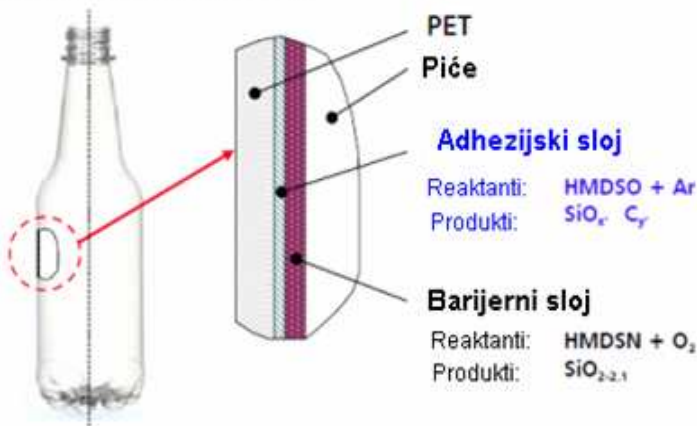


Slika 2. Pojednostavljeni prikaz PICVD postupka oblaganja polimernog supstrata (Orzinski, 2007).

a) Plasmax postupak s kisikom (standardni)

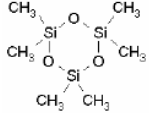

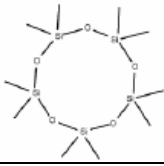
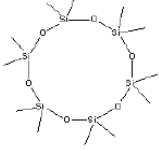
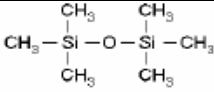
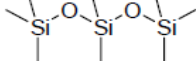
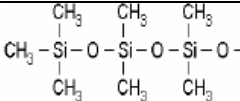
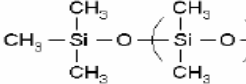


b) Plasmax postupak s argonom



Slika 3. PICVD tehnološki postupak tvrtke KHS Plasmax GmbH oblaganja kontaktnog sloja PET boce sa SiOx maksimalne debljine <100 nm: a) Plasmax postupak s kisikom b) Plasmax postupak s argonom (KHS 2010).

Tablica 1: Linearni i ciklički siloksani sa strukturnom formulom i kraticama (Kaj i sur., 2005; KHS 2010; Companioni-Damas i sur., 2012).

Kratica	Naziv	CAS broj	Struktura
D3, HMCTrSO	Heksametilciklotrisiloksan	541-05-9	
D4, OMCTeSO	Oktametiltetracikloisiloksan	556-67-2	
D5, DMCPSO	Dekametilciklopentasiloksan	541-02-6	
D6	Dodekametilcikloheksasiloksan	540-97-6	
MM, HMDS, HMDSO, L2	Heksametildisiloksan	107-46-0	
MDM, L3 OMTrSO	Oktametiltrisiloksan	107-51-7	
MD2M, L4	Dekametiltetrasiloksan	141-62-8	
MD3M, L5	Dodekametilpentasiloksan	141-63-9	

Tablica 2: Rezultati ispitivanja zaostalih nečistoća u stjenkama boce za mineralnu vodu od 0,5 L (KHS 2010).

Zaostale nečistoće u stjenkama PET boce koja je obložena SiO ₂ premazom/(ng/dm ²)				
Tvar	Kontrolni uzorak	Postupak A (Plasmax postupak s kisikom - standardni)	Postupak B Plasmax postupak s argonom	FCN br.329 (FDA 2003)
Pentametildisiloksan (PMDSO)	manje od granice detekcije (<0,1)	manje od granice detekcije (<0,1)	3	-
Heksametildisiloksan (HMDSO, L2)	manje od granice detekcije (<0,1)	4	82	125
Heksametilciklotrisiloksan (D3, HMCTrSO)	4	9	24	-
Oktametiltrisiloksan (MDM, L3, OMTrSO)	manje od granice detekcije (<0,2)	manje od granice detekcije (<0,1)	110	-
Oktametiltetracikloisiloksan (D4, OMCTeSO)	2	2	4	-
Dekametilciklopentasiloksan (D5, DMCPSO)	1	1	2	-
Neidentificirani pik (retencijsko vrijeme 11,9 minuta)	-	-	-	170
Neidentificirani pik (retencijsko vrijeme 22,2 minute)	-	-	-	170

Tablica 3: Rezultati izračuna koncentracija u hrani za PET bocu od 0,5 L iz vrijednosti dobivenih u tablici 2. (KHS 2010).

Koncentracija u hrani (ppb)			
Tvar	Postupak A (Plasmax postupak s kisikom - standardni)	Postupak B Plasmax postupak s argonom	FCN br.329 (FDA 2003)
Pentametildisiloksan (PMDSO)	<0,000013	0,004	-
Heksametildisiloksan (HMDSO, L2)	0,005	0,108	0,16
Heksametilklotrisiloksan (D3, HMCTrSO)	0,012	0,032	-
Oktametiltrisiloksan (MDM, L3, OMTrSO)	<0,00026	0,14	-
Oktametiltetracikloisiloksan (D4, OMCTeSO)	0,003	0,005	-
Dekametilkiklopentasiloksan (D5, DMCPSO)	0,001	0,003	-
Neidentificirani pik (retencijsko vrijeme 11,9 minuta)	-	-	0,22
Neidentificirani pik (retencijsko vrijeme 22,2 minute)	-	-	0,22

1.4. Zakonodavni okvir

Uporaba i primjena monomera, dodataka te ostalih sirovina koje se mogu koristiti za proizvodnju PET ambalaže te njihova ograničenja u pogledu globalne i specifičnih migracija propisana je u RH Pravilnikom o zdravstvenoj ispravnosti materijala i predmeta koji dolaze u neposredan dodir s hranom (Pravilnik, 2009; Pravilnik, 2011a). Isto tako, navedenim Pravilnikom dopuštena je i primjena postupka za unutrašnje oblaganje PET boca sa premazom na bazi SiO₂. Pravilnik (Pravilnik, 2009; Pravilnik, 2011a) ne propisuje ograničenje u pogledu maksimalno dopuštene debljine kontaktnog sloja na bazi SiO₂ <100 nm i u tom pogledu nije potpuno usklađen sa novom Uredbom 10/2011 (EC, 2011). Opće odredbe u pogledu označavanja i zdravstvene ispravnosti koje moraju zadovoljavati materijali i predmeti koji dolaze u neposredan dodir s hranom propisane su Uredbom 1935/2004/EZ (EC, 2004) te su potpuno usklađene sa navedenim Pravilnikom (Pravilnik, 2009; Pravilnik, 2011a).

Primjenu monomera HMDSO i HMDSN za unutrašnji kontaktni sloj od SiO₂ u PET ambalaži kao i ograničenje u pogledu specifične migracije koje iznosi 0,05 mg/kg izraženo kao HMDSO odobrila je

Radna grupa za aditive u hrani, arome, pomoćna sredstva u proizvodnji i materijale u dodiru sa hranom Europske agencije za sigurnost hrane-EFSA (EFSA 2007). Isto tako, navedena Radna grupa procijenila je da rezidualna količina HMDSO u PET boci koja je podvrgnuta tretmanu oblaganja sa dva reaktivna monomera HMDSO i HMDSN za izradu barijernog premaza debljine od 43 nm iznosi 0,9 µg/6dm² površine boce. Ostali mogući reaktivni monomeri u pogledu specifične migracije u hranu nisu evaluirani od strane EFSA. Prema notifikaciji od strane FDA (FDA 2003) dozvoljeno je korištenje KHS Plasmax tehnologije za oblaganje polimera za neposredan dodir s hranom amorfnim silicijskim slojem u struji plazme s unutrašnje kontaktne strane pri čemu maksimalna debljina oba sloja ne smije biti veća od 100 nm. Zdravstvena ispravnost mineralne vode u RH propisana je Pravilnikom o prirodnim mineralnim i prirodnim izvorskim vodama (Pravilnik, 2011b), a u EU Direktivom 98/83/EZ (EC, 1998).

2. KARAKTERIZACIJA OPASNOSTI

2.1. Toksičnosti HMDSO, HMDSN i prekursora

Svega je nekoliko siloksana opisano u literaturi u pogledu učinka na zdravlje, prvenstveno ciklički siloksani D4 i D5 i ravnolančani, niskomolekularni HMDSO. Samo rijetke toksikološke informacije dostupne su o HMDSO i D5 siloksanima jer se vjeruje da su relativno inertni i niske toksičnosti.

