

ارزیابی خطر سرطان‌زایی و غیر سرطان‌زایی مواجهه با استرهای فتالات از طریق مصرف آب‌های بطری شده در طول زمان نگهداری

مریم زارع جدی^۱، نوشین راستکاری^۲، رضا احمدخانیها^۳، محمود علی محمدی^۴، مسعود یونسیان^{۵*}

تاریخ دریافت: ۹۳/۰۶/۲۹ تاریخ پذیرش: ۹۳/۰۹/۲۶

چکیده

زمینه و هدف: اخیراً، احتمال مواجهه با مواد شیمیایی موجود در جدار بطری‌های پلی اتیلن ترفتالات از طریق مصرف آب‌های بطری شده، نگرانی‌هایی را در مصرف‌کنندگان ایجاد کرده است. یک دسته از این ترکیبات استرهای فتالات نام دارند که برخی از آنها به عنوان ترکیب‌های سرطان‌زا (دی اتیل هگزیل فتالات) و مختل‌کننده‌های غدد درون ریز (دی اتیل هگزیل فتالات، دی بوتیل فتالات و بوتیل بنزیل فتالات) در انسان شناخته می‌شوند. هدف اصلی مطالعه، تعیین تاثیر زمان ماندگاری بر آزادسازی استرهای فتالات در آب‌های بطری شده از زمان تولید تا تاریخ انقضا به مدت یک سال است.

روش بررسی: نمونه‌ها بعد خریداری در شرایط توصیه شده بر روی برجسب محصول در دمای اتاق و به دور از نور خورشید نگهداری گردیدند و سپس میزان آزادسازی استرهای فتالات در زمان‌های مورد نظر توسط میکرو استخراج با فاز جامد و کروماتوگرافی گازی با دکتور جرمی اندازه‌گیری شد. در نهایت ارزیابی خطر مواجهه با ترکیبات مورد نظر برای کل جامعه و گروه‌های حساس (کودکان پیش از سن مدرسه و زنان باردار و شیرده) از طریق محاسبه میزان دریافت روزانه از طریق آب و محاسبه ضریب خطر و ریسک سرطان اضافی صورت گرفت.

یافته‌ها: نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که زمان از پارامترهای تاثیرگذار بر افزایش میزان مهاجرت استرهای فتالات از جدار بطری‌ها به درون آب است. به طوری که با گذشت زمان غلظت هر سه ترکیب دی اتیل هگزیل فتالات، دی بوتیل فتالات و بوتیل بنزیل فتالات در آب افزایش می‌یابد و بعد از ۱۲ ماه نگهداری غلظت فتالات‌های مختل‌کننده غدد درون ریز نسبت به هفته اول تولید به ترتیب ۸/۱۱۱، ۲/۲۵۴۵ و ۲۳۲ درصد بیشتر شده است. با این حال، در کل در تمامی زمان‌های مختلف نگهداری میزان دی اتیل هگزیل فتالات از حد مجاز تعیین شده توسط EPA ($6\mu\text{g/L}$) تجاوز نکرده و تا رسیدن به این میزان نیز فاصله زیادی وجود داشت. ضریب خطر عوارض غیر سرطان‌زایی محاسبه شده ناشی از این مواجهه (در تمامی گروه‌های هدف در محدوده ۰/۰۰۵ الی $0/02\mu\text{g/KgBW}$) به تنهایی از طریق مصرف آب‌های بطری شده در تمامی گروه‌ها کم و قابل چشم‌پوشی است (ضریب خطر >1). علاوه بر این، ریسک سرطان اضافی ناشی از حضور دی اتیل هگزیل فتالات در آب‌های بطری شده نیز ناچیز و قابل چشم‌پوشی است ($9/9 \times 10^{-7}$).

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج بدست آمده به نظر می‌رسد که استفاده از آب‌های بطری شده به عنوان یک منبع مواجهه خطرناک با استرهای فتالات مطرح نبوده و استفاده از آنها از این نظر تهدیدی برای سلامت افراد جامعه محسوب نمی‌گردد.

