بررسی حضور استرهای فتالات در نوشابه های کربناته بطری شده در بطری‌های پلی‌اتیلن ترفتالات (PET)

مجتبی موذن[1]، نوشین راستکاری[2]، محمود علی محمدی[1]، نبی شریعتی فر[1]، رضا احمدخانیها[3]، شاهرخ نظم آرا[1]،
آرش اکبرزاده[4]، علی آذری[1]، رامین نبی‌زاده[1] و غلامرضا جاهدخانیکی[1*]

۱. گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۲. مرکز تحقیقات هوا، پژوهشکده محیط‌زیست، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۳. گروه اکولوژی انسانی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
٤. گروه آمار زیستی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۳/۲/۱۰ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۵/۲۸

چکیده

زمینه و هدف: استرهای فتالات معمولاً به عنوان پلاستی‌سایزر در ساخت ترکیبات پلیمری استفاده می‌شوند. این مواد از راه‌های مختلفی می‌توانند وارد بدن انسان شوند که در این میان، مقدار قابل توجهی از طریق بسته‌بندی مواد غذایی می‌باشد. برخورد مزمن با این مواد، در بروز انواع سرطان از جمله سرطان پستان در بانوان و سرطان پروستات در آقایان و نیز سایر بیماری‌ها نقش دارند. هدف از این مطالعه، بررسی حضور استرهای فتالات در نوشابه های کربناته می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه، ابتدا یک ترکیب مغناطیسی در اندازه نانو با ترکیب نانوتیوب و اکسید آهن ایجاد گردید. نشاندن آهن روی جاذب مذکور، منجر به افزایش میزان جذب و واجذب توسط آهن ربا و جداسازی آسان شد. در مرحله بعد، به کمک این جاذب، استرهای فتالات را از ماتریکس نوشابه استخراج و توسط دستگاه GC-MS میزان هرکدام از آنها اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: در بین ترکیبات مطالعه شده، ترکیب BEP یا DEHP که خطر سرطان‌زایی آن نیز محرز شده است، بیشترین میزان را در نوشابه‌ها دارا بود که بالاترین مقدار میانگین غلظت آن، مربوط به برند A و طعم C بود. میزان این ترکیب، در تمامی نمونه‌ها به‌جز یک مورد، از استانداردهای بین‌المللی پایین‌تر بوده است.

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج حاصل می‌توان اظهار نمود به دلیل پایین بودن میانگین کل استرهای فتالات در نوشابه، خطر جدی از بابت مصرف این محصولات برای انسان وجود ندارد. نکته دیگر، اینکه این جاذب توانایی لازم جهت کاربرد اندازه‌گیری استرهای فتالات را داراست.

کلمات کلیدی: استرهای فتالات، نوشابه، کربن نانوتیوبهای مغناطیسی.

* گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
ایمیل: ghjahed@sina.tums.ac - **شماره تماس:** ۰۲۱-۸۸۹۵٤۹۱۱

[DOI: 10.18869/acadpub.jehe.2.1.7]

مقدمه

هر ساله مقدار زیـادی از انـواع فتـالات در سرتاسـر جهـان برای کارخانه‌ها به منظور گوناگون تولید می‌شـود. بـه‌کـارگیری اســـترهای فتـــالات (PAEs) Poly(arylene ethynylene)s، استفاده‌های گوناگونی مانند بهبـود انعطـاف پـذیری، کـارایی و پایداری بیشتر مواد پلیمری دارد. آنهـا همچنـین مـی تواننـد در محصولاتی مانند رنگ‌ها، چسب‌ها، جوهرهـا و لـوازم آرایشـی نیز حضور داشته‌باشند[1]. اسـتفاده ایـن مـواد در صـنایع غـذایی، معمولاً در ظروف پلاستیکی، فـیلم‌هـا، لولـه‌هـا، آسـترها یـا در درزگیری درب‌های بطری‌ها یا در آسترهای تانک‌های ذخیره یا مواد سازنده تسمه‌های منتقل‌کننده است[2]. استرهای فتـالات کـه شامل دی متیل فتالات، دی اتیل فتالات، دی ان بوتیـل فتـالات، بوتیل بنزیل فتالات، دی اتیـل هگزیـل فتـالات و دی ان اکتیـل فتالات ها هستند، از راههای مختلفـی ماننـد پوسـت، تـنفس و گوارش می‌توانند وارد بدن انسان شده که در این میان، بیشترین میزان مواجهه از طریق بسته‌بندی مواد غذایی صورت می‌گیرد[۳و ٤]. با گسترش روزافـزون دانـش بشـری و پیشـرفت در صـنعت پلاســـتیک‌ســـازی، امــــروزه پوشــــش Polyethylene terephthalate (PET) (پلیمر پلی‌اتیلن ترفتالیـک اسـید) بـه دلیل ویژگی‌های منحصر به فردی که در زمینه عدم نفوذ گازهـا و سایر عوامل محیطی بـه داخـل بسـته بنـدی دارنـد بـه طـور گسترده جهت بسته‌بندی مواد غذایی مختلف بـه خصـوص آب و سایر نوشیدنی‌ها مورد استفاده قـرار مـی‌گیـرد[5]. بطـری‌هـای PET، از پلیمریزاســیون منومرهــای اســید ترفتالیــک و اتــیلن گلیکول با کاتالیست های آنتیموان-تیتانیوم یـا ژرمـانیوم تولیـد می‌شوند و در ترکیـب خـود دارای کبالـت نیـز مـی‌باشـند[6]. در ظروف PET، ترکیباتی که دارای پتانسـیل مهـاجرت بـه داخـل ماده غذایی می‌باشند شامل ترکیبات اولیه (منومر ترفتالیک اسید، دی‌متیل‌ترفتالات و اتیلن‌گلیکول)، محصولات جانبی واکـنش و محصولات تخریبی پلیمری (استالدئید) و اولیگومرهایی با وزن مولکولی کـم (حلقـوی و از دی‌مـر تـا پنتـامر) هسـتند. نتـایج تحقیقات نشان می‌دهد که ٨١٪ میزان مهاجرت از PET مربـوط به تریمرهـای حلقـوی ترفتـالات و سـایر اولیگومرهـا بـا وزن مولکولی کم و خطی می‌باشد[7]. زمانی که فتالات هـا بـه عنـوان پلاستی سایزر استفاده می‌شوند، آنهـا بـا سـاختار پلیمـر، پیونـد برگشت ناپذیر تشکیل نمـی‌دهنـد زیـرا پیونـد میـان اسـترهای فتالات با زنجیره پلیمر از نوع شیمیایی (کووالانسـی) نیسـت و تنها به طور فیزیکی و برگشت‌پـذیر، بـا سـاختار پلیمـر ارتبـاط برقـرار مـی‌کننـد. بنـابراین ممکـن اسـت کـه تحـت شـرایط و استرس‌های فیزیکی، از ساختار پلیمـر جـدا شـده و بـه داخـل محتویات بسته‌بندی مهاجرت یافتـه و باعـث ایجـاد مخـاطراتی برای سلامت انسان و محیط زیست شـوند[8]. اسـترهای فتـالات همان طور که گفته شد، جزء دسته مختل کننده غدد درون ریـز می‌باشند. بنابراین برخورد مـزمن بـا ایـن مـواد در بـروز انـواع سرطان از جمله سرطان پستان در بانوان و سرطان پروستات در آقایان[9]، اختلال در سنتز و فعالیت هورمون‌هـای داخلـی (آنتـی آندروژنیک) اثر روی عملکرد غـده‌ی تیروئیـد[10]، عقـیم شـدن، فعالیــت تراتوژنیــک و موتاژنیــک[11]، بــروز هــایپراکتیویتی در کودکان[12]، چاقی، آسیب به کبد، ازدیـاد پروکسـی زوم ، آلـرژی زایی و غیره نقش دارند[12]. آژانـس حفاظـت از محـیط زیسـت آمریکـا US Environmental Protection Agenc(EPA) ، مــاکزیمم حــد مجــاز Diethylhexyl phthalate or Bis(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) را در آبهای آشامیدنی ٦ ppb و نیز در انگلستان میـزان Tolerable daily intake (TDI) بـرای DEHP و Dibutyl phthalate (DBP) مقـدار ٠/٠٥ mg/kg در روز، بـه میـزان وزن بـدن و بـرای Benzyl butyl phthalate