Međutim, oktametilciklotetrasiloksan (D4) i homolog D5 su opširno proučavani. Stoga nije moguće napraviti šire zaključke i usporedbe toksičnosti vezeno za kratkolančane, linearne i cikličke siloksane. Ovi siloksani imaju relativno nisku akutnu toksičnost (oralna, dermalna i inhalacijska) i ne zahtijevaju razvrstavanje za tu svrhu. Nisu iritantni za kožu ili oči, a također nije pronađena senzibilizacija u dodiru s kožom kao što nije identificirana ni respiratorna senzibilizacija. Subakutno i subkronično udisanje HMDSO utječe posebice na pluća i bubrege u štakora. Nijedan od tri spomenuta siloksana ne pokazuje nikakve znakove genotoksičnih učinaka *in vitro* ili *in vivo*. Na temelju pregledanih informacija, ključni učinci siloksana su umanjena plodnost (D4) i potencijalni karcinogeni učinci na maternici (tumori kod žena) (D5). Nadalje, čini se da postoje neki učinci na različite organe nakon ponovljene izloženosti: jetra (D4), bubrezi (HMDSO) i pluća (D5 i HMDSO) (Lassen i sur., 2005).

Europska komisija je klasificirala D4 u kategoriju 3 za reproduktivnu toksičnost (mogući rizik poremećaja plodnosti). Ova klasifikacija je napravljena na temelju reproduktivnih učinaka uočenih u štakora nakon izlaganja udisanjem, posebno kod inhalacijske izloženosti ženskih štakora na D4 u vrijeme parenja. Također, danska EPA (Lassen i sur., 2005) je, temeljem iste studije, također prepoznala umanjene plodnosti kao kritični učinak D4 (Environment Health Canada 2008).

Općenito, **akutna toksičnost** siloksana je niska. Na temelju dostupnih rezultata istraživanja akutne i oralne toksičnosti (D4) može se zaključiti da D4 ima nisku akutnu oralnu i dermatotoksičnost (SCCP, 2005).

LD50¹ kod **oralne primjene** HMDSO na štakorima je više od 5 mg/kg. LC50² u štakora izloženih HMDSO je > 48 mg/L. LC50 u štakora izloženih HMDSO četiri sata je 15 956 ppm (Lassen i sur., 2005).

Nekoliko studija s **dermatološkom primjenom** HMDSO su pokazala veće vrijednosti LD50, ali je smrtnost zabilježena pri 10000 mg/kg tjelesne mase. Toksični učinci pri 10000 mg/kg uključili su patološke (pluća, bubrega, mjehura, srce), a kliničke promjene kod malog broja kunića. Za razliku od kunića, kod štakora nije bilo smrtnost ili znakova toksičnosti u testnim dozama (Lassen i sur., 2005).

Akutna toksičnost pri udisanju (D4) na volonterima (8 muškaraca + 4 žene) izloženim 10ppm D4 pare (120 mg/m³) kroz jedan sat preko usta u dvostruko slijepom, randomiziranom istraživanju nije pokazala nikakve promjene u funkciji pluća. Smanjenje u krvi je nelinearno s poluvremenom eliminacije od 330min. Ukupna prosječna D4 apsorpcija je 12 % (Environment Health Canada, 2008).

Iritacija i senzibilizacija HMDSO testirana na očima kunića bila je bez znakova iritacije. Isto se pokazalo i na koži kunića. Jedna studija opisuje HMDSO kao malo iritantan. HMDSO je testiran i na zamorcima ali bez pozitivnog rezultata (Lassen i sur., 2005).

D4 ne izaziva iritaciju kože, dok nema studija o iritaciju očiju. D4 nije izazvao preosjetljivosti kože. Nadalje, nema dokaza o senzibilizaciji (SCCP, 2005).

Dermalno / perkutana apsorpcija D4 ima ograničeni broj podataka sa širokim varijacijama. Najgori slučaj dermalne apsorpcije, od primijenjene doze pronađen *in vitro*, iznosi 0,94 % (SCCP 2005).

Oralna toksičnost pri ponovljenim dozama D4 nije zabilježena. Zabilježen je značajan pad tjelesne mase pri dozama od 1600 mg/kg i povećana masa jetre pri 400 i 1600 mg/kg.

Davanje doza od 500 i 1000 mg/kg/dan gravidnim kunićima izaziva smanjenje unosa hrane i tjelesne mase. Nema smrtnih slučajeva ali su zabilježeni znakovi stresa. Potrošnja hrane je smanjena, a posljedično tome i tjelesna masa. Nisu rađene postmortalne promjene na organima (SCCP, 2005).

Studija o **toksičnost na koži (D4) pri ponovljenoj dozi (28 dana)** pokazala je da nema kliničkih znakova toksičnosti. Nema utjecaja na preživljavanje, tjelesnu masu, potrošnju hrane, krvnu sliku, kliničku kemija, analizu urina, makro i mikro patologiju. Izračunati NOEL³ je 1ml/kg (što odgovara 960 mg/kg tjelesne mase) (SCCP, 2005).

Studija inhalacijske toksičnosti (D4) pri ponovljenoj dozi (14 dana) nije zabilježila smrtnost ili znakove vezane za tretman tijekom studije. Odrasle ženke pokazale su značajan gubitak tjelesne mase (-3 g) u

¹ LD50 - doza toksičnog agensa koja izaziva smrt 50% populacije

² LC50 - mjera akutne inhalacijske toksičnosti

³ NOAEL – najviša doza kod koje nije uočen štetan učinak.

usporedbi s kontrolnom skupinom tijekom 2-tjednog tretmana. Svi tretirani štakori imali su slabiji apetit od kontrolne skupine štakora. Apetit im se vratio tijekom perioda oporavka. Nije provedena klinička patologija ili autopsija (SCCP, 2005).

Studija inhalacijske toksičnosti (D4) pri ponovljenoj dozi (28 dana) nije pokazala smrtnost u dvije najniže doze tijekom perioda liječenja, a u dvjema najvećim dozama izloženosti uočena je hepatocelularna hipertrofija. Smatra se da je NOAEL <226 ppm (2,8 mg/L zraka).

Još jedna studija pokazala je da nema smrtnosti ili znakova vezano za tretman tijekom studije. Izloženost dozi od 700 ppm kroz 28 uzastopnih dana nije imao značajan utjecaj na tjelesnu masu ili unos hrane kod miševa, hrčaka i kunića. Jedna studija je pokazala reverzibilno povećanje mase jetre štakora i povećanu količinu dimetiliranog D4 u mokraći hrčka, miševa i štakora. Studija je i pokazala indukciju enzima i povećanu proliferaciju hepatocita kod štakora, ali ne i zamoraca što ukazuje na prisutnost metaboličke prilagodbe promjenama (SCCP, 2005).

Kratkotrajna toksičnost pri ponovljenoj dozi (D4) kod volontera oralno izloženih dozi od 12 mg/dan D4 tijekom 14 dana. Studija, dizajnirana kao analiza zamjene terapije (cross-over), dvostruko slijepa, placebo kontrolirana, nije pokazala imunotoksični niti protuupalni učinak (Environment Health Canada, 2008).

Subakutna/subkronična/kronična toksičnosti (HMDSO)

Štakori izloženi udisanju HMDSO, tijekom jednog mjeseca, u koncentracijama između 0,9 i 59,2 mg/L pokazali su umjereno povećanje žarišne upalne lezije u plućima, u skupini najviše primjenjene doze, promjene na bubrezima, u štakora izloženih dozama od 12,7 i 59,2 mg/kg, te promjene na bubrezima i žuči pri najvišim dozama.

Izloženost štakora, kroz tri mjeseca, HMDSO-u u koncentracijama između 0,33 i 33,3 mg/kg pokazala je slične histološke lezije bubrega kod doza od: 4,0; 10,0 i 33,3 mg/kg. Utvrđeni NOEL⁴ je 1,3 mg/kg kod muških i 33,0 mg/kg kod ženskih štakora (Lassen i sur., 2005).

Istraživanje subkronične inhalacijske toksičnosti HMDSO-a na 20 muških i 20 ženskih Fischer 344 (F344) štakora izloženih parama koncentracije u rasponu 0-5000 (5012) ppm HMDSO, 6 sati dnevno, 5 dana tjedno, kroz 13 tjedana pokazalo je da nema znakova kliničke toksičnosti ili smrtnosti, ali su dobiveni statistički značajni učinci na tjelesnu masu ili konzumiranje hrane i promjene u masi organa. Zabilježene su manje hematološke, kliničko-biokemijske promjene u analizi urina, ali nisu bile od toksikološkog značaja kao i histološke promjene u bubrezima (Cassidy i sur., 2001).

U jednom istraživanju multifokalne, subpleuralne, subakutno do subkronično međuprostorne upale su zabilježene u plućima svih skupina štakora izloženih tromjesečnom udisanju koncentracija između 0,9

⁴ NOEL - najviša doza uz koju se ne pojavljuje štetan učinak

i 13,64 mg/kg HMDSO. Nakon razdoblja oporavka promjene su i dalje bile vidljive kod skupine izložene visokim dozama (Lassen i sur., 2005).