واژگان کلیدی: ارزیابی خطر، استرهای فتالات، آب‌های بطری شده، کودکان پیش از سن مدرسه، زنان

۱- پژوهشکده محیط زیست، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۲- گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۳- مرکز تحقیقات آلودگی هوا، پژوهشکده محیط زیست، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۴- گروه اکولوژی انسانی، دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۵- (نویسنده مسئول): مرکز تحقیقات کیفیت آب، پژوهشکده محیط زیست، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

yunesian@tums.ac.ir

مقدمه

مؤلفه‌هایی چون رشد بی‌رویه و روزافزون جمعیت، ارتقاء سطح فرهنگ و در نتیجه بالا رفتن مصرف سرانه، آلودگی ناشی از توسعه پایدار و گسترش فعالیت‌های صنعتی و غیره همگی موجب گردیده‌اند که آب به مهمترین چالش انسان‌ها تبدیل و تامین آب مورد نیاز جوامع بشری به عنوان اولین دغدغه کشورهای جهان محسوب گردد. از سوی دیگر هزینه تامین آب سالم نیز به دلایلی نظیر گسترش آلودگی منابع آب و فاصله گرفتن منابع مناسب آب از مراکز جمعیتی و افزایش هزینه‌های اجرای طرح‌های مهندسی، دارای روند صعودی است. لذا با عنایت به محدودیت منابع آب در جهان و مؤلفه‌های فوق‌الذکر، یکی از مهمترین اولویت‌های اجرایی در کشورهای پیشرفته و نیمه پیشرفته، استفاده بهینه از منابع آب قابل شرب از طریق جایگزین نمودن روش‌های نوین تامین آب از جمله استفاده از صنایع آب بسته‌بندی به جای شبکه توزیع آب شهری است، به گونه‌ای که اکنون در بسیاری از کشورهای جهان آب موجود در شبکه توزیع شهری تنها در مصارف بهداشتی و شستشو مورد استفاده قرار گرفته و آب شرب مورد نیاز مردم با استفاده از آب بسته‌بندی تامین می‌گردد که این امر نه تنها موجب صرفه‌جویی در مقیاس بالا در هزینه‌های مرتبط با عملیات تصفیه و گندزدایی آب با هدف شرب می‌شود، بلکه با عنایت به فرسودگی شبکه‌های توزیع و احتمال بروز بحران از طریق نشت انواع آلودگی به سیستم، موجب افزایش ضریب ایمنی در نزد مصرف‌کنندگان نیز شده است و امروزه آب بطری شده به عنوان یک کالای ضروری برای جامعه بین‌المللی مطرح است (۱). بنابراین، علاوه بر پیاده‌سازی روش‌های مختلف بهداشتی در طول تولید و بسته‌بندی آب بطری شده، مانند نظافت تجهیزات و نگهداری صحیح ترکیبات بسته‌بندی، دقت ویژه‌ای باید در نگهداری و انتقال محصول نهایی نیز صورت گیرد (۲-۴). با گسترش روزافزون دانش بشری و پیشرفت در صنعت پلاستیک‌سازی امروزه پوشش پلیمر پلی اتیلن ترفتالات (PET) به دلیل ویژگی‌های منحصر به فردی که در زمینه عدم نفوذ گازها و سایر عوامل محیطی به داخل بسته‌بندی

دارد و نیز حمل و نقل آسان و مقاومت در برابر شکستگی به طور گسترده جهت بسته‌بندی مواد غذایی مختلف به خصوص آب و سایر نوشیدنی‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. استرهای فتالیک اسید که به طور متداول به آنها فتالات گفته می‌شود ترکیبات صنعتی هستند که ساختار شیمیایی متداول آنها دی آلکیل یا آلکیل/آریل استر از ۱،۲- بنزن دیکربوکسیلیک اسید (1,2- benzenedicarboxylic acid) با وزن مولکولی کم هستند که شامل دی متیل فتالات، دی اتیل فتالات، دی ان بوتیل فتالات، بوتیل بنزیل فتالات، دی اتیل هگزیل فتالات و دی ان اکتیل فتالات هستند (۵، ۶).