[DOI: 10.18869/acadpub.jehe.2.1.7]

(BBP) مقـــــدار ۰/۱ mg/kg وزن بـــــدن در روز و بـــــرای Diethyl phthalate (DEP) مقـدار ۰/۲ mg/kg وزن بـدن در روز تعیین‌نموده‌اند[۲]. مواد اولیه (PET) از کارخانجات متفـاوت با کیفیت‌های مختلف و در برخی مواقع از مـواد بازیـافتی تهیـه می‌گردد که این مسئله، لزوم بررسی مهاجرت استرهای فتـالات را از ساختار بطری‌های PET دو چندان کـرده اسـت. از جملـه مواد غذایی که درون بطری‌هـای PET بسـته‌بنـدی مـی‌شـوند، نوشیدنی‌هـای کربناتـه اسـت کـه از جملـه ایـن نوشـیدنی‌هـا، نوشابه‌های گازدار است که با طعم‌هـا، انـدازه‌هـا و مـارک‌هـای مختلف تولید و یا وارد مـی‌شـوند و در نهایـت مـورد اسـتفاده قرارمی‌گیرند. این نوشابه‌ها، به دلیل اسیدی بودن، احتمالاً میزان بیشتری از انواع فتالات را درون خود حل می‌کنند. مواد سازنده نوشابه‌های گازدار شامل: آب، شیرین‌کننده، گازکربنیـک، انـواع اسید (مانند فسفریک، سیتریک و غیره)، طعم‌دهنده ماننـد انـواع اسانس‌ها، رنگ، نگه دارنده مانند اسید بنزوئیـک مـی‌باشـد کـه تفاوت انواع نوشابه‌ها، در میزان این ترکیبات اسـت و از جملـه تفاوت اساسی در اضافه کردن رنگ، طعـم‌دهنـده و اسـید مـی باشد، به طوری که در نوشابه‌های نوع کولا از اسید فسـفریک و عصاره و رنگ کولا، در نوشابه‌های پرتقالی از اسید سـیتریک و عصاره و رنگ پرتغالی و در نهایت، در نوشابه‌هـای لیمـویی یـا بی‌رنگ از اسید سیتریک و عصاره‌ی لیمویی استفاده می‌شود. از آنجایی‌که مصرف این نوشیدنی‌ها در ایـران بـالا مـی‌باشـد، بـه طوری که بر اساس گزارش بنیاد کـارآفرینی فـروتن کـه میـزان مصرف مواد غذایی مختلف در ایران و جهان را بررسـی کـرده است، میزان مصرف انواع مختلف نوشابه در ایران در حـدود ۳ تا ٤ برابر جهان مـی‌باشـد و حـدس زده مـی‌شـود بعـد از آب نوشیدنی شهری، این ماده بیشترین مصـرف را در بـین ایرانیـان داشته باشد. تـاکنون جـاذب‌هـایی ماننـد کـربن فعـال گرانولـه، کیتوزان، کربن فعال و غیـره بـه منظـور جـذب و انـدازه‌گیـری آلاینده‌های مذکور مورد استفاده قرار گرفته‌اند[۱۳-۱۵]، ولی به دلیل رانـدمان جـذب و واجـذب پـایین، جداسـازی مشـکل، زمـان طولانی جذب و هزینه هـای بـالا، اسـتفاده از جـاذب‌هـایی بـا فرآیند جداسازی راحت‌تر و قـدرت کاتـالیزوری بـالاتر، امـری ضروری محسوب می‌شود[۱٦و ۱۷]. در این مطالعـه، از نـانو ذرات اکسید آهن (Fe_3O_4) بـرای مغناطیسـی کـردن کـربن نـانوتیوب استفاده شـد. نـانو ذرات اکسـید آهـن بـه کـار رفتـه در کـربن نانوتیوب، علاوه بر القای خاصـیت مغناطیسـی بـه جـاذب، بـا ایجاد پیوند شیمیایی شکننده‌ای سبب افزایش راندمان جـذب و واجذب این آلاینده می‌شود[۱۸]. انتظار مـی‌رود کـربن نـانوتیوب چند جداره بهینه شـده بـا نـانو ذرات اکسید آهـن، سـرعت و توانایی بالایی در جذب و اندازه گیری استرهای فتالات از خود نشان دهد. با این توصیف، از آنجایی‌که تاکنون مطالعه جـامع و درخور توجه ای برای اندازه‌گیری این ماده سمی در نوشابه‌های مختلف در ایران صورت نگرفته است و از طرفی به دلیل مضـر و خطرناک بودن آن برای انسان، در این مطالعه سعی خواهدشد انواع مختلف نوشابه‌های رایج در ایران با طعـم‌هـا و برنـدهای گوناگون با استفاده از جاذب مذکور بررسی شود و میزان انـواع گوناگون فتالات در آنها مورد سنجش قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