Subkronična (90 dana), oralna/dermalna/inhalatorna toksičnost

Jedna studija je pokazala povećanu masu jetara kod ženki na kraju razdoblja od 13 tjedna izloženosti koje se vratilo u normalu nakon 4 tjedna perioda oporavka. Nije bilo drugih promjena u kliničkim znakovima, konzumiranju hrane, tjelesnoj masi, hematološkim analizama, analizama seruma biokemijskim analizama, analizama urina, oftalmološkim, ili makroskopskim i mikroskopskim procjenama tkiva, histopatohistološke ili patološkim analizama. Zaključeno je da je NOEL 10 ppm.

Sljedeća studija pokazala je da nema smrtnosti ili otvorenih znakova toksičnosti osim laganog, reverzibilnog smanjenja tjelesne mase i mase jajnika ženki izloženih visokim dozama, reverzibilno povećane mase jetre kod muških ali ne i ženskih štakora. Nije bilo abnormalnosti u hematološkim analizama, analizama seruma, biokemijskim analizama, analizama urina i oftalmoloških kao ni drugih patoloških promjena. Zaključeno je da je NOEL 50 ppm za ženke štakora, a manje od 50 ppm kod muških štakora na temelju mase jetara. Povećana jetra ukazuje na NOEL od 35 ppm. Osim toga, zaključeno je da LOEL⁵ iznosi 35 ppm temeljem zabilježenih plućnih lezija na svim razinama izloženosti (SCCP, 2005).

Kronična (> 12 mjeseci) toksičnost

Na temelju studije NOEL je 10 ppm, temeljem povećane mase jetara u muških štakora nakon 6 mjeseci, i NOAEL od 150 ppm temeljem povećane mase jetre i hipertrofije hepatocita dijagnosticirane pri izloženosti od 700 ppm muškaraca nakon 12 mjeseci (SCCP 2005).

2.1.1. Apsorpcija, raspodjela, metabolizam i izlučivanje HMDSO, HMDSN te prekursora

U štakora kojima je davan HMDSO oralno i intravenozno nepromijenjen spoj nije pronađen u mokraći. Metaboliti ovog linearnog siloksana strukturno se razlikuju od onih dobivenih iz cikličkog siloksana, osim prisutnog Me (2) Si (OH) (Lassen i sur., 2005).

Varaprath i sur. (2003) su proveli opsežno istraživanje sa svrhom procjene kinetike i metabolizma HMDSO-a i D5, kao predstavnika ravnolančanih i cikličkih siloksana, u urinu štakora nakon izlaganja istim.

[¹⁴C] MHDSO i [¹⁴C] D5 oralno su aplicirani muškim i ženskim štakorima Fischer F344. Rezultati su pokazali da je većina radioaktivnosti sadržana u urinu (~40 %), i isparenim hlapljivim spojevima (~50 %) dok su se manje količine izlučile putem CO₂ (1-2 %) i izmeta (1-2 %) ili ostale u trupu (~5 %), 168

⁵ LOEL - najniža doza kod koje je uočen učinak.

sati nakon izlaganja. Prikazani su mogući putovi za formiranje metabolita MHDSO-a i D5 u urinu štakora.

Sljedeći metaboliti MHDSO-a su utvrđeni u mokraći:

HOCH₂SiMe₂OSiMe₂CH₂OH (1,3-bis(hidroksimetil)tetrametildisiloksan),

HOSiMe₂CH₂OH (hidroksimetildimetilsilanol);

HOSiMe₂OH (dimetilsilanediol);

Me₃SiOH (trimetilsilanol);

Me₃SiOSiMe₂OH (pentametildisiloksanol);

Me₃SiOSiMe₂CH₂OH (hidroksimetilpentametildisiloksan);

HOSiMe₂OSiMe₂CH₂OH (3-hidroksimetil-1,1,3,3 tetrametildisiloksanol)2,2,5,5-tetrametil-2,5-disila-1,3-dioksalan;

2,2,5,5-tetrametil-1,4-dioxa-2,5-disilacikloheksan.

Metaboliti D5 su:

Me₂Si(OH)₂, MeSi(OH)₃, MeSi(OH)₂OSi(OH)₃, MeSi(OH)₂OSi(OH)₂Me, MeSi(OH)₂OSi(OH)Me₂,

Me₂Si(OH)OSi(OH)Me₂, Me₂Si(OH)OSiMe₂OSi(OH)Me₂, nonametilklopentasiloksanol, i hidroksimetilnonametilklopentasiloksan (Varaprath i sur 2003).

Toksikokinetika

D4 označen radioaktivnim ugljikom-14, korišten je u brojnim studijama ispitivanja apsorpcije, raspodjele i metabolizma nakon oralne inhalacijske i intravenozne primjene na glodavcima i/ili ljudima.

Oralna doza D4 brzo se apsorbira, po svim tkivima putem plazme i krvi, kada se primjenjuju u kukuruznom ulju (SCCP 2005). Autoradiografija cijelog tijela pokazuje slične putove apsorpcije i raspodjele radioaktivnosti, ali razlike su u tranzitnom vremenu radioaktivnosti kroz probavni sustav ovisno o nosačima 14C-D4.

U tri inhalacijske studije, muški F344 štakori bili su izloženi (radioaktivnom) 14C-D4 od 700 ppm tijekom 6 sati, zatim su muški i ženski F344 štakori bili izloženi 14C-D4 od 7, 70 ili 700 ppm tijekom 3 ili 6 sati, te su muški i ženski F344 štakori bili izloženi (neradioaktivnom) D4 od 7 ili 700 ppm tijekom 14 dana nakon čega je slijedilo jednokratno 6-satno izlaganje 14C-D4 od 7 ili 700 ppm. Plazma vrijednosti 14C-D4 pokazuje porast koji je bio približno proporcionalan povećanju doze. Radioaktivnost je preuzeta od strane tkiva, posebno masnoća, te se eliminira nešto sporije nego iz plazme. U krvi, plazmi i svim tkivima (osim masti), maksimalne koncentracije radioaktivnosti su na kraju izlaganja (0-ti sat) do 3 sata nakon prestanka izlaganja. Mast je depo za radioaktivne tvari i maksimalne koncentracije su zabilježene i do 48 sati nakon izloženosti. Vrijeme poluraspada radioaktivnosti kretalo se od 68 sati, u plazmi, do 154 sati u koži. Tkiva u kojima radioaktivne tvari imaju najduže vrijeme poluraspada su testisi, koža, pluća, nosna sluznice, masti, oči, maternica i rodnic. Podaci pokazuju da se oko 5 % od udahnute doze apsorbira. Više D4 utvrđeno je u plućnom

tkivu i masti nego u drugim tkivima, što je i za očekivati, jer D4 je prvenstveno topljiv u mastima, deponira se u njoj i lipolitičkom tkivu.

Jedna je studija pokazala da 14C D4 ekstenzivnije metaboliziraju mužjaci u odnosu na ženke štakora. Vrhunac koncentracije radioaktivnosti je u jetri, bubrezima i plućima 0,5 sata nakon doziranja u oba spola. Koncentracija se smanjuje, ali nakon 120 sati najveća je u masnom tkivu ženki u odnosu na muške štakore.

Maksimalna koncentracija izmjerene radioaktivnosti je u krvi, plazmi i tkivima na kraju izlaganja. Uklanjanje radioaktivnih tvari iz tkiva ide istom brzinom kao i u plazmi (osim perirenalne masti i pluća). Izmjerena radioaktivnost u izlučevinama je sljedeća: urin 35,75±1,09 %, feces 29,68±2,84 %, isparena hlapiva 33,72±14,72; CO₂ 1,72±0,10 %. Nakon udisanja radioaktivnih tvari, iste se brzo izlučuju od strane životinja, u prvom satu 12,43±3,36 % ispari iz tijela. Putem mokraće većina radioaktivnih tvari (86 %) je tijekom 0-48 sati uklonjena. Jedna studija ukazuje da postoje razlike u putovima izlučivanja obzirom na različite putove unosa ali se metabolički put D4 time ne mijenja.

Analiza metabolita D4 uz korištenje HPLC sustava opremljenog detektorom radioizotopa identificirala je 2 glavna metabolita koje čine 75-85 % od ukupnog broja komponenti: dimetilsilandioliol [Me₂Si(OH)₂] i metilsilantrioliol [MeSi(OH)₃]. Od ostalih metabolita identificirani su [MeSi(OH)₂-O-Si(OH)₃], [MeSi(OH)₂-O-Si(OH)₂Me], [MeSi(OH)₂-O-Si(OH)Me₂], [Me₂Si(OH)-O-Si(OH)Me₂], [Me₂Si(OH)-OSiMe₂-OSi(OH)Me₂] (SCCP, 2005).

***In vitro* podaci o metabolizmu**

Na temelju rezultata dvaju istraživanja *in vitro* studija s ljudskim mikrosomima jetre zaključeno je da 14C-D4 primarno metabolizira u metabolit M8, te da su CYP2B6 i CYP3A4 u velikoj mjeri odgovorni za njegovo formiranje (SCCP, 2005).