اگرچه بدلیل تاثیر منفی ناشی از نام پلیمر پلی اتیلن ترفتالات در ذهن بسیاری از مردم، تصور می‌شود که استرهای فتالات به عنوان بخشی از این پلیمر باشند، لیکن لازم به ذکر است که ظروف پلی اتیلن ترفتالات از لحاظ شیمیایی و فیزیکی به گروه‌های شیمیایی استرهای فتالات متصل نبوده و ساختار شیمیایی آنها متفاوت است. فتالات‌ها به عنوان پلاستی سایزر (نرم‌کننده) در ساختمان پلی اتیلن ترفتالات کاربرد ندارند و ممکن است به دلیل پراکندگی بالا در محیط، این ترکیبات به صورت افزودنی غیرعمدی در ساختمان پلیمر حضور داشته باشند. لذا فتالات‌ها بصورت کوآلانت یا شیمیایی با پلیمر باند نشده و ممکن است تحت شرایط مختلف در طول زمان از جدار مواد پلاستیکی شسته شده و وارد مواد در تماس با آنها شوند و باعث ایجاد مخاطراتی برای سلامت انسان‌ها و محیط زیست شوند (۷-۹).

پروفایل سمی استرهای فتالات موجب شده است که مطالعات زیادی در زمینه تاثیرات منفی آنها بر سلامت انسان صورت پذیرد. برخی از استرهای فتالات توانایی ایجاد اختلال در غدد درون ریز بدن را دارند به طوری که دی اتیل هگزیل فتالات، دی بوتیل فتالات و بوتیل بنزیل فتالات بر اساس طبقه‌بندی صورت گرفته توسط انستیتو سلامت و محیط آمریکا (Institute for Environment and Health (IER)) در گروه ۱ (ترکیباتی که توانایی ایجاد اختلال در غدد درون ریز و متابولیسم بدن را دارند و مواجهه با آنها نگران‌کننده

استفاده از مواد شیمیایی است. REACH همچنین با ترویج رقابت و نوآوری در جهت استفاده از مواد ایمن تر سعی در حفظ سلامت انسان در سطح بالایی دارد. در طبقه‌بندی ترکیبات شیمیایی REACH استرهای فتالات شامل بوتیل بنزیل فتالات، دی بوتیل فتالات و دی اتیل هگزیل فتالات در لیست مواد بسیار خطرناک و سمی برای سیستم تولید مثل (B 1) قرار دارند (۲۰).

طبق آنچه که در منابع ذکر شده است گذشت زمان تاثیر مستقیم بر میزان آزادسازی ترکیبات به درون مواد غذایی بسته‌بندی شده دارد (۷، ۲۱-۲۳). لذا در این مطالعه میزان آزادسازی استرهای فتالات در طول زمان مجاز مصرف (یک سال) به منظور بررسی میزان حضور ترکیبات مورد نظر در آب‌های بطری شده در زمان‌های مختلف در طول مدت نگهداری در انبارها طبق شرایط درج شده بر روی برچسب محصول مورد بررسی گردید. همچنین برای بررسی ایمن بودن مصرف آب‌های بطری شده ارزیابی خطر ناشی از آن در گروه‌های آسیب پذیر مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

الف- تهیه و آماده سازی نمونه‌ها

از میان برندهای تجاری موجود در بازار بر اساس مطالعه میدانی از میزان فروش و توزیع در سطح کشور و با عنایت به اظهارات مدیر انجمن تولید کنندگان و صادر کنندگان آب‌های معدنی و آشامیدنی ایران ۶ برند پر مصرف که به طور مداوم در تمام فصول سال نیز موجود هستند، انتخاب شدند. برای تهیه به شرکت‌های تولید کننده سفارش داده شد بنابراین آب‌های بطری شده در اولین روزهای تولید به طور مستقیم از نمایندگی کارخانجات مربوطه خریداری گردید تا هم در زمان صفر واقعی مقادیر استرهای فتالات اندازه‌گیری شوند و هم از یکسان بودن شرایط نگهداری آب‌های بطری شده منطبق با مراحل اجرای مطالعه اطمینان حاصل شود و بدین ترتیب بتوان تاثیر شرایط نگهداری بر روی میزان آزادسازی ترکیبات هدف را به خوبی دنبال نمود. در ادامه مطابق با اهداف مطالعه