مـواد بـه کـار بـرده شـده در ایـن مطالعـه عبـارت‌انـد از: استانداردهای ٦ نـوع از اسـترهای فتـالات (DMP Dimethyl phthalate, DEP, (DBP) BBP, DEHP, Di-n-octyl phthalate (DnOP))، کلرید آهـن (III) ٦ آبـه ($FeCl_3.6H_2O$)، کربن نانوتیوب چند جـداره (MWCNT)، سـدیم برموهیدریـد ($NaBH_4$)، اتانول (C_2H_5OH)، اسیدکلریدریک (HCl) و سدیم هیدروکسید (NaOH)، سدیم کلراید، بنزوئیل بنـزوات، هگـزان. کلیـــه مـــواد مـــورد اســـتفاده در ایـــن مطالعـــه از شـــرکت Sigma Aldrich و Merck با درجه خلوص آنالیتیکال تهیه شد. بـــرای تعیـــین غلظـــت‌هـــای اســـترهای فتـــالات، از GC-MS استفاده‌شد.

بـرای سـنتز کـربن نـانوتیوب چنـد جـداره–اکسـید آهـن

[DOI: 10.18869/acadpub.jehe.2.1.7]

(MWCNT-Fe_3O_4) مورد استفاده، به روش هم ترسیبی مطابق مطالعه زارع جدی و همکاران در سال ۲۰۱٤ و موذن و همکاران در سال ۲۰۱۳ آماده سازی شد[۲۶و۷] . Scaning Electron Microscopy (SEM) مدل Hitachi:S ٤۱٦۰ به منظور بررسی مرفولوژی سطحی جاذب مورد استفاده قرار گرفت. اندازه و شکل جاذب سنتز شده توسط آنالیز Transmission Electron Microscopy (TEM) مدل 208 PHILIPS, TEM تعیین شد.

در بخش آماده‌سازی استانداردها و رسم منحنی کالیبراسیون، اولین قدم برای اندازه‌گیری طراحی روشی مناسب و دقیق برای آنالیز نمونه ها می‌باشد. در این تحقیق، از دستگاه GC-MS به عنوان وسیله آنالیز استفاده شد. در روش‌های دستگاهی، به علت تغییرات احتمالی در شرایط آزمایش مانند تغییر در کارایی ستون، خطا در حجم تزریق، متغیر بودن یا کامل نبودن فرآیند استخراج و غیره ممکن است تعیین مقدار همراه با خطا باشد. بنابراین از استاندارد داخلی استفاده می‌گردد که این خطاها برطرف شود. بدین منظور مقدار مشخصی از استاندارد داخلی به نمونه یا محلول استاندارد افزوده و تمام مراحل نمونه‌سازی روی آن انجام می‌شود. از محلول‌های استاندارد هر یک از استرهای فتالات، غلظت ppm ۵ برای رسم منحنی کالیبراسیون آماده سازی شد. با استفاده از محلول‌های استوک تهیه شده از محلول‌های استاندارد استرهای فتالات، منحنی کالیبراسیون در غلظت‌های مختلف (۰/۰۱، ۰/۱، ۰/۵ و ۱۰ نانوگرم در لیتر) از هر ٦ ترکیب (DMP,DEP,DBP,BBP,DEHP, DOP) رسم شد (جدول شماره ۱). محلولی از بنزیل بنزوات با غلظت ۳ نانوگرم در میکرو لیتر، به عنوان استاندارد داخلی، تهیه گردید و بعد از انجام مراحل استخراج، به دستگاه GC-MS تزریق شدند. تمامی مراحل ۳ مرتبه برای هر غلظت تکرار شد.

جدول ۱: غلظت های محلول استاندارد

ردیف	حجم برداشتی (mL)	غلظت بدست آمده (ng/L)
۱	۱۰۰	۱۰
۲	۲۵	۰/۵
۳	۵	۰/۱
٤	۰/۵	۰/۰۱

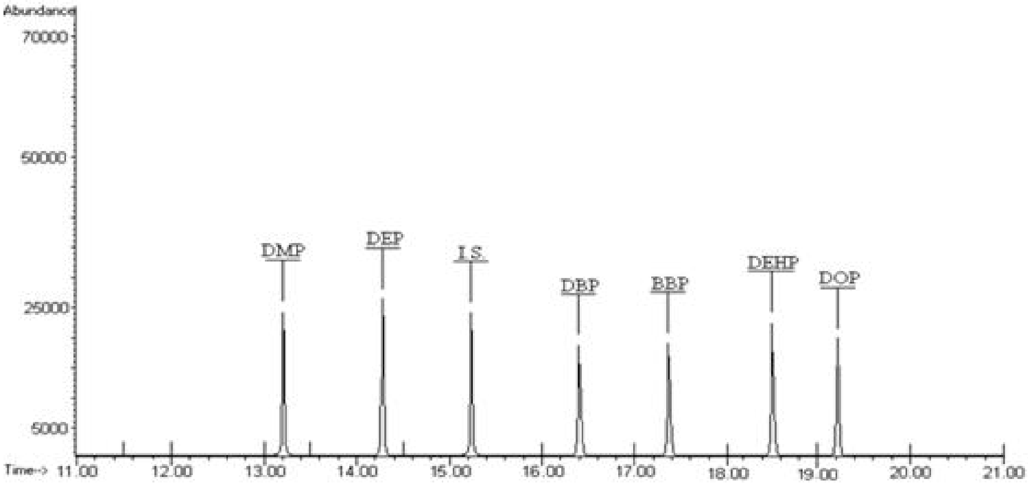
تعیین مقدار بر اساس سطح پیک نمونه به سطح پیک استاندارد داخلی محاسبه گشت. منحنی کالیبراسیون، با تزریق محلول‌هایی با غلظت‌های متفاوت از استوک های ساخته شده که حاوی مقدار مشخصی استاندارد داخلی هستند، به دست آمد. از ویژگی مهم انتخاب استانداردهای داخلی، تشابه ساختمانی نزدیک آن با نمونه مورد بررسی (خانواده فتالاتها) می باشد. ترکیب بنزیل بنزوات به دلیل خواص مناسب و زمان بازداری مناسب، به عنوان استاندارد داخلی انتخاب گردید. بعد از انجام تزریقات متعدد به دستگاه GC-MS و با توجه به نتایج به دست‌آمده، بهترین برنامه دمایی و نحوه استخراج آنالیت ها از ماتریکس آب به دست آمد. یون‌ها و برنامه زمان بندی پایش آنالیت های انتخابی، در جدول شماره ۲ ذکر شده است. یک نمونه کروماتوگرام خروجی از دستگاه GC-MS، از استرهای فتالات نیز در شکل شماره ۱ نشان داده شده است.