Podaci dobiveni na ljudima

Dva su istraživanja o unosu i apsorpciji D4 napravljena na 12 dobrovoljaca (8 muškaraca i 4 žene starosti od 25-49 godina). Dobrovoljci su inhalirani s 10 ppm D4 (122 µg/L) ili zraka (kontrolna skupina) tijekom 1 sat. Vrijednosti D4 u plazmi i izdahnutom zraku su mjerene prije, tijekom i nakon izlaganja. Nakon jednosatnog izlaganja D4 koncentracija u plazmi iznosila je 56 ng/g plazme. Simptomi i testovi plućne funkcije nisu pokazivali učinke pokusa kao što nije bilo promjena ni u vitalnom kapacitetu pluća. Prosječni D4 unos je bio 137±25 mg. Nije bilo promjena u funkciji pluća. U plazmi je nađeno 79±5 ng/g D4 što ukazuje na nelinearno smanjenje u krvi. Izračunat je i koeficijent prijenosa mase iz zraka u krv. U nastavku, na 8 osoba je napravljena usporedba disanja na nos i na usta i depozicije D4. Prosječna depozicija je bila slična za oba izlaganja. Na krvi dobrovoljaca napravljen je i cijeli niz testova o imunotoksičnosti D4. Opći je zaključak istraživanja da je većina ispitanika imala minimalne simptome slične onima kod kontrolne grupe.

U sljedećem istraživanju 6 muških dobrovoljaca, starosti 24 do 52 godine, izloženo je parama D4 koncentracije 10 ppm tijekom 1 sat s ciljem utvrđivanja metabolita D4 u krvi i urinu. Prosječni respiratorni unos iznosio je 154 ± 39 mg, a respiratorna eliminacija iznosila je 28 % apsorbirane doze. Koncentracija D4 u plazmi nakon izlaganja iznosila je 115 ± 50 ng/g, a slični odnosi su pronađeni u krvi. Metaboliti su bili u krvi i plazmi postojaniji i još uvijek prisutni 24 sati nakon izloženosti. Oko 25-30 % D4 je pronađeno u urinu. Kromatogrami urina su kvalitativno vrlo slični onima u štakora. Jedan od metabolita kod čovjeka, uvjetno identificiran kao trimetildisiloksan-1,3,3-triol, nije otkriven kod štakora (SCCP, 2005).

2.1.2. Posljedice toksičnosti HMDSO, HMDSN i prekursora

2.1.3. Genotoksičnost, teratogenost i mutagenost HMDSO, HMDSN i prekursora

Rezultati o testovima toksičnosti HMDSO-a pokazali su da se tvar ne smatra genotoksičnom. Test mutacije gena u bakterija bio je negativan. Ograničeni test mutacije gena na stanicama sisavaca, *in vitro*, bez odgovarajućeg smanjenja ukupnog rasta pod uvjetima aktivacije, ne pokazuju povećanje frekvencije mutacija. Dva testa aberacije kromosoma su provedena: posljednji, izveden u skladu s postojećim smjernicama, jasno je negativan, a drugi je dvosmislen. *In vitro* test izmjene sestrinskih kromatida i test alkalne elucije, koji daje dodatne informacije o aktivnosti oštećene DNA, bili su negativni. *In vivo* test aberacije kromosoma koštane srži bio je negativan (EFSA, 2007).

Genetska toksičnost (HMDSO)

HMDSO je testiran u velikom broju u *in vitro* studija uključujući: Ames test na različitim sojevima (sa i bez metaboličke aktivacije), test oštećenja DNA i test reparacije na *E. coli*, citogeni test na jajnim stanicama kineskog hrčka, test kromosomske aberacije, test izmjene sestrinskih kromatida u stanicama limfoma kod miševa, sve sa i bez aktivacije i sve s negativnim rezultatom. *In vivo* testovi su uključili citogeni test na štakorima koji se također pokazao negativnim. Rezultati ne daju naznake da bi HMDSO imao genotoksični potencijal (Lassen i sur., 2005).

Mutagenosti/genotoksičnosti (D4) *in vitro*

Nisu zabilježene mutagene aktivnosti na nijednom od pet ispitanih sojeva, a rezultati su promatrani u dva neovisna pokusa. Svih pet bakterijskih sojeva pokazuju mutageni odgovor na odgovarajuće pozitivne kontrolne tvari. Negativne (otapalo) kontrole također su testirane sa svakim sojem. U jednom od pokusa D4 nije izazvao, a niti povećao učestalost strukturnih kromosomskih aberacija u CHO stanicama u prisutnosti i odsutnosti metaboličkog aktivacijskog sustava (ili metaboličke aktivacije sustava). U narednom istraživanju D4 nije izazvao povećanje SCE u CHO stanica u odsutnosti sustava metaboličke aktivacije. D4 je statistički značajno povećao učestalosti SCE u prisutnosti S9

metaboličke aktivacije. Ta povećanja se ne mogu razmatrati kao da su povezana s dozom jer se tako male veličine ne smatraju da su od biološke važnosti (SCCP, 2005).

Mutagenost/genotoksičnost (D4) *in vivo*

Povećanje učestalosti kromosomskih aberacija kod štakora oba spola nije statistički značajno ili povezano s izloženošću D4. Još jedno od istraživanja nije dalo nikakav dokaz da D4 potiče kromosomska oštećenja reproduktivnih tkiva štakora (SCCP, 2005).

I drugi literaturni izvori govore o provedenim testovima genotoksičnosti *in vivo* u kojima su test kromosomske aberacije i test dominantne smrtnosti bili negativni. Genotoksičnost *in vitro* se istražuje preko testova mutagenosti, kromosomske aberacije, zamjene sestrinskih kromatida i oštećenja DNA. Nije primijećena mutagenska aktivnost na bakterijama *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538, sa i bez aktivacije limfomskih stanica miša L5178Y, sa i bez aktivacije, fibroblastima štakora 2λlacI i kvascu soja *Saccharomyces cerevisiae*. D4 kromosomska aberacija bila je negativna na stanicama jajnika kineskih hrčaka (CHO), sa i bez aktivacije, stanicama limfoma miša, bez aktivacije, ali pozitivna na stanicama mišjeg limfoma, s aktivacijom, samo visokom dozom, bez doza-odgovora.

Izmjena sestrinskih kromatida bila je negativna na CHO stanicama sa i bez aktivacije i mišjim stanicama limfoma, sa i bez aktivacije.

DNA oštećenja su određivana uz korištenje 2 testa i dala su također negativne rezultate:

1. test alkalne elucije u stanicama limfoma miša, sa i bez aktivacije
2. test kapaciteta popravka DNK bakterije *Escherichia coli*, sa i bez aktivacije (Environment Health Canada, 2008).

Vrlo je malo informacija dostupno o **kancerogenosti siloksana** (Lassen i sur., 2005).

Jedno istraživanje kancerogenosti D4 pokazalo je da vrlo vjerojatno postoji prag u indukciji leukemije (MNCL) i izračunati je NOAEL za MNCL indukciju od 150 ppm (320 mg/kg tjelesne mase/dan (SCCP, 2005).

Reproduktivna toksičnost (D4)

Testovi za ispitivanje reproduktivne toksičnosti za siloksane prvenstveno su dostupni za D4 koji je klasificiran u EU kao toksičan za reprodukciju (Lassen i sur., 2005).

Prema nekim istraživanjima NOAEL za toksičnost vezanu za majčinstvo je 300 ppm za štakore i zečeve. D4 nije teratogen pri najvišim dozama testiranja, odnosno 700 ppm za štakore i 500 ppm za zečeve. Iz navedenih studija proizlazi i da se utjecaj D4 na plodnost javlja u vrijeme ovulacije, odnosno unutar 24 sata prije parenja. Nema dokaza da D4 izaziva razvojnu toksičnost kod štakora ili kunića ili negativan učinak na mušku plodnost štakora. Međutim, utvrđeni su utjecaji na plodnost ženki štakora. Sveukupno u toksikološkim studijama reprodukcije i uzimajući u obzir reprodukcije

parametre, smatra se da je NOAEL 300 ppm. Postoje dokazi da D4 utječe na reprodukciju time što izaziva kašnjenje ovulacije (SCCP, 2005).

Endokrini poremećaji

Vrlo je malo informacija koje bi se smatrale relevantnim za procjenu potencijala izazivanja endokrinih poremećaja. U testu na spolno nezrelim štakorima koji su primali oralne doze D4 i HMDSO tijekom 4 dana, HMDSO nije pokazivao mjerljiv učinak na masu maternice kada je testiran kao agonist. Kada je davan zajedno s etinilestradiolom, HMDSO je proizveo blago, ali statistički značajno smanjenje apsolutne mase maternice. Međutim, ne može se odrediti biološka važnost tog istraživanja (Lassen i sur., 2005).