است) جای می‌گیرند (۱۰). گمان می‌رود برخورد مزمن با این مواد در بروز انواع سرطان مرتبط با سیستم درون ریز بدن از جمله سرطان پستان در بانوان و سرطان پروستات در آقایان مؤثر باشد (۱۱). فتالات‌ها بواسطه رقابت با β -۱۷-استرادیول برای اتصال به گیرنده استروژن، موجب اختلال در سیستم درون ریز خانم‌ها می‌شوند (۱۲، ۱۳). این ترکیبات با اتصال به گیرنده‌های آندروژنی و رقابت با هورمون تستوسترون، باعث ایجاد اختلال در سنتز و فعالیت هورمون‌های مردانه (آنتی آندروژنیک) می‌شوند (۱۴). علاوه بر این اتصال این ترکیبات به گیرنده‌های هورمون تیروئید، باعث اختلال در متابولیسم بدن و ریتم قلبی می‌شود (۱۰، ۱۵). در دهه‌های اخیر پیامدهای عصبی-رفتاری مرتبط با اختلالات هورمونی ایجاد شده توسط استرهای فتالات نیز مورد توجه قرار گرفته است زیرا بر اساس فرضیه تکامل، هورمون‌های جنسی در رشد و توسعه مغز تاثیر می‌گذارند. به طوری که میان مواجهه با استرهای فتالات با وزن مولکولی پایین (دی بوتیل فتالات و دی اتیل فتالات) و بروز اختلالات رفتاری از قبیل اختلال در برقراری ارتباط اجتماعی، شناخت و آگاهی اجتماعی، نیز رابطه معنی‌داری مشاهده شده است (۱۶). علاوه بر این غلظت ادراری دی اتیل هگزیل فتالات در کودکان مبتلا به بیماری درخودماندگی (Autism) نیز به طور معنی‌داری بیشتر از کودکان سالم بوده است (۱۷).

سیستم‌های وابسته به مراجع قانون‌گذار در زمینه سلامت انسان مانند IARC (International Agency for Integrated Risk) IRIS و (Research on Cancer Information System) که سیستمی وابسته به سازمان حفاظت از محیط زیست آمریکا است از میان استرهای فتالات فقط دی اتیل هگزیل فتالات را در گروه ترکیبات احتمالا سرطان‌زا برای انسان (B2) طبقه‌بندی کرده‌اند (۱۸)، (۱۹). اتحادیه اروپا نیز در مورد ترکیبات شیمیایی و استفاده امن از آنها مرکزی را به نام REACH (Registration, Evaluation, Authorization and Restriction of Chemical substances) تشکیل داده است که هدف اصلی آن بهبود و ارتقاء آگاهی از حوادث و خطرات مرتبط با

1st Ramp: 15 °C/ min to 280 °C

Final temperature: 280 °C held for 4 min.

به منظور ارزیابی خطر ناشی از مواجهه با استرهای فتالات از طریق مصرف آب‌های بطری شده، اولین گام محاسبه میزان مواجهه افراد با ماده مورد نظر از طریق مصرف آب‌های بطری شده است. بدین جهت نیازمند دو دسته از اطلاعات هستیم: - میزان توصیه شده دریافت آب در روز بر اساس وزن بدن (برحسب لیتر در روز) - حداکثر غلظت ماده مورد نظر در آب (بر حسب میکروگرم در لیتر)

سپس با قرار دادن اطلاعات فوق در فرمول زیر میزان مواجهه با استرهای فتالات از طریق دریافت آب بر حسب وزن بدن **Estimated daily intake via drinking water** (EDI= $\mu\text{g}/\text{kg}$ body weight/day) محاسبه می‌گردد.

$EDI = MC \times \text{Water Consumption}$

در این فرمول:

Water Consumption = میزان توصیه شده دریافت آب در روز بر اساس وزن بدن (لیتر/کیلوگرم وزن بدن / روز)
MC (Maximum Concentration) = بیشینه غلظت ترکیبات مورد نظر در آب‌های بطری شده (میکروگرم بر لیتر)
 در ادامه به منظور محاسبه ریسک حاصل از مواجهه با استرهای فتالات از طریق مصرف آب‌های بطری شده در ایجاد عوارض غیر سرطان‌زایی ترکیبات مذکور از روش محاسبه ضریب خطر (**HQ (hazard quotient)**) استفاده می‌شود. ضریب خطر (**HQ**) نسبت میان میزان مواجهه با ترکیب مورد نظر از طریق مصرف آب‌های بطری شده و حدود مجاز دریافت استرهای فتالات از کلیه مسیرها است که از طریق فرمول ذیل محاسبه می‌گردد:

