

بررسی حضور استرهای فتالات در نوشابه های کربناته بطری شده

در بطری های پلی اتیلن ترفتالات (PET)

مجتبی موذن^۱، نوشین راستکاری^۲، محمود علی محمدی^۱، نبی شریعتی فر^۱، رضا احمدخانیها^۲، شاهرخ نظم آرا^۱، آرش اکبرزاده^۳، علی آذری^۱، رامین نبی زاده^۱ و غلامرضا جاهدخانیکی^{۴*}

۱. گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۲. مرکز تحقیقات هوا، پژوهشکده محیط زیست، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۳. گروه اکولوژی انسانی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۴. 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 پلاستی سائیز در ساخت ترکیبات پلیمری استفاده می شوند. این مواد از راه های مختلفی می توانند وارد بدن انسان شوند که در این میان، مقدار قابل توجهی از طریق بسته بندی مواد غذایی می باشد. برخورد مزمن با این مواد، در بروز انواع سرطان از جمله سرطان پستان در بانوان و سرطان پروستات در آقایان و نیز سایر بیماری ها نقش دارند. هدف از این مطالعه، بررسی حضور استرهای فتالات در نوشابه های کربناته می باشد.

مواد و روش ها: در این مطالعه، ابتدا یک ترکیب مغناطیسی در اندازه نانو با ترکیب نانوتیوب و اکسید آهن ایجاد گردید. نشان دادن 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 اندازه گیری شد.

یافته ها: در بین ترکیبات مطالعه شده، ترکیب BEP یا DEHP که خطر سرطان زایی آن نیز محرز شده است، بیشترین میزان را در نوشابه ها دارا بود که بالاترین مقدار میانگین غلظت آن، مربوط به برند A و طعم C بود. میزان این ترکیب، در تمامی نمونه ها به جز یک مورد، از استانداردهای بین المللی پایین تر بوده است.

نتیجه گیری: بر اساس نتایج حاصل می توان 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 اندازه گیری 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: ۰۲۱-۸۸۹۵۴۹۱۱

مقدمه

هر ساله مقدار زیادی از انواع فتالات در سرتاسر جهان برای کارخانه‌ها به منظور گوناگون تولید می‌شود. به‌کارگیری استرهای فتالات Poly(arylene ethynylene)s (PAEs) استفاده‌های گوناگونی مانند بهبود انعطاف پذیری، کارایی و پایداری بیشتر مواد پلیمری دارد. آنها همچنین می‌توانند در محصولاتی مانند رنگ‌ها، چسب‌ها، جوهرها و لوازم آرایشی نیز حضور داشته‌باشند^۱. استفاده این مواد در صنایع غذایی، معمولاً در ظروف پلاستیکی، فیلم‌ها، لوله‌ها، آسترها یا در درزگیری درب‌های بطری‌ها یا در آسترهای تانک‌های ذخیره یا مواد سازنده تسمه‌های منتقل‌کننده است^۲. استرهای فتالات که شامل دی متیل فتالات، دی اتیل فتالات، دی ان بوتیل فتالات، بوتیل بنزیل فتالات، دی اتیل هگزیل فتالات و دی ان اکتیل فتالات‌ها هستند، از راه‌های مختلفی مانند پوست، تنفس و گوارش می‌توانند وارد بدن انسان شده که در این میان، بیشترین میزان مواجهه از طریق بسته‌بندی مواد غذایی صورت می‌گیرد^۳.^۴ با گسترش روزافزون دانش بشری و پیشرفت در صنعت پلاستیک‌سازی، امروزه پوشش Polyethylene terephthalate (PET) (پلی‌اتیلن ترفتالیک اسید) به دلیل ویژگی‌های منحصر به فردی که در زمینه عدم نفوذ گازها و سایر عوامل محیطی به داخل بسته بندی دارند به طور گسترده جهت بسته‌بندی مواد غذایی مختلف به خصوص آب و سایر نوشیدنی‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد^۵. بطری‌های PET، از پلیمریزاسیون منومرهای اسید ترفتالیک و اتیلن گلیکول با کاتالیست‌های آنتیموان-تیتانیوم یا ژرمانیوم تولید می‌شوند و در ترکیب خود دارای کبالت نیز می‌باشند^۶. در ظروف PET، ترکیباتی که دارای پتانسیل مهاجرت به داخل ماده غذایی می‌باشند شامل ترکیبات اولیه (نومر ترفتالیک اسید،