از میان برندهای تجاری موجود در بازار، بر اساس میزان استفاده و فراوانی در بازار، ۳ برند پرمصرف که به طور مداوم در تمام فصول سال نیز موجود هستند، انتخاب شدند. با توجه به انتخاب ۳ برند و وجود ۳ طعم (کولا، پرتغالی و لیمویی)، در مجموع ۹ نمونه انتخاب می‌شود. نمونه های مورد نیاز جهت کالیبراسیون، ۱۵ نمونه تعیین شد. تجزیه و تحلیل نتایج، با استفاده از نرم افزار آماری SPSS ویرایش ۲۰ و انجام آزمون‌های ناپارامتری، به دلیل عدم توزیع نرمال توسط آزمون‌های فریدمن و کروسکال–والیس انجام گرفت.

[DOI: 10.18869/acadpub.jehe.2.1.7]

جدول ۲: یون‌های انتخابی جهت پایش

یون انتخاب شده (m.z)	آنالایت	گروه یونها
٧٦ و ١٥٣	DMP	١
٧٩ و ١٧٩	DEP	٢
٢٢٥ و ٢١٥	DBP	٣
٩٣ و ٢٠١	BBP	٤
١٦١و ٢٧٣	DEHP	٥
٢٧٨ و ١٥٢	DnOP	٦



شکل ۱: نمونه کروماتوگرام خروجی از دستگاه **GC-MS**

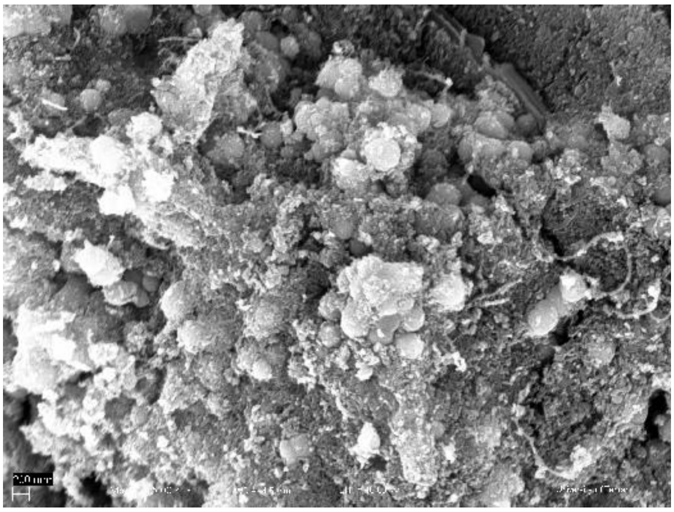
برای یافتن اختلافات معنی‌دار بین گروه ها، از پس آزمون پیروایز کامپریسون استفاده گردید.

برای استخراج نمونه ها، از هر یک از بطری های نوشابه ۱۰ میلی لیتر نمونه برداشته و داخل ویال بزرگ ریخته شد. در ادامه، به هر یک از ویال ها بعد از گاززدایی، ۱۰۰ میکرو لیتر استاندارد بنزوئیل بنزوات اضافه و مخلوط شد. در گام بعدی، به هرکدام از ویال ها ۰/۵ گرم سدیم کلرید اضافه کرده و مجدداً چند ثانیه بهم زده می شود. در پایان، در هر ویال ۱۰ میلی‌گرم کربن نانوتیوب آماده‌شده اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه بهم زده می شود. بعد از اختلاط، کربن نانوتیوب به کمک آهن ربای خارجی از نمونه جدا گشته و عمل واجذب با اضافه کردن ۱ میلی‌لیتر هگزان به آن، در اختلاط شدید، انجام شد. بعد از عمل واجذب، کربن نانوتیوب به کمک آهن ربا خارج و سایر محتویات به درون ویال کوچک انتقال یافت و برای انجام آنالیز توسط GC-MS ذخیره شد.

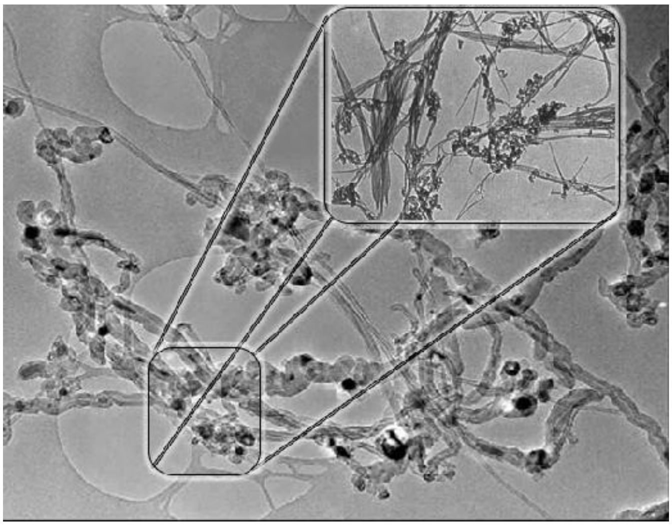
یافته‌ها

در شکل شماره ۲، تصویر مربوط به آنالیز میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) برای کربن نانوتیوب چند جداره (MWCNTs) بهینه‌شده با نانوذره اکسید آهن Fe_3O_4 نمایش داده شده است. این آنالیز به منظور بررسی مرفولوژی و ویژگی

سطحی نانو ذره اکسید آهن نشانده شده بر روی کربن نانوتیوب چند جداره در ۱۰ kV انجام شد. در شکل مذکور مشاهده می‌شود که نانوذره اکسید آهن به صورت دانه‌های گردی در میان کربن نانوتیوب چند جداره قرارگرفته است.



شکل ۲: میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)



شکل ۳: میکروسکوپ الکترونی انتقالی

در شکل شماره ۳، ساختار و اندازه کربن نانوتیوب چند جداره (MWCNTs) بهینه شده با نانو ذره اکسید آهن Fe_3O_4 به‌وسیله میکروسکوپ الکترونی انتقالی (TEM) در ۹۰ KeV مطالعه شد. در این تصویر، مشاهده می‌شود که نانوذرات تشکیل‌شده دارای ساختاری غیریکنواخت و درهم تنیده می‌باشند. همچنین ذرات سیاه رنگ، نشان‌دهنده حضور نانو ذره اکسید آهن Fe_3O_4 می‌باشد. میانگین اندازه این ذرات در آنالیز مذکور، در محدوده‌ای بین ۸۰–۳۰ نانومتر می‌باشد.