در این فرمول:

$$HQ = \frac{EDI}{RfD}$$

آب‌های بطری شده طبق شرایط توصیه شده کارخانه نگهداری شدند و نمونه‌های مورد نظر از نظر مهاجرت استرهای فتالات در بازه‌های زمانی مختلف به صورت زیر پایش شدند:
 - بررسی غلظت اولیه استرهای فتالات موجود در آب‌های بطری شده (نمونه شاهد)، بلافاصله بعد از خریداری از کارخانجات تولید کننده (در هفته اول تولید)
 - بررسی غلظت استرهای فتالات در آب‌های بطری شده بعد از نگهداری آنها از زمان تولید تا زمان انقضاء تعیین شده توسط کارخانه (شرایط نرمال درج شده بر روی برچسب بطری).
 در این مرحله سنجش و آنالیز غلظت ترکیبات مورد نظر در محتوای آب در روز پانزدهم (حداقل زمانی که آب بطری شده پس از تولید به دست مصرف کننده می‌رسد)، روز سی‌ام، روز چهل و پنجم، ماه ششم بعد از زمان تولید و ۱۲ ماه بعد از تولید (نزدیک به زمان انقضاء) توسط تکنیک میکرواستخراج فاز جامد (SPME) و گاز کروماتوگرافی با دتکتور جرمی (GC-MS) انجام شد.

ب- استخراج و اندازه‌گیری استرهای فتالات

به منظور استخراج آنالیت‌های مورد نظر توسط فیبر مقدار ۱۰ mL آب به همراه ۰/۱ g نمک NaCl و ۱۰ μL بنزول بنزوات (استاندارد داخلی) در ظروف نمونه با درب مخصوص ریخته شده و بعد از فیکس کردن درب ظرف فیبر توسط سرنگ مخصوص در فضای خالی بالای ظرف قرار گرفت سپس ظروف نمونه همراه با فیبر به مدت ۶۰ min در دمای ۸۰ °C قرار داده شد. بعد از گذشت این مدت سرنگ از درب ظرف خارج شده و داخل injector دستگاه کروماتوگرافی گازی دتکتور جرمی به مدت ۳ min با دمای ۲۵۰ °C قرار گرفت جهت آنالیز از ستون موئینه 30m, 0.25 DB-1 (mm id, 0.25 μm film thickness) و برنامه دمایی زیر استفاده گردید.

ج- ارزیابی خطر مواجهه با استرهای فتالات

Injector temperature: 250 °C

Carrier flow (He): 1.5 mL/min.

Initial column temperature: 80 °C held for 0.5 min.

نرمال توسط تست فریدمن انجام گرفت. $P < 0/05$ به عنوان حد معنی داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

مقادیر شش استر فتالات متداول (مطابق جدول شماره ۱) در ابتدای مطالعه بلافاصله پس از تهیه و جمع‌آوری نمونه‌ها از مراکز فروش اصلی و قبل از قرار گرفتن در شرایط مورد نظر اندازه‌گیری شد. میانگین غلظت دی اتیل هگزیل فتالات و دی بوتیل فتالات به عنوان دو دسته از مختل‌کننده‌های غدد درون ریز در نمونه‌های مورد نظر به ترتیب برابر با $0/217 \mu\text{g/L}$ و $0/069$ بود. بوتیل بنزیل فتالات به عنوان دسته‌ای دیگر از ترکیبات مختل‌کننده غدد درون ریز در نمونه‌های شاهد شناسایی نشد.

مدت زمان مجاز مصرف آب‌های بطری شده از سوی مراجع قانون‌گذار یک سال تعریف شده است ولی تاکنون مطالعه‌ای در زمینه بررسی آزادسازی استرهای فتالات در طول مدت نگهداری از زمان تولید تا انقضا صورت نگرفته است؛ لذا در این مطالعه سعی بر آن شد که آب‌های بطری شده را کاملاً مطابق با توصیه‌های درج شده روی برچسب بطری نگهداری کرده و به منظور تعیین اثر بخشی این متغیر در طول این مدت از زمان رسیدن محصول به دست مصرف‌کننده (حداقل روز پانزدهم) تا پایان زمان درج شده بر روی برچسب بطری (۱۲ ماه بعد از تاریخ تولید) آزادسازی استرهای فتالات در پنج بازه زمانی اندازه‌گیری شد و نتایج مربوط به آن در جدول ۱ گزارش شده است. بطری‌ها به مدت یک سال از زمان صفر تولید تا زمان رسیدن به تاریخ انقضا درج شده بر روی برچسب بطری در جای تاریک و به دور از نور خورشید نگهداری شدند و بعد از ۱۲ ماه نگهداری، شاهد افزایش تدریجی غلظت دی اتیل هگزیل فتالات در نمونه‌های مورد نظر با میانگین غلظت $0/156-2/110 \mu\text{g/L}$ و در رنج غلظتی $0/997 \pm 0/637$ بودیم.