دی‌متیل ترفتالات و اتیلن گلیکول)، محصولات جانبی واکنش و محصولات تخریبی پلیمری (استالدئید) و اولیگومرهای با وزن مولکولی کم (حلقوی و از دی‌مر تا پنتامر) هستند. نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که ۸۱٪ میزان مهاجرت از PET مربوط به تریمرهای حلقوی ترفتالات و سایر اولیگومرها با وزن مولکولی کم و خطی می‌باشد^۷. زمانی که فتالات‌ها به عنوان پلاستی سایزر استفاده می‌شوند، آنها با ساختار پلیمر، پیوند برگشت‌ناپذیر تشکیل نمی‌دهند زیرا پیوند میان استرهای فتالات با زنجیره پلیمر از نوع شیمیایی (کووالانسی) نیست و تنها به طور فیزیکی و برگشت‌پذیر، با ساختار پلیمر ارتباط برقرار می‌کنند. بنابراین ممکن است که تحت شرایط و استرس‌های فیزیکی، از ساختار پلیمر جدا شده و به داخل محتویات بسته‌بندی مهاجرت یافته و باعث ایجاد مخاطراتی برای سلامت انسان و محیط زیست شوند^۸. استرهای فتالات همان طور که گفته شد، جزء دسته مختل‌کننده غدد درون ریز می‌باشند. بنابراین برخورد مزمن با این مواد در بروز انواع سرطان از جمله سرطان پستان در بانوان و سرطان پروستات در آقایان^۹، اختلال در سنتز و فعالیت هورمون‌های داخلی (آنتی‌اندروژنیک) اثر روی عملکرد غده تیروئید^{۱۰}، عقیم شدن، فعالیت تراتوژنیک و موتاژنیک^{۱۱}، بروز هایپراکتیویته در کودکان^{۱۲}، چاقی، آسیب به کبد، ازدیاد پروکسی زوم، آلرژی زایی و غیره نقش دارند^{۱۳}. آژانس حفاظت از محیط زیست آمریکا (US Environmental Protection Agency (EPA)، ماکزیمم حد مجاز Bis(2-Diethylhexyl phthalate or DEHP) ethylhexyl phthalate را در آبهای آشامیدنی ۶ ppb و نیز در انگلستان میزان Tolerable daily intake (TDI) برای DEHP و Dibutyl phthalate (DBP) مقدار ۰/۰۵ mg/kg در روز، به میزان وزن بدن و برای Benzyl butyl phthalate

(BBP) مقدار 0.1 mg/kg وزن بدن در روز و برای Diethyl phthalate (DEP) مقدار 0.2 mg/kg وزن بدن در روز تعیین نموده اند.^۲ مواد اولیه (PET) از کارخانجات متفاوت با کیفیت های مختلف و در برخی مواقع از مواد بازیافتی تهیه می گردد که این مسئله، لزوم بررسی مهاجرت استرهای فتالات را از ساختار بطری های PET دو چندان کرده است. از جمله مواد غذایی که درون بطری های PET بسته بندی می شوند، نوشیدنی های کربناته است که از جمله این نوشیدنی ها، نوشابه های گازدار است که با طعم ها، اندازه ها و مارک های مختلف تولید و یا وارد می شوند و در نهایت مورد استفاده قرار می گیرند. این نوشابه ها، به دلیل اسیدی بودن، احتمالاً میزان بیشتری از انواع فتالات را درون خود حل می کنند. مواد سازنده نوشابه های گازدار شامل: آب، شیرین کننده، گازکربنیک، انواع اسید (مانند فسفریک، سیتریک و غیره)، طعم دهنده مانند انواع اسانس ها، رنگ، نگه دارنده مانند اسید بنزوئیک می باشد که تفاوت انواع نوشابه ها، در میزان این ترکیبات است و از جمله تفاوت اساسی در اضافه کردن رنگ، طعم دهنده و اسید می باشد، به طوری که در نوشابه های نوع کولا از اسید فسفریک و عصاره و رنگ کولا، در نوشابه های پرتغالی از اسید سیتریک و عصاره و رنگ پرتغالی و در نهایت، در نوشابه های لیمویی یا بی رنگ از اسید سیتریک و عصاره لیمویی استفاده می شود. از آنجایی که مصرف این نوشیدنی ها در ایران بالا می باشد، به طوری که بر اساس گزارش بنیاد کارآفرینی فروتن که میزان مصرف مواد غذایی مختلف در ایران و جهان را بررسی کرده است، میزان مصرف انواع مختلف نوشابه در ایران در حدود ۳ تا ۴ برابر جهان می باشد و حدس زده می شود بعد از آب نوشیدنی شهری، این ماده بیشترین مصرف را در بین ایرانیان داشته باشد. تاکنون جاذب هایی مانند کربن فعال گرانوله، کیتوزان، کربن فعال و غیره به منظور جذب و اندازه گیری آلایندگی های مذکور مورد استفاده قرار گرفته اند^{۱۳-۱۵}، ولی به دلیل راندمان جذب و واجذب پایین، جداسازی مشکل، زمان