اطلاعات به دست‌آمده از ۹ نمونه نوشابه، در جدول شماره ۳ نشان داده شده است. شاخص‌های مرکزی و پراکندگی مربوط به متغیرهای مورد پژوهش (در حالت کلی) نیز در جدول شماره ٤ آمده است. به منظور بررسی نرمال بودن

[DOI: 10.18869/acadpub.jehe.2.1.7]

مشاهدات، از آزمون کولموگروف–اسمیرنف استفاده شد. نتـایج این آزمون در جدول شماره ۵ قابل مشاهده است.

جدول ۳: غلظت نمونه های نوشابه (ng/L)

واحد سنجش شماره نمونه	ng/L DMP	ng/L DEP	ng/L DBP	ng/L BBP	ng/L DEHP	ng/L n-DOP	ng/L مجموع
۱	۰/۷۵	۱/۸۵	۳۳/۷۲	۰/۸۵	۱۷۶۲/۱۷	۱۱۲/۸٤	۱۹۱۲/۱۹
۲	۱/۱۷	۲/۵٤	۱۰۲/۲۷	٤/۵٤	۲٦۸۰/۵۳	۱۵۵/۸۸	۲۹٤٦/۹۳
۳	۲/۸۰	۵/۰۷	۱۲۸/۸۹	۸/٦۹	۹۳۰۱/٦۰	٦٦۵/۹٤	۱۰۱۱۲/۹۹
٤	۱/۱۳	۲/۱۵	۲۳/۵٤	۳/۸۸	۳٤۲۰/۷۲	۲۵۰/۸۱	۳۷۰۲/۲۲
۵	۱/٦۳	۳/۱۳	۱۱/۱٤	۱/۱۰	۲۳۵۷/۵٤	۲۸٦/٦۷	۲٦٦۱/۲۱
٦	۰/۵٦	۱/۷۸	٦/۸۸	۱/۰۱	۱٦۹٤/۳۷	۳۲۹/٦۹	۲۰۳٤/۲۹
۷	۱۲/٦۷	۸/۹۷	۱۲/٤۳	۱٦/۱٤	۳۰۹/۰٦	۱۸۳/۷٦	۵٤۳/۰۲
۸	۰/۵۷	۱/۹۹	۲۷/۵٤	۰/۸۱	۱٦۳٤/۹۱	۲۸/۷۲	۱٦۹٤/۵۳
۹	۰/۵۹	۱/۱۷	۳٦/۸۸	۰/۵۵	۱٤۷۹/۹۰	٤٦/۳٤	۱۵٦۵/٤۳

جدول ٤: شاخص های مرکزی و پراکندگی (ng/L)

واحد سنجش شماره نمونه	ng/L DMP	ng/L DEP	ng/L DBP	ng/L BBP	ng/L DEHP	ng/L n-DOP
ماکزیمم	۱۲/٦۷	۸/۹۷	۱۲۸/۸۹	۱٦/۱٤	۹۳۰۱/٦۰	٦٦۵/۹٤
مینیمم	۰/۵٦	۱/۱۷	٦/۸۷۵	۰/۵۵	۳۰۹/۰٦	۲۸/۷۲
میانگین	۲/٤۳	۳/۱۸	٤۲/۵۹	٤/۱۷	۲۷۳۷/۸۷	۲۲۸/۹٦
انحراف استاندارد	۳/۹۱	۲/٤٤	٤۳/۱۳	۵/۲۳	۲٦۰۸/۵٤	۱۹۳/۰۰٤

جدول ۵: بررسی نرمال یا غیر نرمال بودن استرهای فتالات

متغیر	مقدار آماره (Z)	P-Value	نتیجه
DMP	۲/۹۸	<۰/۰۰۱	**عدم نرمال**
DEP	۲/۸٤	<۰/۰۰۱	**عدم نرمال**
DBP	۰/٦۷	۰/۷٦	**نرمال**
BBP	۲/۹۳	<۰/۰۰۱	**عدم نرمال**
DEHP	۱/۲۹	۰/۰۷	**نرمال**
DnOP	۱/٦۱	۰/۰۱	**عدم نرمال**
Total	۱/۳۱	۰/۰٦	**نرمال**

از آنجـایی کـه اسـترهای فتـالات DMP، DEP، BBP و DnOP از توزیع نرمالی برخوردار نبودنـد، بنـابراین بـه منظـور مقایسه غلظت آنها بین برندهای مختلف، از آزمـون ناپـارامتری کروسکال والـیس اسـتفاده شـد. جهـت مقایسـه سـایر مقـادیر اسـترها، آنـالیز واریـانس یکطرفـه بـا بررسـی شـرط همگنـی واریانس‌های بین گروهی استفاده شد. مشاهده شد که متغیرهای

DEHP و Total از این شرط تخطی می‌کنند؛ بنابراین جهت مقایسه غلظت آنها بین برندهای مختلف، از آزمون کروسکال والیس استفاده شد. با این تفاسیر، تنها به منظور مقایسه غلظت DBP بین برندهای مختلف، از آنالیز واریانس یک‌طرفه استفاده گردید (جدول شماره ٦). نتایج حاصل از آزمون‌های آماری حاکی از آن بود که غلظت‌های مختلف استرهای فتالات بین برندهای مختلف از اختلاف معناداری برخوردار نبودند.

جدول ۶: مقایسه استرهای فتالات بین برند های گوناگون (ng/L)

متغیر	برند A		برند B		برند C		P-Value
	انحراف استاندارد	میانگین	انحراف استاندارد	میانگین	انحراف استاندارد	میانگین	
DMP	١/٠٨	١/٥٧	٠/٥٣	١/١١	٩٨/٦	٦١/٤	٠/١١
DEP	١/٧٠	٣/١٥	٠/٧٠	٢/٣٥	٤/٢٨	٤/٠٤	٠/٩٠
DBP	٤٩/١٠	٨٨/٢٩	٨/٦٦	١٣/٨٥	١٢/٣٤	٢٥/٦٢	٠/٨٥
BBP	٣/٩٢	٤/٦٩	١/٦٣	٢/٠	٨/٩٣	٥/٨٣	٠/٣٠
DEHP	٤١١٣/٤٩	٤٥٨١/٤٣	٨٧٠/٨٦	٢٤٩٠/٨٧	٧٢٤/٨٩	١١٤١/٢٩	٠/٣٠
DnOP	٣٠٧/٦٦	٣١١/٥٦	٣٩/٤٩	٢٨٩/٠٦	٨٤/٨٨	٨٦/٢٧	٠/١٦