Endokrini poremećaj u uvjetima *in vitro*

D4 pokazuje vezujući potencijal za humani estrogenski receptor α (ER α), ali ne i za estrogenski receptor β (ER β). Također, D4 gensko izvjestiteljskom testu humanog estrogenskog receptora ER α u humanim epitelnim stanicama linije MCF-7 je bio pozitivan. D4 nije pokazao afinitet vezanja na progesteronske receptore (PR S), ali je bio pozitivan u gensko izvjestiteljskom testu PR β (Environment Health Canada, 2008).

Imunotoksičnost

Provedene su studije na štakorima i ljudima s različitim pravcima primjene kako bi se ispitali potencijalni učinci D4 na imunološki sustav.

D4 ne uzrokuje imunološku supresiju kod muških ili ženskih Fischer 344 štakora.

Uzgoj mononuklearnih stanica periferne ljudske krvi i D4 sa ili bez seruma nije u vezi s proizvodnjom Faktora nekroze tumora alfa (TNF α).

Kod volontera izloženih D4 u dozi od 12 mg/dan u kukuruznom ulju tijekom 14 dana nije uočen imunotoksični ili proupalni učinak ingestije D4. Nije bilo ni imunološkog učinka kod respiratorne izloženosti D4 (SCCP, 2005).

2.1.4. Procjena doza – učinak (LOEL, NOEL, ADD) za oralno uzeti HMDSO i prekursore

Izrađena je procjena dnevnog unosa D4, konzumiranjem vode i hrane, za šest dobnih skupina kanadskog stanovništva. Procjena ukupnog unosa (iz pitke vode i hrane) u raspon je od 43,6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ tjelesne mase/dan, kod odrasle osobe u dobi od 60 godina i starije, do 132,53 $\mu\text{g}/\text{kg}$ tjelesne mase/dan za djecu u dobi od 6 mjeseci do 4 godine (Environment Health Canada 2008).

Tablica 4. Sažetak učinaka pojedinih siloksana na zdravlje (Lassen i sur., 2005; SCCP 2005; Environment Health Canada 2008)

Krajnja točka	Spoj	Razine učinka
Akutna toksičnost	HMDSO D4	LC50 tijekom 4 sata u štakorima = 15956 ppm (10067 ppm) oralno LD50 (štakor) = 1.540 mg/kg tj.m. dermalno LD50 (kunića) = 759 mg/kg tj.m. [pretvaraju iz 794 µL/kg] inhalacija LC50 36 000 mg/m ³ = 2975 ppm (36 mg/L odgovara otprilike 2,975 ppm)
Izloženost koja se odnosi na radnike u proizvodnji	D4 D5 D6	ADD ⁶ 0,71 mg/kg/dan ADD 0,23 mg/kg/dan ADD 0,09 mg/kg/dan
Subakutna toksičnost	D5	NOEL 10 ppm - histopatološki NOEL 75 ppm - sustavna toks. NOEL 160 ppm - imunosupresija Inhalacija 250 ppm
Kratkotrajna toksičnost pri ponovljenoj dozi	D4 D4 D4	LOEL - oralno 5 mg/kg tj.m./dan LOEC -inhalacija-cijelo tijelo 85 mg/m ³ = 7ppm NOEL - koža - 960 mg/kg tj.m./dan LOEC od 420 mg/m ³ (35 ppm) LOEC od 360 mg/m ³ (30 ppm) LOEC od 1800 mg/m ³ (150 ppm) NOEL 10 ppm NOAEL 150 ppm NOEL 50 ppm kod ženki, a manje od 50 ppm kod muških NOEL 35 ppm LOEL 35 ppm Inhalacija – 420 mg/m ³ Inhalacija NOAEL <226 ppm (2,8 mg/L zraka)
Subkronična toksičnost	HMDSO D4	NOEL 1,3 mg/L muški; 33,0 mg/L ženke NOEL-oral- 500 mg/kg tj.m./ dan LOEC ⁷ -inhalacija 360 mg/m ³ = 30 ppm LOEC- ostalo 420 mg/m ³
Kronična toksičnost	D4	Udisanje 8500 mg/m ³ (700 ppm) leukemija

⁶ ADD - Poremećaj pažnje kod djece koji nije dodatno praćen psihomotornim nemirom

⁷LOEC - Najniža zapažena koncentracija s učinkom

kancerogenost		LOEC-inhalacija: 1800 mg/m ³ = 150 ppm NOAEL-leukemija 150 ppm (320 mg/ kg tj.m./d
Razvojna toksičnost	D4	LOEC –embriofetalna toks. 500 mg / kg tj.m./dan 50 mg/kg tj.m./dan i više Inhalacija cijelog tijela 8500 mg/m ³ (700 ppm)
Reproduktivna toksičnost	D4	500 ppm, 700 ppm NOAEL 300 ppm Procijenjen ADI (žene u ind) Dermalno 0,158 mg/kg/dan ; inhalacija 0,145 mg/kg/dan MOE >100 ADI za djecu 0,002 mg/kg/dan
	D5	NOAEL 160 ppm
	HMDSO	5000 ppm; 500 ppm
	D4	LOEC inhalacija 3600 mg/m ³ (300 ppm)
	D4	NOAEL 100 mg/kg/dan (povećanje maternice)
Sustavna toksičnost	D4	LOEC inhalacija 3600 mg/m ³ (300 ppm)

2.2. Identifikacija

U ovom slučaju, budući da se radi o tehnološkom postupku PICVD proizvodnje PET ambalaže obložene sa unutrašnje strane amorfnim slojem SiO₂ identifikaciju je moguće podijeliti u tri koraka i to:

- identifikaciju PET ambalaže (boce) za neposredan dodir s hranom,
- identifikaciju unutrašnjeg amorfnog sloja SiO₂ maksimalne debljine do 100 nm, iz PICVD postupka, u PET boci,
- identifikaciju HMDSO-a i HMDSN te njihovih prekursora u sadržaju (mineralnoj vodi).

Identifikaciju PET-a moguće je provesti različitim analitičkim tehnikama, a najčešće je označena na dnu boce brojčanom oznakom (1) u trokutu ili oznakom vrste materijala (PET). Zahtjevi za neposredan dodir s hranom, koje mora zadovoljavati PET ambalaža, propisani su Pravilnikom o zdravstvenoj ispravnosti materijala i predmeta koji dolaze u neposredan dodir s hranom (Pravilnik 2009; Pravilnik, 2011a). S obzirom da se radi o vrlo tankom sloju, a koji se još k tome nalazi s unutrašnje strane boce, nemoguće je golim okom primijetiti razliku između obične i obložene PET boce. Jedan od mogućih načina identifikacije da li boca sadrži unutrašnji amorfnu sloj na bazi SiO_x je snimanjem kontaktne površine skenirajućim elektronskim mikroskopom (SEM). Kada je potvrđeno da se radi o ambalaži obloženoj sa SiO_x onda se u sadržaju mogu tražiti tragovi HMDSN, HMDSO te njihovi prekursori.

Kolokvijalno, naziv silikoni se često upotrebljava kao sinonim za siloksane (Lassen i sur., 2005). Kada se govori o siloksanima općenito oni obuhvaćaju velik broj različitih spojeva sa različitim molekulskim

masama od nekoliko stotina pa sve do nekoliko tisuća (Sánchez-Brunete i sur., 2010). Pojavljuju se kao bistre tekućine pri sobnoj temperaturi s različitim fizikalno-kemijskim svojstvima, podložni su hidrolizi, a izrazito su otporni prema kemijskim reakcijama kao što su oksidacija, redukcija i fotodegradacija (Kaj i sur., 2005). Na njihova fizikalno-kemijska svojstva utječe duljina Si-O veza, kemijske skupine koje su na njih vezane u glavnom lancu, te prisutnost mreža između lanaca. EFSA je potvrdila da HMDSN, s obzirom na svoju hlapljivost, uglavnom nije stabilan na vlažnom zraku ili u vodenom mediju (EFSA, 2007) te u početku degradira u trimetilsilanol (TMS), a nakon toga vrlo brzo u HMDSO (Cheng i sur., 2012). Rezultat nestabilnosti HMDSN moguće je iskoristiti kao indikator za nadzor postupka praćenjem povećanja koncentracije HMDSO (Cheng i sur., 2012). Za identifikaciju u hrani potrebno je vrlo dobro poznavati postupak tretiranja unutrašnje kontaktne strane materijala kao i mehanizam reakcija, te produkte koji mogu nastati i zaostati kao nečistoće u polimeru. Ukoliko se za oblaganje boce koristi PICVD postupak moguće je očekivati migracije u hranu i to HMDSN i HMDSO kao i ostalih prekursora s malom molekulskom masom. Najviše istraživani spojevi s obzirom na toksičnost i široki raspon primjene su D4 i D5 (Lassen i sur., 2005).