طولانی جذب و هزینه های بالا، استفاده از جاذب هایی با فرآیند جداسازی راحت تر و قدرت کاتالیزوری بالاتر، امری ضروری محسوب می شود^{۱۶ و ۱۷}. در این مطالعه، از نانو ذرات اکسید آهن (Fe_3O_4) برای مغناطیسی کردن کربن نانوتیوب استفاده شد. نانو ذرات اکسید آهن به کار رفته در کربن نانوتیوب، علاوه بر القای خاصیت مغناطیسی به جاذب، با ایجاد پیوند شیمیایی شکننده ای سبب افزایش راندمان جذب و واجذب این آلایندگی می شود^{۱۸}. انتظار می رود کربن نانوتیوب چند جداره بهینه شده با نانو ذرات اکسید آهن، سرعت و توانایی بالایی در جذب و اندازه گیری استرهای فتالات از خود نشان دهد. با این توصیف، از آنجایی که تاکنون مطالعه جامع و درخور توجه ای برای اندازه گیری این ماده سمی در نوشابه های مختلف در ایران صورت نگرفته است و از طرفی به دلیل مضر و خطرناک بودن آن برای انسان، در این مطالعه سعی خواهد شد انواع مختلف نوشابه های رایج در ایران با طعم ها و برندهای گوناگون با استفاده از جاذب مذکور بررسی شود و میزان انواع گوناگون فتالات در آنها مورد سنجش قرار گیرد.

مواد و روش ها

مواد به کار برده شده در این مطالعه عبارتند از: استانداردهای ۶ نوع از استرهای فتالات (DMP Dimethyl phthalate, DEP, (DBP), Di-n-octyl phthalate, BBP, DEHP, (DnOP), کلرید آهن (III) 6 آب ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), کربن نانوتیوب چند جداره (MWCNT)، سدیم برموهیدرید (NaBH_4)، اتانول ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$)، اسیدکلریدریک (HCl) و سدیم هیدروکسید (NaOH)، سدیم کلراید، بنزوئیل بنزوات، هگزان. کلیه مواد مورد استفاده در این مطالعه از شرکت Sigma Aldrich و Merck با درجه خلوص آنالیتیکال تهیه شد. برای تعیین غلظت های استرهای فتالات، از GC-MS استفاده شد.

برای سنتز کربن نانوتیوب چند جداره-اکسید آهن

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
۴	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 دست آمده، بهترین برنامه دمایی و نحوه استخراج آنالیت ها از ماتریکس آب به دست آمد. یون ها 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.

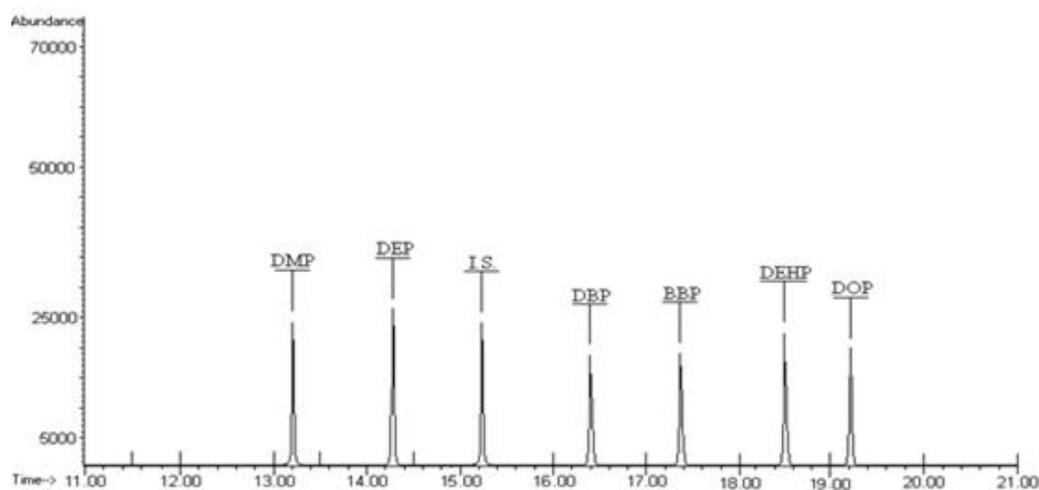
از میان برندهای تجاری موجود در بازار، بر اساس میزان استفاده و فراوانی در بازار، ۳ برند پرمصرف که به طور مداوم در تمام فصول سال نیز موجود هستند، انتخاب شدند. با توجه به انتخاب ۳ برند و وجود ۳ طعم (کولا، پرتغالی و لیمویی)، در مجموع ۹ نمونه انتخاب می شود. نمونه های مورد نیاز جهت کالیبراسیون، ۱۵ نمونه تعیین 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.