جدول ۷: مقایسه استرهای فتالات بین طعم های مختلف (ng/L)

متغیر	طعم A		طعم B		طعم C		P-Value
	انحراف استاندارد	میانگین	انحراف استاندارد	میانگین	انحراف استاندارد	میانگین	
DMP	٦/٧٨	٦٣٢/١٥	٠/٥٣	٢٤٨/٣٠	١/٢٩	١٤٠/٩٣	٠/٥٠
DEP	٤/٠٢	١٦١/٢٨	٠/٥٧	٦٣/٩٩	٢/١٠	٣٧/٢٤	٠/٠١
DBP	١٠/٦٥	١٧٢/٦٢	٤٨/٥٨	٩٠/٦٥	٦٣/٥٨	٧٠/١٦	٠/٩٠
BBP	٨/١٠	٦/٩٦	٢/٠٨	٦٨/٢٣	٤/٥٧	٣/٤٢	٠/٧٨
DEHP	١٥٥٦/٩٦	١٨٣٠/٦٥	٥٣٥/٣٩	١٠٢٠/٥٩	٤٤٥٥/٢٤	٤١٥٨/٦٢	٠/٤٠
DnOP	٦٨/٩٩	١٨٢/٤٧	١٢٨/٩٨	١٥٧/٠٩	٣١٠/١٨	٦٨١/٥٤	٠/٩٦

جدول ۸ : مقایسه دو به دوی DEP بین طعم‌های مختلف

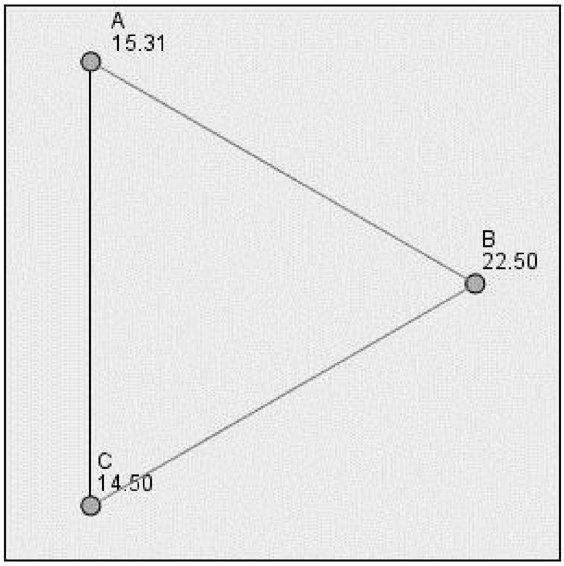
نمونه	تست آماری	استاندارد خطا	استاندارد تست آماری	معنی داری	تنظیم معنی‌داری
A-C	٠/٨٠٦	١/٩٠٥	٠/٤٢٣	٠/٦٧٢	١/٠
B-C	٨/٠	٢/٨٠٤	٢/٨٥٣	٠/٠٠٤	٠/٠١٣
A-B	-٧/١٩٤	٢/٥٧٩	-٢/٧٩٠	٠/٠٠٥	٠/٠١٦

ازآنجایی‌که استرهای فتالات DMP، DEP، BBP و DnOP از توزیع نرمالی برخوردار نبودند، بنابراین به‌منظور مقایسه غلظت آنها بین طعم‌های مختلف، از آزمون ناپارامتری کروسکال والیس استفاده شد. به منظور مقایسه غلظت متغیرهای DEHP، Total و DBP بین طعم‌های مختلف از آنالیز واریانس یکطرفه استفاده گردید (جدول شماره ٧). نتایج

[DOI: 10.18869/acadpub.jehe.2.1.7]

حاصل از آزمون‌های آماری حاکی از آن بود که غلظت‌های DEP استرهای فتالات بین طعم‌های مختلف از اختلاف معناداری برخوردار بودند. با توجه به معنادار شدن غلظت‌های DEP به مقایسه دو به دوی هریک از آن‌ها نیز پرداخته‌شده و همچنین نموداری از این اختلافات به نمایش درآمده است.

نتایج حاصل از آزمون‌های آماری حاکی از آن بود که در سطح خطای ۵ درصد برای غلظت DEP بین طعم‌های A و B و نیز بین طعم‌های B و C اختلاف معناداری وجود داشته است (جدول شماره ۸). چنانچه در شکل شماره ٤ نیز این اختلافات به نمایش درآمده‌اند. قابل‌ذکر است که هر رأس این نمودار نشان‌دهنده میانگین رتبه‌ای DEP در آن طعم می‌باشد.



شکل ٤: نمایش اختلافات دو به دو ی در غلظت استر فتالات DEP

بحث و نتیجه‌گیری

عکس‌های گرفته شده توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی و انتقالی ساخت جاذب کربن نانوتیوب چند جداره (MWCNTs) بهینه‌شده با نانوذره اکسید آهن Fe_3O_4 را اثبات می نماید. بر اساس نتایج حاصل از ارزیابی اثرات سمی فتالات ها، مخصوصاً بیس ۲ اتیل هگزیل فتالات (دی اتیل هگزیل فتالات) در اثر مواجهه با انسان و حیوانات، سازمان محیط زیست و بهداشت کانادا بر لزوم پایش سطح دی اتیل هگزیل فتالات در مواد غذایی در تماس با محصولات حاوی پلاستی سایزرها تأکید کردند[۱۹]. علاوه بر آن EPA نیز دو مجموعه از قوانین را در مورد آلاینده‌های شیمیایی آب‌های نوشیدنی تصویب کرده است (شایان ذکر است از آنجایی‌که برای استرهای فتالات موجود در نوشابه هیچ استاندارد ملی و بین‌المللی وجود ندارد، بنابراین در این پژوهش از استانداردهای موجود در آب معدنی استفاده می‌شود): الف) حداکثر میزان آلاینده هدف Maximum contaminant level goals (MCLG): این هدف بهداشتی غیرقابل اجرا، صرفاً بر اساس خطرات بهداشتی احتمالی در اثر مواجهه بیش از یک طول عمر با حاشیه ایمنی کافی تعیین می‌شود. در مورد آلاینده‌های آب‌های نوشیدنی، کمتر از میزان مشخص‌شده و یا کمتر از ریسک سلامتی احتمالی می‌باشد و ب) حداکثر میزان آلاینده Maximum contaminant level (MCL) که همان حداکثر مقدار مجاز آلاینده در آب‌های نوشیدنی می‌باشد، یک استاندارد اجباری و قابل اجرا است. به جز دی اتیل هگزیل فتالات، در مورد دیگر فتالات ها میزان MCL در آب‌های آشامیدنی تعیین نشده است. بر اساس قوانین EPA، در مورد دی اتیل هگزیل فتالات، MCLG برابر با صفر می‌باشد و حداکثر سطح مجاز دی اتیل هگزیل فتالات در آب‌های نوشیدنی ٦ میکروگرم در لیتر تعیین‌شده است[۲۰]. WHO و اتحادیه اروپا، سقف مجاز ۸ میکروگرم در لیتر را در آب‌های نوشیدنی تعیین کرده‌اند[۲۱و ۲۲]. مقامات ایمنی مواد غذایی اروپا European Food Safety Authority panel (EFSAP) نیز حد قابل تحمل دریافت روزانه Tolerable daily intake (TDA) را برای بوتیل بنزیل فتالات، دی بوتیل فتالات و دی اتیل هگزیل فتالات به ترتیب ۵۰۰ µg/kg/bw/d و ۱۰،۵۰ تعیین کرده‌اند[۲۳]. درحالی‌که مقادیر مواجهه پایین‌تری برای گروه‌های حساس (جنین، نوزادان) پیشنهاد می‌شود[۲٤].