2.2.1. Analitičke tehnike

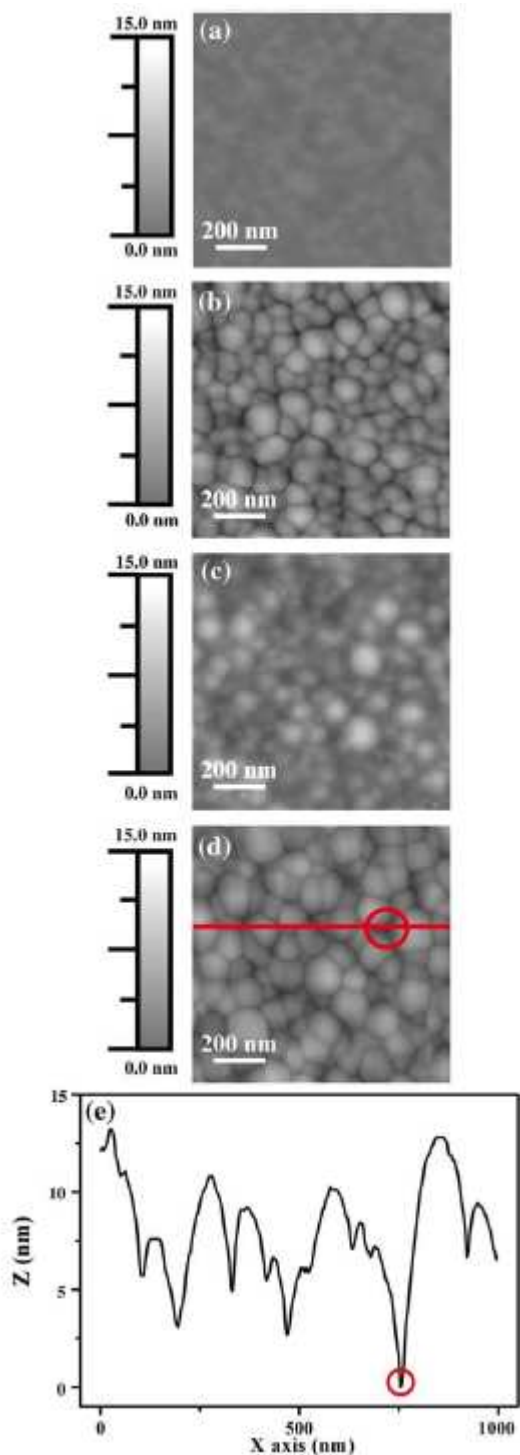
Analitičke tehnike moguće je razvrstati na isti način kao i identifikaciju. Najčešće korištene tehnike za određivanje nanokompozitnog sloja na polimeru su infracrvena spektroskopija (FTIR) ili skenirajući elektronski mikroskop (SEM), mikroskop atomskih sila (AFM), energodisperzivna analiza x zraka (EDAX) i ostale tehnike. Primjenjuju se najčešće za određivanje identifikacije i gustoće sloja, kristalne orijentacije, morfoloških karakteristika te topografije. FTIR u kombinaciji sa AFM su se pokazale kao izrazito dobre tehnike u karakterizaciji strukturnih osobina premaza pri čemu mogu pružiti direktne informacije vezane za prisutnost ili odsutnost specifičnih funkcionalnih grupa kako bi se potvrdio utjecaj depozicije na kemijsku strukturu i moguće nastale defekte u sloju kao što je prikazano na slici 4 (Kim i sur., 2010).

Kvantitativno određivanje siloksana u vodi, sedimentu i ribama, moguće je provesti tandemskom tehnikom induktivno spregnute plazme (ICP-OES) s tekućinskom kromatografijom visokog učinka (HPLC). U predmetima opće uporabe najčešće se koristi GC/MS, dok se u biološkim uzorcima primjenjuje tehnika plinske kromatografije s atomskim emisijskim detektorom (AED) ili GC/MS (Sánchez-Brunete i sur., 2010). Tehnika analize para iznad otopine mikroekstrakcijom na čvrstoj fazi plinskom kromatografijom s masenom spektrometrijom (HS-SPME/GC/MS) tek se od nedavno počela koristiti za kvantitativno određivanje cikličkih i linearnih metilsiloksana (Companioni-Damas i sur., 2012).

Za kvalitativno određivanje linearnih i cikličkih siloksana, navedenih u tablici 2, u stijenki PET boce od 0,5 L prema podacima dostavljenim od strane zahtjevatelja (KHS 2010; Fraunhofer, 2010) korištena je tehnika dinamičke analize para iznad otopine (*tzv. purge & trap*) - plinskom kromatografijom s

plameno-ionizacijskim detektorom i masenom spektrometrijom (PTA/GC/FID-MS). Izrezana je točna površina donjeg dijela stijenke boce od 0,38 dm² nakon čega je usitnjena u komadiće te analizirana PTA/GC/FID-MS tehnikom. Kvantifikacija ovih spojeva (tablica 2) provedena je masenom spektrometrijom s motrenjem odabranih iona (SIM) u metanolno/etanolnoj otopini. Za navedeni uzorak (PET boca) provedena je analiza tehnikom tekućinske kromatografije s masenom spektrometrijom LC/MS od strane EFSA (EFSA 2007) pri čemu je u samoj stijenki PET boce, debljine sloja od 43 nm, kvantitativno određen HMDSO u količini od 0,9 µg/dm² dok ostali konstituenti molekulske mase <1000 g/mol nisu primijećeni.

Companioni-Damas i suradnici (2012.) proveli su istraživanje linearnih i cikličkih metilsiloksana u riječnim vodama Katalonije HS-SPME/GC/MS tehnikom. Cilj istraživanja bio je uspostavljanje rutinske metode za kvantitativno određivanje cikličkih i linearnih metilsiloksana u vodenom mediju. Osim toga, rezultati istraživanja pokazali su da se primjenom vlakna aktivne faze od polidimetilsiloksana/divinilbenzena (PDMS/DVB) gustoće nanosa od 65 µm postiže najbolja mikroekstrakcija siloksana na čvrstoj fazi. Interferencije i kontaminacija koje mogu nastati kod određivanja ovih spojeva vrlo su često vezane za prisutnost siloksana u laboratorijskom zraku. Ovi spojevi nalaze se u sprejevima i ostalim kozmetičkim proizvodima te mogu uzrokovati kontaminaciju pod određenim uvjetima kada se primjenjuje nanoprotok u analizi (Schlosser i Volkmer-Engert 2003). Kod kvantitativnog određivanja HMDSO, HMDSN i prekursora dinamičkom ili statičkom analizom para iznad otopine sa GC/FID/MS u obloženoj PET boci sa SiO_x moguće poteškoće koje se mogu javiti leže u činjenici da se u proizvodnji većine predoblika iz kojih se dobivaju boce puhanjem koriste siloksani kao vanjski premaz ili kao klizno sredstvo. Za kvantitativno određivanje specifične migracije u hranu najčešće bi se uz tehniku tekućinske kromatografije/masene spektrometrije (LC/MS) trebala koristiti kombinacija svih gore navedenih tehnika.



Slika 4. AFM snimke SiOx premaza PET-a sa različitim barijernim svojstvima prema vodenoj pari, a) netretirani PET b) PET tretiran sa PICVD-HMDSO: 1.5 g/h, O₂: 20 sccm i Ar: 4 sccm, c) PET tretiran sa PICVD-HMDSO: 1.5 g/h, O₂: 20 sccm i Ar: 8 sccm, d) PET tretiran sa PICVD-HMDSO: 1.5 g/h, O₂: 28 sccm, i Ar: 4 sccm, i e) linijski profil snimke i mogući defekt u sloju (zaokruženo crveno) (Kim i sur., 2010)

2.2.2. Izražavanje rezultata

Kada se govori o materijalima i predmetima koji dolaze u neposredan dodir s hranom rezultati se općenito izražavaju u mg/dm² ili mg/kg hrane ili odgovarajuće modelne otopine hrane uzimajući u obzir konverzijski faktor 1kg = 6dm² (Pravilnik 2009; Pravilnik 2011a). Maksimalnu dopuštenu vrijednost specifične migracije HMDSO u hranu za PET bocu, koja je s unutrašnje strane obložena slojem SiOx maksimalne debljine od 100 nm, propisala je EFSA (EFSA 2007) i ona iznosi 0,05 mg/kg izražena na kilogram hrane ili odgovarajuće modelne otopine.