(MWCNT-Fe₃O₄) مورد استفاده، به روش هم ترسیبی مطابق مطالعه زارع جدی و همکاران در سال ۲۰۱۴ و مؤذن و همکاران در سال ۲۰۱۳ آماده سازی شد^{۲۶،۲۷}. Scanning Electron Microscopy (SEM) مدل Hitachi:S ۴۱۶۰ 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 آماده سازی استانداردها و رسم منحنی کالیبراسیون، اولین قدم برای اندازه گیری طراحی روشی مناسب و دقیق برای آنالیز نمونه ها می باشد. در این تحقیق، از دستگاه GC-MS به عنوان وسیله آنالیز استفاده شد. در روش های 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 می گردد که این خطاها برطرف شود. بدین منظور مقدار مشخصی از استاندارد داخلی به نمونه یا محلول استاندارد افزوده و تمام مراحل نمونه سازی روی آن انجام می شود. از محلول های استاندارد هر یک از استرهای فتالات، غلظت ۵ ppm برای رسم منحنی کالیبراسیون آماده سازی شد. با استفاده از محلول های استوک تهیه شده از محلول های استاندارد استرهای فتالات، منحنی کالیبراسیون در غلظت های مختلف (۰/۱، ۰/۰۱، ۰/۵ و ۱۰ نانوگرم در لیتر) از هر ۶ 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 ۲: یون های انتخابی جهت پایش

گروه یون ها	آنالایت	یون انتخاب شده (m.z)
۱	DMP	۱۵۳ و ۷۶
۲	DEP	۱۷۹ و ۷۹
۳	DBP	۲۱۵ و ۲۲۵
۴	BBP	۲۰۱ و ۹۳
۵	DEHP	۲۷۳ و ۱۶۱
۶	DnOP	۱۵۲ و ۲۷۸



شکل ۱: نمونه کروماتوگرام خروجی از دستگاه GC-MS

کردن ۱ میلی لیتر 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.

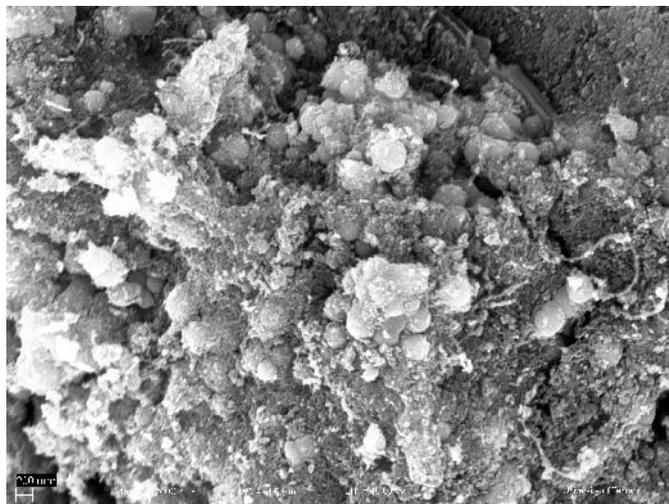
یافته ها

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

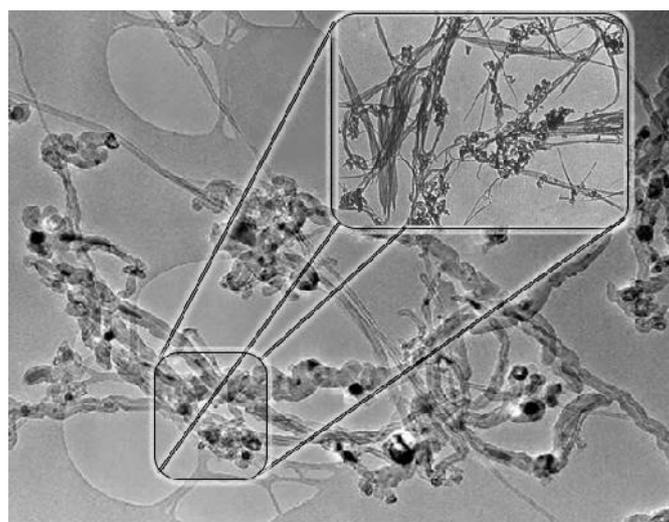
برای یافتن اختلافات معنی دار بین گروه ها، از پس آزمون پیروایز کامپریسون استفاده گردید.