[DOI: 10.18869/acadpub.jehe.2.1.7]

پلی‌اتیلن ترفتالات، گسترده ترین ماده مورد استفاده برای بسته بندی مایعات است که به دلیل ویژگی‌های فیزیکی مناسبی که دارد، جایگزین ظروف شیشه‌ای شده است. اگرچه مقررات کمیسیون اروپا استفاده از استرهای فتالات را در بسته‌بندی‌های مواد غذایی مجاز ندانسته[۲۵]، ولی این مواد در بسته بندی های پلی‌اتیلن تری فتالات و نوشیدنی های کربناته تشخیص داده شده اند. بر اساس اطلاعات به دست‌آمده از پژوهش حاضر، در تمامی نمونه‌ها میزان DEP, DBP, BBP،DMP و DnOP کمتر از حد استانداردها بود، ولی در یک نمونه مقدار DEHP، از حدود استاندارد تعریف‌شده توسط EPA, WHO و EU فراتر می باشد (۹۳۰۱/ ٦۰ ng/L)، از آنجایی‌که آن مورد از یک برند خارجی بوده است ممکن است به دلیل استفاده زیاد شرکت تولید کننده از ماده مذکور بوده باشد. ولیکن دلایل دیگر همچون خطای در اندازه‌گیری، آلودگی نمونه‌ها و نیز آلودگی ستون GC را نیز می‌توان مدنظر قرار داد. در مطالعه مشابه ای که Yan-Bo Luo و همکاران بر روی دو نوع نوشیدنی‌های کربناته انجام دادند، میزان DEHP و نیز DMP بالاتر از حدود استاندارد بود و تحقیق مشابه دیگر که توسط Qiuhua Wu و همکاران روی نوشابه نوع کولا انجام دادند، برای تمامی نمونه‌ها زیر استاندارد گزارش‌شده کردند[۱و ۱۸]. در مطالعه مشابه ای که خانم زارع جدی و همکاران در سال ۲۰۱٤ روی زمان نگهداری و نیز شرایط مختلف نگهداری در آب‌های معدنی انجام دادند، نیز نتایج مشابه ای به دست آمد به طوری‌که بالاترین میزان مربوط به DEHP بوده ولی در مجموع میزان استرهای فتالات در تمامی نمونه‌ها کمتر از حدود استاندارد بودند[۷].

با توجه به نتایج به دست آمده در ۳ برند موردمطالعه، بیشترین میزان میانگین غلظت فتالات ها مربوط به برند A و ماده‌ی DEHP بوده است که یک برند خارجی می باشد. ولی در مجموع، بین میزان فتالات و برندهای مختلف اختلاف معنی داری مشاهده نشده است. بالاترین میزان میانگین کل فتالات ها نیز در طعم پرتغالی مشاهده شد که می تواند ناشی از اسیدیته بالا در این طعم باشد. اسیدیته بالا، انحلال پذیری فتالات را در نمونه مورد بررسی افزایش خواهد داد. لازم به ذکر است که درمجموع بین طعم‌های مختلف با میزان استرهای فتالات اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد بیشترین میزان فتالات موجود در نوشابه مربوط به BEP یا DEHP است که از بین سایر فتالات ها خطرناک‌تر و مضرتر هستند. ولی میزان میانگین کل آن، از استانداردهای موجود خیلی پایین‌تر است. بنابراین استفاده از نوشابه با طعم‌ها، اندازه‌ها و در بازه‌های زمانی مختلف، مشکلی برای سلامت افراد جامعه ایجاد نکرده و نوشابه‌های کربناته بطری شده در پلی‌اتیلن ترفتالات از نظر مهاجرت ترکیبات مذکور ایمن می باشند و خطری برای انسان ایجاد نمی‌کند. نکته‌ای که باید مدنظر قرار داد، این است که مصرف این نوشیدنی در ایران بسیار بالا بوده و علاوه بر خطراتی که قند و اسید نوشابه برای انسان دارد ممکن است میزان مصرف بالای این نوشیدنی اثرات سویی به جهت همین میزان پایین فتالات بر انسان داشته باشد.

سپاسگزاری

مقاله حاضر بخشی از پایان نامه کارشناسی ارشد و طرح پژوهشی دانشکده بهداشت به شماره ٢٥٨٢٦-٢٧-٠٢-٩٣ است که با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام گردید و بدینوسیله بخاطر تامین هزینه تشکر می شود. همچنین از ستاد ویژه توسعه فناوری نانو به خاطر همکاری در انجام این تحقیق قدردانی می شود.