RASPRAVA

Prema EU zakonodavstvu (EC 2011) dozvoljena je uporaba PET boce, za hranu, obložene s unutrašnje strane SiOx premazom maksimalne debljine do 100 nm. Ograničenja za sintetski amorfn silicij-dioksid: osnovne veličine čestica od 1–100 nm, koje su vezane do veličine između 0,1 µm - 1 µm i koje mogu aglomerirati unutar veličina raspodjele od 0,33 µm pa sve do milimetarske veličine. U pogledu maksimalne debljine unutrašnjeg sloja i veličine čestica PET ambalaže Pravilnik (Pravilnik, 2009; Pravilnik 2011a; EC 2011) još nije u potpunosti usklađen sa EU legislativom. Isto tako Radna grupa za aditive u hrani, arome, pomoćna sredstva u proizvodnji i materijale u dodiru sa hranom (AFC, *Panel on Food Additives, Flavours, Processing Aids and Materials in Contact with Food*) Europske agencije za sigurnost hrane (EFSA 2007) je odobrila primjenu amornog SiOx i uporabu reaktivnih monomera HMDSO i HMDSN za postupak oblaganja unutrašnje strane PET boce pri čemu je propisano ograničenje u pogledu specifične migracije u hranu iskazano samo za HMDSO i ono iznosi 0,05 mg/kg. PICVD tehnologija KHS Plasmax od proizvođača KHS iz Njemačke notificirana je i odobrena od strane FDA (FDA 2003). Zahtjevatelj Nestle Adriatic d.o.o. iz Hrvatske koristio bi takvu vrstu PET ambalaže za pakiranje mineralne vode S.Pellegrino.

U svrhu optimizacije i bolje kontrole tehnološkog postupka proizvođač je zamijenio struju kisika sa strujom argona (slika 3.) u prvom koraku PICVD postupka kod stvaranja adhezivnog sloja HMDSN. Osnovno pitanje koje se nameće je da li je navedena promjena u skladu s općim odredbama o pravilima dobre proizvođačke prakse (GMP) (EC 2006) kao što se tvrdi u dostavljenoj dokumentaciji, odnosno da li je u skladu s odredbama članka 3. Uredbe 1935/2004/EZ (EC 2004) i članka 6. Pravilnika o zdravstvenoj ispravnosti materijala i predmeta koji dolaze u neposredan dodir s hranom NN 125/2009 (Pravilnik, 2009; Pravilnik, 2011a). Rezultati ispitivanja pokazali su da su količine nečistoća u PICVD postupku nešto više nego kada se koristi kisik (tablica 2., slika 3a). Uzimajući u obzir najgori mogući scenarij uz pretpostavku da je migracija primijećenih zaostalih nečistoća u stijenki boce potpuna niti jedna tvar nije prekoračila vrijednost koncentracije u hrani od 0,5 ppb.

ZAKLJUČCI

Tehnologija zaštite unutrašnjeg sloja plastičnih PET boca s SiOx premazima je novija tehnologija sa svrhom proizvodnje PET ambalaže tanjih stijenki, za koju se može pretpostaviti da zbog barijernih svojstava utječe na produženi rok trajanja proizvoda. S obzirom da je ova tehnologija skupa zbog toga što zahtjeva generiranje plazme u vakuumu i posebnu vrstu reaktora, jer se ne koristi toplinska energija, za njezinu isplativost morali bi se uzeti u obzir svi parametri, od ulaganja u tehnologiju do cijene gotovog proizvoda (ušteda energije i transportnih troškova gotovog proizvoda). PICVD tehnologija primjenjuje se u različitim vrstama industrije, ali i pored toga postoji vrlo ograničen broj literaturnih podataka i ispitivanja koji bi poslužili za procjenu rizika za ovo područje. Osnovna prednost ove tehnologije je u kemijskom taloženju pri niskim temperaturama po vrlo velikim površinama, mogućnost odvojenog kontroliranja postupka i fleksibilnost mikrostrukture. Nedostatak ove tehnologije je mogućnost zaostajanja reaktivnih monomera i njihovih prekursora te ostalih nečistoća u stijenci ambalažnog materijala (PET-a) zato što se proces odvija pri niskim temperaturama te njihove moguće interakcije kada su u neposrednom dodiru s hranom. Rezultat tretiranja PICVD-postupkom unutrašnje stijenske PET ambalaže je formiranje barijernog SiOx sloja s kontaktne strane što bi trebalo osigurati poboljšanu nepropusnost, a što se i očekuje od takve ambalaže budući da je namijenjena za neposredan dodir s gaziranom mineralnom vodom. Ocjena SiOx premaza koji se koriste samo je djelomično evaluirana od EFSA-e i to za primjenu amorfnog SiOx i uporabu reaktivnih monomera HMDSO i HMDSN za postupak oblaganja unutrašnje, kontaktne strane PET boce pri čemu je propisano ograničenje u pogledu specifične migracije u hranu samo za HMDSO i ono iznosi 0,05 mg/kg. Za HMDSN nije razmatrana specifična migracija, a EFSA se očitovala o HMDSN-u i smatra da on u postupku degradira u HMDSO što se može koristiti kao indikator kontrole PICVD procesa. Također, tehnološki postupak nanošenja SiOx sloja uporabom reaktivnih monomera HMDSO i HMDSN, razmatran od EFSE, obuhvaća postupak u struji kisika dok se u dostavljenoj dokumentaciji od trgovačkog društva Nestle Adriatic d.o.o. iz Hrvatske za pakiranje mineralne vode S. Pellegrino navodi drugi postupak. Taj postupak je primijenjen navodno u svrhu optimizacije i bolje kontrole tehnološkog postupka proizvođača sa strujom argona, u prvom koraku PICVD postupka kod stvaranja adhezivnog sloja HMDSN, ali prema tvrdnjama Zahtjevatelja unutar okvira dobre proizvođačke prakse pri čemu tvrdi da nije došlo do značajnijih promjena u sastavu barijernog, kontaktnog sloja PET ambalaže.

Za navedenu tehnologiju oblaganja PET boce za pakiranje mineralne vode s unutrašnje kontaktne strane sa SiOx postoji nedovoljan broj literaturnih podataka kao i primjenskih ispitivanja pa prema tome Radna skupina smatra:

- da je primjena PICVD postupka na PET ambalažu mogući napredak u produženju roka trajanja i utjecaja vanjskih faktora rizika na sadržaj pakiran u PET ambalažu u ovom slučaju mineralnu vodu,

- Rezultati ispitivanja koje je dostavio Zahtjevatelj jasno pokazuju da je promjenom struje kisika sa argonom u prvom koraku (postupak B slika 3b., i tablica 3) došlo do povišenja zaostalih nečistoća na stijenci PET boce u odnosu na konvencionalni postupak sa kisikom,
- Osim mišljenja EFSE, vezanog za primjenu PICVD postupka za oblaganje unutrašnje strane PET-a u struji kisika, ne postoji drugo zakonodavno riješeno pitanje ni u EU kao ni u RH,
- Zahtjevatelj nije dostavio rezultate primjenskih ispitivanja odnosno rezultate specifičnih migracija zaostalih nečistoća u mineralnoj vodi S. Pellegrino, a u dostupnoj literaturi nigdje nije navedeno da su provedena takva ispitivanja,
- Dostavljena dokumentacija vezana za rezultate ispitivanja odnosi se isključivo na količinu zaostalih nečistoća u materijalu (PET boci) te na njihov teoretski izračun kada je migracija u hranu potpuna,
- Gotov proizvod mora odgovarati odredbama Članku 16. Pravilnika o prirodnim, mineralnim i prirodnim izvorskim vodama (Pravilnik 2011b) koji propisuje da ambalaža mora biti obrađena ili izrađena na način da se izbjegnu negativni učinci na mikrobiološka i kemijska svojstva prirodne mineralne i prirodne izvorske vode,
- Navedeni postupak ne smije predstavljati opasnost za ljudsko zdravlje,
- Od zahtjevatelja se traže dokazi i mišljenje EFSE koji nedostaju, kao i dopuštenje za stavljanje na tržište iste ambalaže u domicilnoj zemlji proizvođača ili u drugim zemljama EU gdje se takav proizvod s istom tehnologijom stavlja na tržište,
- Upravo zbog svega navedenog Radna skupina ne može komentirati i dati odgovor na pitanje da li je navedena promjena PICVD postupka unutar okvira dobre proizvođačke prakse kako to tvrdi Zahtjevatelj