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 هر کدام از ویال ها ۰/۵ گرم سدیم کلرید اضافه کرده و مجدداً چند ثانیه بهم زده می شود. در پایان، در هر ویال ۱۰ میلی گرم کربن نانوتیوب آماده شده اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه بهم زده می شود. بعد از اختلاط، کربن نانوتیوب به کمک آهن ربا خارج از نمونه جدا گشته و عمل واجذب با اضافه

سطحی نانو ذره اکسید آهن نشانده شده بر روی کربن نانوتیوب چند جداره در ۱۰ kV انجام شد. در شکل مذکور مشاهده می شود که نانو ذره اکسید آهن به صورت دانه های گردی در میان کربن نانوتیوب چند جداره قرار گرفته است.



شکل ۲: میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)



شکل ۳: میکروسکوپ الکترونی انتقالی

اکسید آهن Fe_3O_4 می باشد. میانگین اندازه این ذرات در آنالیز مذکور، در محدوده ای بین ۸۰-۳۰ نانومتر می باشد. اطلاعات به دست آمده از ۹ نمونه نوشابه، در جدول شماره ۳ نشان داده شده است. شاخص های مرکزی و پراکندگی مربوط به متغیرهای مورد پژوهش (در حالت کلی) نیز در جدول شماره ۴ آمده است. به منظور بررسی نرمال بودن

در شکل شماره ۳، ساختار و اندازه کربن نانوتیوب چند جداره (MWCNTs) بهینه شده با نانو ذره اکسید آهن Fe_3O_4 به وسیله میکروسکوپ الکترونی انتقالی (TEM) در ۹۰ KeV مطالعه شد. در این تصویر، مشاهده می شود که نانوذرات تشکیل شده دارای ساختاری غیریکنواخت و درهم تنیده می باشند. همچنین ذرات سیاه رنگ، نشان دهنده حضور نانو ذره

بررسی حضور استرهای فتالات در نوشابه های کربناته بطری شده در بطری های پلی اتیلن ترفتالات (PET)

مشاهدات، از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف استفاده شد. نتایج 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	۱۱۲/۸۴	۱۹۱۲/۱۹
۲	۱/۱۷	۲/۵۴	۱۰۲/۲۷	۴/۵۴	۲۶۸۰/۵۳	۱۵۵/۸۸	۲۹۴۶/۹۳
۳	۲/۸۰	۵/۰۷	۱۲۸/۸۹	۸/۶۹	۹۳۰/۱/۶۰	۶۶۵/۹۴	۱۰۱۱۲/۹۹
۴	۱/۱۳	۲/۱۵	۲۳/۵۴	۳/۸۸	۳۴۲۰/۷۲	۲۵۰/۸۱	۳۷۰۲/۲۲
۵	۱/۶۳	۳/۱۳	۱۱/۱۴	۱/۱۰	۲۳۵۷/۵۴	۲۸۶/۶۷	۲۶۶۱/۲۱
۶	۰/۵۶	۱/۷۸	۶/۸۸	۱/۰۱	۱۶۹۴/۳۷	۳۲۹/۶۹	۲۰۳۴/۲۹
۷	۱۲/۶۷	۸/۹۷	۱۲/۴۳	۱۶/۱۴	۳۰۹/۰/۶	۱۸۳/۷۶	۵۴۳/۰/۲
۸	۰/۵۷	۱/۹۹	۲۷/۵۴	۰/۸۱	۱۶۳۴/۹۱	۲۸/۷۲	۱۶۹۴/۵۳
۹	۰/۵۹	۱/۱۷	۳۶/۸۸	۰/۵۵	۱۴۷۹/۹۰	۴۶/۳۴	۱۵۶۵/۴۳

جدول ۴: 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	۱۲/۶۷	۸/۹۷	۱۲۸/۸۹	۱۶/۱۴	۹۳۰/۱/۶۰	۶۶۵/۹۴
مینیمم	۰/۵۶	۱/۱۷	۶/۸۷۵	۰/۵۵	۳۰۹/۰/۶	۲۸/۷۲
میانگین	۲/۴۳	۳/۱۸	۴۲/۵۹	۴/۱۷	۲۷۳۷/۸۷	۲۲۸/۹۶
انحراف استاندارد	۳/۹۱	۲/۴۴	۴۳/۱۳	۵/۲۳	۲۶۰۸/۵۴	۱۹۳/۰/۰۴