[DOI: 10.18869/acadpub.jehe.2.1.7]

منابع

1. Wu Q, Liu M, Ma X, Wang W, Wang C, Zang X, et al. Extraction of phthalate esters from water and beverages using a graphene-based magnetic nanocomposite prior to their determination by HPLC. Mikrochim Acta 2012;177(1-2): 23-30.
2. Balafas D, Shaw K, Whitfield F. Phthalate and adipate esters in Australian packaging materials. Food Chem 1999;65(3): 279-87.
3. Sathyanarayana S. Phthalates and children's health. Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care 2008;38(2):34-49.
4. Cao XL. Phthalate esters in foods: sources, occurrence, and analytical methods. Compr Rev Food Sci Food Saf 2010;9(1): 21-43.
5. Muncke J. Endocrine disrupting chemicals and other substances of concern in food contact materials: An updated review of exposure, effect and risk assessment. J. Steroid Biochem Mol Biol 2011;127(1): 118-27.
6. Krachler M, Shotyk W. Trace and ultratrace metals in bottled waters: survey of sources worldwide and comparison with refillable metal bottles. Sci Total Environ 2009;407(3): 1089-96.
7. Jeddi MZ, Ahmadkhaniha R, Yunesian M, Rastkari N. Magnetic solid-phase extraction based on modified magnetic nanoparticles for the determination of phthalate diesters in water samples. J Chromatogr Sci 2014: 1-7.
8. Matsumoto M, Hirata-Koizumi M, Ema M. Potential adverse effects of phthalic acid esters on human health: a review of recent studies on reproduction. Regul Toxicol Pharm 2008;50(1): 37-49.
9. Howdeshell KL, Rider CV, Wilson VS, Gray LE. Mechanisms of action of phthalate esters, individually and in combination, to induce abnormal reproductive development in male laboratory rats. Environ Res 2008;108(2): 168-76.
10. Ghisari M, Bonefeld-Jorgensen EC. Effects of plasticizers and their mixtures on estrogen receptor and thyroid hormone functions. Toxicol Lett 2009;189(1): 67-77.
11. LaFleur AD, Schug KA. A review of separation methods for the determination of estrogens and plastics-derived estrogen mimics from aqueous systems. Anal Chim Acta 2011;696(1): 6-26.
12. Kim B-N, Cho S-C, Kim Y, Shin M-S, Yoo H-J, Kim J-W, et al. Phthalates exposure and attention-deficit/hyperactivity disorder in school-age children. Biol Psychiatry 2009;66(10): 958-63.
13. Salim CJ, Liu H, Kennedy JF. Comparative study of the adsorption on chitosan beads of phthalate esters and their degradation products. Carbohydr Polym 2010;81(3): 640-4.
14. Fang Z-Q, Huang H-J, editors. Effects of salinity and humic acid on di-n-butyl phthalate adsorption by granular activated carbon. Bioinformatics and Biomedical Engineering (iCBBE) 2010 4th International Conference on 2010: IEEE.
15. Chen Y, Ai Z, Zhang L. Enhanced decomposition of dimethyl phthalate via molecular oxygen activated by Fe_2O_3/AC under microwave irradiation. J Hazard Mater 2012;235: 92-100.
16. Julinová M, Slavík R. Removal of phthalates from aqueous solution by different adsorbents: a short review. J Environ Manage 2012;94(1): 13-24.
17. Zhao J, Xue M, Huang Y, Shen J. Hydrogenation of dioctyl phthalate over supported Ni catalysts. Catal Commun 2011;16(1): 30-4.
18. Luo Y-B, Yu Q-W, Yuan B-F, Feng Y-Q. Fast microextraction of phthalate acid esters from beverage, environmental water and perfume samples by magnetic multi-walled carbon nanotubes. Talanta 2012;90: 123-31.
19. Calafat AM, Needham LL, Silva MJ, Lambert G. Exposure to di-(2-ethylhexyl) phthalate among premature neonates in a neonatal intensive care unit. Pediatrics 2004;113(5): 429-34.
20. Craun GF, Brunkard JM, Yoder JS, Roberts VA, Carpenter J, Wade T, et al. Causes of outbreaks associated with drinking water in the United States from 1971 to 2006. Clin. Microbiol. Rev 2010;23(3): 507-28.
21. Amiridou D, Voutsa D. Alkylphenols and phthalates in bottled waters. J Hazard Mater 2011;185(1): 281-6.
22. Muncke J. Exposure to endocrine disrupting compounds via the food chain: Is packaging a relevant source. Sci Total Environ 2009;407(16): 4549-59.
23. Keresztes S, Tatár E, Czégény Z, Záray G, Mihucz VG. Study on the leaching of phthalates from polyethylene terephthalate bottles into mineral water. Sci Total Environ 2013;458: 451-8.
24. Andra SS. A Perspective on Human Exposures to Plastics Additives in Water-Packaging Materials. J Water Resource Prot 2013;5(04): 25.
25. Van Den Houwe K, van de Velde S, Evrard C, Van Hoeck E, Van Loco J, Bolle F. Evaluation of the migration of 15 photo-initiators from cardboard packaging into Tenax® using ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). Food Addit Contam A 2014;31(4): 767-75.
26. Moazzen M, Ahmadkhaniha R, Gorji MEh, Yunesian M, Rastkari N. Magnetic solid-phase extraction based on magnetic multi-walled carbon nanotubes for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in grilled meat samples. Talanta 2013;115: 957-65.

[DOI: 10.18869/acadpub.jehe.2.1.7]

Assessment of Phthalate Esters in A Variety of Carbonated Beverages Bottled in PET

Mojtaba Moazzen[1], Noushin Rastkari[2], Mahmood Alimohammadi[1], Nabi Shariatifar[1], Reza Ahmadkhaniha[3], Shahrokh Nazmara[1], Arash Akbarzadeh[4], Ali Azari[1], Ramin Nabizadeh[1], GholamReza Jahed Khaniki[1*]

1. Department of Environmental Health Engineering, School of public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

2. Center for Air Pollution Research (CAPR), Institute for Environmental Research (IER), Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3. Department of Human Ecology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

4. Department of Biostatistics, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

E-mail: ghjahed@sina.tums.ac

Received: 30 Apr 2014 ; Accepted: 19 Aug 2014

ABSTRACT

Background: Phthalate esters are polymeric compounds usually used as a plasticizer. These materials can enter to the human body through various ways; the main way could be food packaging. Chronic contact with these materials could result cancer, including breast cancer in women and prostate cancer in men as well as other endocrine problems. The objective of this study was to assess the concentration of phthalate esters in carbonated beverages.

Methods: In this study, a magnetic nano-scale adsorbent, made from carbon nanotubes and Fe_3O_4. Deposition of Fe_3O_4 on the adsorbent could result in improvement of adsorption and desorption as well as extraction procedure. Then, by means of adsorbent and solvent extraction, phthalate esters were extracted from the beverage matrices and determined using GC-MS analysis.

Results: amongst studied ingredients, BEP or DEHP, that have been found to be carcinogenic, had highest concentration in beverages, and also the brand of A and taste of C had the highest average concentration. Except one sample, the total amounts of these ingredients were below than international standards.

Conclusion: Based on the results, consumers can use these beverages without any concern regarding phthalate esters amounts. The results also demonstrated that this synthesized adsorbent has good performance for extraction of phthalates from studied matrices.

Keywords: Phthalate Esters, Beverage, Magnetic Carbon Nanotubes.

[DOI: 10.18869/acadpub.jehe.2.1.7]