DOKUMENTACIJA DOSTAVLJENA HAH-U

1. Certificate of Compliance Coating. GmbH. Hamburg, KHS Plasmax GmbH

LITERATURA

1. Brooks, D. W. (2002) Barrier materials and technology. PET Packaging Technology. D. W. Brooks and G. A. Giles. Sheffield, Blackwell Publishing: str. 98-115.
2. Cassidy L.S., Dotti A., Kolesar G.B., Dochterman L.W., Meeks R.G., Chevalier H.J. (2001) Hexamethyldisiloxane: A 13-week subchronic whole-body vapor inhalation toxicity study in Fischer 344 rats. *Int J Toxicol* 20:391–399.
3. Cheng Y.-K., Lin C.-H., Kuo S., Yang Y., Hsiung S.-Y., Wang J.L. (2012) "Applications of Hadamard transform-gas chromatography/mass spectrometry for the detection of hexamethyldisiloxane in a wafer cleanroom." *Journal of Chromatography A* 1220: 143-146.
4. Clagett D. C. (1986). Engineering Plastics Encyclopedia of Polymer Science and Engineering. H. F. Mark and J. I. Kroschwitz. New York Wiley. str. 94.
5. Companioni-Damas E. Y., Santos F.J., Galceran, M. T. (2012) "Analysis of linear and cyclic methylsiloxanes in water by headspace-solid phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry." *Talanta* 89(0): 63-69.
6. EC (1998) Council Directive 98/83 of 3 November 1998 on the quality of water intended for human consumption.
7. EC (2004). Regulation No 1935/2004 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.
8. EC (2006) Commission Regulation (EU) No 2023/2006 of 22 December 2006 on good manufacturing practice for materials and articles intended to come into contact with food.
9. EC (2011) Commission Regulation (EU) No 10/2011 of 14 January 2011 on plastic materials and articles intended to come into contact with food.
10. EFSA (2007) Opinion of the Scientific Panel on food additives, flavourings, processing aids and materials in contact with food (AFC) on a request related to a 14th list of substances for food contact materials Question N° EFSA-Q-2006-1, EFSA-Q-2006-178, EFSA-Q-2006-116 Adopted on 6 and 7 February 2007.
11. Environment Health Canada (2008) Screening Assessment for the Challenge Octamethylcyclotetrasiloxane (D4) Chemical Abstracts Service Registry Number 556-67-2
12. FDA (2003) U.S. Food and Drug Administration (2003) Inventory of Effective Food Contact Substance (FCS) Notifications FCN No. 329.

13. Fraunhofer (2010) Screening on migratable substances from a SiO_x coating on PET bottles - Test Report PA/4550/09. Freising.
14. Göltner, W. (2003). Relationship Between Polyester Quality and Processability: Hands-on Experience. Modern polyesters: Chemistry and Technology of Polyesters and Copolyesters. Chichester, John Wiley & Sons Ltd: str.478-490.
15. Grüniger, A., Rudolf von Rohr P.(2003). "Deposition of SiO₂-like diffusion barriers on PET and paper by PECVD." Surface and Coatings Technology 174–175(0): 1043-1047.
16. Howells, D. GHenry B. M., Madocks, J., Assender, H. E. (2008) "High quality plasma enhanced chemical vapour deposited silicon oxide gas barrier coatings on polyester films." Thin Solid Films 516(10): 3081-3088.
17. ILSI (2000) Report on Packaging Materials: 1. Polyethylene Terephthalate (PET) for Food Packaging Applications. Brussels.
18. Janović Z. (2005) Proliza ugljikovodika i proizvodi etilena. Naftni i petrokemijski procesi i proizvodi. Zagreb, Hrvatsko društvo za goriva i maziva: str.291.
19. Kaj, L., M. Schlabach, et al. (2005). Siloxanes in the Nordic Environment. N. C. o. Ministers. Copenhagen, TemaNord.
20. Keller and Heckman LLP (2010) FDA Status of Silicon Dioxide under FCN No. 329; File No. KH14343.01.
21. KHS (2010) Certificate of Compliance Coating. K. P. GmbH. Hamburg, KHS Plasmax GmbH.
22. Kim S.-R., Choudhury M. H., Kim, W.-H., Kim, G.-H. (2010) "Effects of argon and oxygen flow rate on water vapor barrier properties of silicon oxide coatings deposited on polyethylene terephthalate by plasma enhanced chemical vapor deposition." Thin Solid Films **518**(8): 1929-1934.
23. Lassen C., Hansen C. L., Hagen Mikkelsen S., Maag J. (2005) Siloxanes-Consumption, Toxicity and Alternatives, The Danish Environmental Protection Agency Project No. 1031 2005.
24. Leterrier Y., Manson J. A. E., Wyser Y. (2001) "Internal stresses and adhesion of thin silicon oxide coatings on poly(ethylene terephthalate)." Journal of Adhesion Science and Technology 15(7): 841-865.
25. Macan J. (2011) Definicije pojmova vezanih uz strukturu i pripremu solova, gelova, mreža te anorgansko-organskih hibridnih materijala (Preporuke IUPAC 2007, HDKI i HKD 2011), *Kem. Ind.* 60 (3) 135–153.
26. Orzinski M. (2007) Untersuchung der Permeation von anorganischen Gasen und organischen Verbindungen durch barriereverbesserte Kunststoffflaschen und ihre messtechnische Erfassung. Berlin, Technischen Universität Berlin. Doktorski rad: str.19.
27. Palzer G. (2001) Establishment of a standard test procedure for PET bottle materials with respect to chemical inertness behaviour including the preparation of a certified PET reference

- material. Department für Lebensmittel und Ernährung Fachgebiet Haushalts- und Betriebshygiene. München, Technischen Universität München. Doktorski rad: str.35
28. Pfuch A., Heft A., Weidl, R., Lang, K. (2006) "Characterization of SiO₂ thin films prepared by plasma-activated chemical vapour deposition." *Surface and Coatings Technology* 201(1–2): 189-196.
 29. Plog S., Schneider J., Walker M., Schulz A., Stroth U. (2011) "Investigations of plasma polymerized SiO_x barrier films for polymer food packaging." *Surface and Coatings Technology* 205, Supplement 2(0): S165-S170.
 30. Pravilnik (2009) o zdravstvenoj ispravnosti materijala i predmeta koji dolaze u neposredan dodir s hranom br.125/2009. Zagreb Narodne Novine.
 31. Pravilnik (2011a) o izmjeni i dopuni pravilnika o zdravstvenoj ispravnosti materijala i predmeta koji dolaze u neposredan dodir s hranom. br.31/2011, Narodne Novine.
 32. Pravilnik (2011b) Pravilnik o prirodnim mineralnim i prirodnim izvorskim vodama (br.095/2011).
 33. Radović, S., Milanović Z. (2004) "Razvoj odvojenoga sakupljanja i recikliranja ambalažnoga otpada od PET-a u Republici Hrvatskoj." *Polimeri:Časopis za plastiku i gumu* 25(1-2): 23-28.
 34. Rieckmann T., Völker S. (2003) Poly(ethylene Terephthalate): Polymerization – Mechanism, Catalysis, Kinetics, Mass Transfer and Reactor Design. *Modern polyesters:Chemistry and Technology of Polyesters and Copolyesters*. Chichester, John Wiley & Sons Ltd: str.86-104.
 35. Salge J. (1996) "Plasma-assisted deposition at atmospheric pressure." *Surface and Coatings Technology* 80(1–2): 1-7.
 36. Sánchez-Brunete C., Miguel E., Albero B., Tadeo J-L. (2010) "Determination of cyclic and linear siloxanes in soil samples by ultrasonic-assisted extraction and gas chromatography–mass spectrometry." *Journal of Chromatography A* 1217(45): 7024-7030.
 37. Schlosser A., Volkmer-Engert R. (2003) "Volatile polydimethylcyclsiloxanes in the ambient laboratory air identified as source of extreme background signals in nanoelectrospray mass spectrometry." *Journal of Mass Spectrometry* 38(5): 523-525.
 38. SCCP (2005) Scientific Committee on Consumer products: Opinion on Octamethylcyclotetrasiloxane (D4) Adopted by the SCCP during the 6th plenary meeting of 13 December 2005.
 39. Screening Assessment for the Challenge Octamethylcyclotetrasiloxane (D4) Chemical Abstracts Service Registry Number 556-67-2 Environment Health Canada, November 2008
 40. Šercer M., Opsenica D., Barić G. (2000) *Plastika i guma. Oporaba plastike i gume*. Zagreb Mtg topograf: str. 42.
 41. Varaprath S., McMahon J.M., Plotzke K.P. (2003) Metabolites of heksamethylidisiloxane and decamethylcyclopentasiloxane in Fisher 344 rat urine – a comparison of linear and a cyclic siloxane. *Drug Metabolism and Disposition* 31:206-214.

42. Vujković I., Galić K., Vereš, M., Plestenjak A. (2007) Ambalaža za pakiranje namirnica. Zagreb, Tectus.str. 209-212
43. Walther M., Heming M., Spallek M. (1996) "Multilayer barrier coating system produced by plasma-impulse chemical vapor deposition (PICVD)." *Surface and Coatings Technology* **80**(1–2): 200-202.
44. Yun Y., Yoshida T., Shimazu N., Nanba N., Inoue Y., Saito N., Takai O. (2008) "Influence of Ar gas flow rate in organosilicon plasma for the fabrication of SiO:CH thin films by PECVD method." *Surface and Coatings Technology* 202(22–23): 5259-5261.
45. Zanini S., Riccardi C., Orlandi M., Esena P., Tontini M., Milani M., Cassio V. (2005) "Surface properties of HMDSO plasma treated polyethylene terephthalate." *Surface and Coatings Technology* 200(1–4): 953-957.