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	۲/۸۴	<۰/۰۰۱	عدم نرمال
DBP	۰/۶۷	۰/۷۶	نرمال
BBP	۲/۹۳	<۰/۰۰۱	عدم نرمال
DEHP	۱/۲۹	۰/۰۷	نرمال
DnOP	۱/۶۱	۰/۰۱	عدم نرمال
Total	۱/۳۱	۰/۰۶	نرمال

از آنجایی که استرهای فتالات DMP، DEP، BBP و DnOP از توزیع نرمالی برخوردار نبودند، بنابراین به منظور مقایسه غلظت آنها بین برندهای مختلف، از آزمون ناپارامتری کروسکال والیس استفاده شد. جهت مقایسه سایر مقادیر استرها، آنالیز واریانس یکطرفه با بررسی شرط همگنی واریانس های بین گروهی استفاده شد. مشاهده شد که متغیرهای

کروسکال والیس استفاده شد. جهت مقایسه سایر مقادیر استرها، آنالیز واریانس یکطرفه با بررسی شرط همگنی واریانس های بین گروهی استفاده شد. مشاهده شد که متغیرهای

مجتبی مؤذن و همکاران

گردید (جدول شماره ۶). نتایج حاصل از آزمون‌های آماری حاکی از آن بود که غلظت‌های مختلف استرهای فتالات بین برندهای مختلف از اختلاف معناداری برخوردار نبودند.

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

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

P-Value	برند C		برند B		برند A		متغیر
	میانگین	انحراف استاندارد	میانگین	انحراف استاندارد	میانگین	انحراف استاندارد	
۰/۱۱	۶۱/۴	۹۸/۶	۱/۱۱	۰/۵۳	۱/۵۷	۱/۰۸	DMP
۰/۹۰	۴/۰۴	۴/۲۸	۲/۳۵	۰/۷۰	۳/۱۵	۱/۷۰	DEP
۰/۸۵	۲۵/۶۲	۱۲/۳۴	۱۳/۸۵	۸/۶۶	۸۸/۲۹	۴۹/۱۰	DBP
۰/۳۰	۵/۸۳	۸/۹۳	۲/۰	۱/۶۳	۴/۶۹	۳/۹۲	BBP
۰/۳۰	۱۱۴۱/۲۹	۷۲۴/۸۹	۲۴۹۰/۸۷	۸۷۰/۸۶	۴۵۸۱/۴۳	۴۱۱۳/۴۹	DEHP
۰/۱۶	۸۶/۲۷	۸۴/۸۸	۲۸۹/۰۶	۳۹/۴۹	۳۱۱/۵۶	۳۰۷/۶۶	DnOP

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

P-Value	طعم C		طعم B		طعم A		متغیر
	میانگین	انحراف استاندارد	میانگین	انحراف استاندارد	میانگین	انحراف استاندارد	
۰/۵۰	۱۴۰/۹۳	۱/۲۹	۲۴۸/۳۰	۰/۵۳	۶۳۲/۱۵	۶/۷۸	DMP
۰/۰۱	۳۷/۲۴	۲/۱۰	۶۳/۹۹	۰/۵۷	۱۶۱/۲۸	۴/۰۲	DEP
۰/۹۰	۷۰/۱۶	۶۳/۵۸	۹۰/۶۵	۴۸/۵۸	۱۷۲/۶۲	۱۰/۶۵	DBP
۰/۷۸	۳/۴۲	۴/۵۷	۶۸/۲۳	۲/۰۸	۶/۹۶	۸/۱۰	BBP
۰/۴۰	۴۱۵۸/۶۲	۴۴۵۵/۲۴	۱۰۲۰/۵۹	۵۳۵/۳۹	۱۸۳۰/۶۵	۱۵۵۶/۹۶	DEHP
۰/۹۶	۶۸۱/۵۴	۳۱۰/۱۸	۱۵۷/۰۹	۱۲۸/۹۸	۱۸۲/۴۷	۶۸/۹۹	DnOP

جدول ۸: مقایسه دو به دو DEP بین طعم‌های مختلف

نمونه	تست آماری	استاندارد خطا	استاندارد تست آماری	معنی داری	تنظیم معنی داری
A-C	۰/۸۰۶	۱/۹۰۵	۰/۴۲۳	۰/۶۷۲	۱/۰
B-C	۸/۰	۲/۸۰۴	۲/۸۵۳	۰/۰۰۴	۰/۰۱۳
A-B	-۷/۱۹۴	۲/۵۷۹	-۲/۷۹۰	۰/۰۰۵	۰/۰۱۶

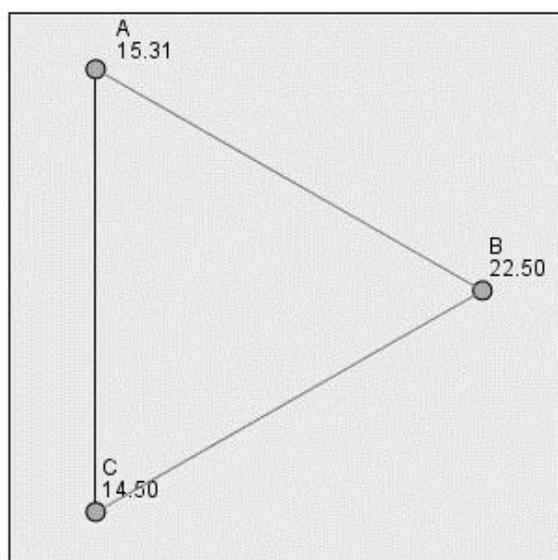
کروسکال والیس استفاده شد. به منظور مقایسه غلظت متغیرهای Total، DEHP و DBP بین طعم‌های مختلف از آنالیز واریانس یک‌طرفه استفاده گردید (جدول شماره ۷). نتایج

از آنجایی که استرهای فتالات DMP، DEP، BBP و DnOP از توزیع نرمالی برخوردار نبودند، بنابراین به منظور مقایسه غلظت آن‌ها بین طعم‌های مختلف، از آزمون ناپارامتری

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 سایزها تأکید کردند^{۱۹}. علاوه بر آن EPA نیز دو مجموعه از قوانین را در مورد آلاینده های شیمیایی آب های نوشیدنی تصویب کرده است (شایان ذکر است از آنجایی که برای استرهای فتالات موجود در نوشابه هیچ استاندارد ملی و بین المللی وجود ندارد، بنابراین در این پژوهش از استانداردهای موجود در آب معدنی استفاده می شود): الف) حداکثر میزان آلاینده هدف Maximum contaminant level (MCLG): این هدف بهداشتی غیر قابل اجرا، صرفاً بر اساس خطرات بهداشتی احتمالی در اثر مواجهه بیش از یک طول عمر با حاشیه ایمنی کافی تعیین می شود. در مورد آلاینده های آب های نوشیدنی، کمتر از میزان مشخص شده و یا کمتر از ریسک سلامتی احتمالی می باشد و ب) حداکثر میزان آلاینده Maximum contaminant level (MCL) که همان حداکثر مقدار مجاز آلاینده در آب های نوشیدنی می باشد، یک استاندارد اجباری و قابل اجرا است. به جز دی اتیل هگزیل فتالات، در مورد دیگر فتالات ها میزان MCL در آب های آشامیدنی تعیین نشده است. بر اساس قوانین EPA، در مورد دی اتیل هگزیل فتالات، MCLG برابر با صفر می باشد و حداکثر سطح مجاز دی اتیل هگزیل فتالات در آب های نوشیدنی ۶ میکروگرم در لیتر تعیین شده است^{۲۰}. WHO اتحادیه اروپا، سقف مجاز ۸ میکروگرم در لیتر را در آب های نوشیدنی تعیین کرده اند^{۲۱، ۲۲}. مقامات ایمنی مواد غذایی اروپا European Food Safety Authority panel (EFSAP) نیز حد قابل تحمل دریافت روزانه (TDA) را برای بوتیل بنزیل فتالات، دی بوتیل فتالات و دی اتیل هگزیل فتالات به ترتیب ۵۰۰ و ۱۰،۵۰۰ $\mu\text{g/kg/bw/d}$ تعیین کرده اند^{۲۳}. در حالی که مقادیر مواجهه پایین تری برای گروه های حساس (جنین، نوزادان) پیشنهاد می شود^{۲۴}.

حاصل از آزمون های آماری حاکی از آن بود که غلظت های DEP استرهای فتالات بین طعم های مختلف از اختلاف معناداری برخوردار بودند. با توجه به معنادار شدن غلظت های DEP به مقایسه دو به دو هر یک از آنها نیز پرداخته شده و همچنین نموداری از این اختلافات به نمایش درآمده است. نتایج حاصل از آزمون های آماری حاکی از آن بود که در سطح خطای ۵ درصد برای غلظت DEP بین طعم های A و B و نیز بین طعم های B و C اختلاف معناداری وجود داشته است (جدول شماره ۸). چنانچه در شکل شماره ۴ نیز این اختلافات به نمایش درآمده اند. قابل ذکر است که هر رأس این نمودار نشان دهنده میانگین رتبه ای DEP در آن طعم می باشد.

Pairwise Comparisons of Taste



شکل ۴: نمایش اختلافات دو به دو در غلظت استر فتالات DEP

بحث و نتیجه گیری

عکس های گرفته شده توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی و انتقالی ساخت جاذب کربن نانوتیوب چند جداره (MWCNTs) بهینه شده 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

معنی داری مشاهده نشده است. بالاترین میزان میانگین کل فتالات ها نیز در طعم پرتغالی مشاهده شد که می تواند ناشی از اسیدپته بالا در این طعم باشد. اسیدپته بالا، انحلال پذیری فتالات را در نمونه مورد بررسی افزایش خواهد داد. لازم به ذکر است که در مجموع بین طعم های مختلف با میزان استرهای فتالات اختلاف معنی داری مشاهده نشد.

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان می دهد بیشترین میزان فتالات موجود در نوشابه مربوط به BEP یا DEHP است که از بین سایر فتالات ها خطرناک تر و مضرتر هستند. ولی میزان میانگین کل آن، از استانداردهای موجود خیلی پایین تر است. بنابراین استفاده از نوشابه با طعم ها، اندازه ها و در بازه های زمانی مختلف، مشکلی برای سلامت افراد جامعه ایجاد نکرده و نوشابه های کربناته بطری شده در پلی اتیلن ترفتالات از نظر مهاجرت ترکیبات مذکور ایمن می باشند و خطری برای انسان ایجاد نمی کند. نکته ای 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 سوئی 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 ۹۳-۰۲-۲۷-۲۵۸۲۶ 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.

پلی اتیلن ترفتالات، گسترده ترین ماده مورد استفاده برای بسته بندی مایعات است که به دلیل ویژگی های فیزیکی مناسبی که دارد، جایگزین ظروف شیشه ای شده است. اگرچه مقررات کمیسیون اروپا استفاده از استرهای فتالات را در بسته بندی های مواد غذایی مجاز ندانسته^{۲۵}، ولی این مواد در بسته بندی های پلی اتیلن تری فتالات و نوشیدنی های کربناته تشخیص داده شده اند. بر اساس اطلاعات به دست آمده از پژوهش حاضر، در تمامی نمونه ها میزان DnOP، DEP، DBP، BBP، DMP از حد استانداردها بود، ولی در یک نمونه مقدار DEHP، از حدود استاندارد تعریف شده توسط EPA، WHO و EU فراتر می باشد (۶۰ ng/L / ۹۳۰۱)، از آنجایی که 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 اندازه گیری، آلودگی نمونه ها و نیز آلودگی ستون GC را نیز می توان مدنظر قرار داد. در مطالعه مشابه ای که Yan-Bo Luo و همکاران بر روی دو نوع نوشیدنی های کربناته انجام دادند، میزان DEHP و نیز DMP بالاتر از حدود استاندارد بود و تحقیق مشابه دیگر که توسط Qihua Wu و همکاران روی نوشابه نوع کولا انجام دادند، برای تمامی نمونه ها زیر استاندارد گزارش شده کردند^{۱۸}. در مطالعه مشابه ای که خانم زارع جدی و همکاران در سال ۲۰۱۴ روی زمان نگهداری و نیز شرایط مختلف نگهداری در آب های معدنی انجام دادند، نیز نتایج مشابه ای به دست آمد به طوری که بالاترین میزان مربوط به DEHP بوده ولی در مجموع میزان استرهای فتالات در تمامی نمونه ها کمتر از حدود استاندارد بودند^۷.

با توجه به نتایج به دست آمده در ۳ برند مورد مطالعه، بیشترین میزان میانگین غلظت فتالات ها مربوط به برند A و ماده ی DEHP بوده است که یک برند خارجی می باشد. ولی در مجموع، بین میزان فتالات و برندهای مختلف اختلاف

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, Ahmadvani 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 Fe₂O₃/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, Voutsas 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 Hoek 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, Ahmadvani 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.

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

Mojtaba Moazzen¹, Noushin Rastkari², Mahmood Alimohammadi¹, Nabi Shariatifar¹,
Reza Ahmadkhaniha³, Shahrokh Nazmara¹, Arash Akbarzadeh⁴, Ali Azari¹,
Ramin Nabizadeh¹, 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 Fe₃O₄. Deposition of Fe₃O₄ 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.