Estimate daily intake via drinking water (EDI:)
 $\text{EDI} (\mu\text{g/kg body weight/ day}) = \text{میزان مواجهه با استر فتالات از طریق مصرف آب (میکروگرم/کیلوگرم وزن بدن/ روز)}$

IRIS RfD chronic non-carcinogenic effect)
 $\text{RfD (risk (RfD, } \mu\text{g/kg bw/day))} = \text{میزان مجاز مواجهه روزانه با استرهای فتالات بدون ایجاد عوارض غیر سرطان‌زایی در انسان از همه منابع و مسیرهای مواجهه است (میکروگرم/کیلوگرم وزن بدن/ روز). این حد برای دی اتیل هگزیل فتالات برابر با } 20 \mu\text{g/kg bw/day}$ ، برای دی بوتیل فتالات $100 \mu\text{g/kg bw/day}$ و برای بوتیل بنزیل فتالات برابر با $200 \mu\text{g/kg bw/day}$ است.

از میان استرهای فتالات تنها دی اتیل هگزیل فتالات در دسته ترکیبات احتمالاً سرطان‌زا برای انسان طبقه‌بندی می‌شوند. لذا با توجه به این موضوع در این مطالعه ریسک سرطان اضافی ناشی از حضور بیشینه مقدار دی اتیل هگزیل فتالات در آب‌های بطری شده با استفاده از فرمول ذیل محاسبه می‌گردد.

$$\text{ELCR} = \text{Drinking Water Unit Risk} \times \text{MC}$$

در این فرمول:

ELCR (Excess Lifetime Cancer Risks) = ریسک سرطان اضافی بر اثر مواجهه با مواد شیمیایی از طریق مصرف آب‌های بطری شده (بدون واحد)

Drinking Water Unit Risk = ریسک واحد تعریف شده به ازای هر میکروگرم دی اتیل هگزیل فتالات موجود در یک لیتر آب. این مقدار به ازای هر واحد دی اتیل هگزیل فتالات در آب برابر با $4/7 \times 10^{-7} \mu\text{g/L}$ آب است.

MC = بیشینه غلظت دی اتیل هگزیل فتالات در آب‌های بطری شده بر حسب میکروگرم بر لیتر

ه- تجزیه و تحلیل آماری

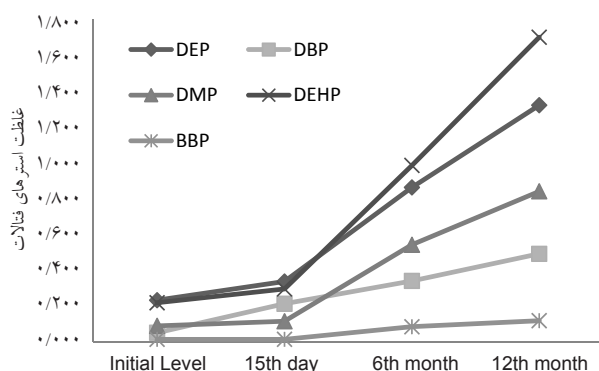
تجزیه و تحلیل نتایج با استفاده از نرم افزار آماری SPSS ویرایش ۲۰ و انجام آزمون‌های ناپارامتری به دلیل عدم توزیع

جدول ۱- مقادیر میانگین و انحراف معیار غلظت‌های استرهای فتالات ($\mu\text{g/L}$) در آب‌های بطری شده در طول زمان مجاز مصرف

شاخص	روز پانزدهم	روز سی ام	روز چهل و پنجم	ماه ششم	ماه دوازدهم	P-value
DEP	0.335 ± 0.200	0.454 ± 0.334	0.480 ± 0.336	0.860 ± 0.435	1.318 ± 0.482	0.002
DBP	0.211 ± 0.317	0.155 ± 0.153	0.173 ± 0.153	0.338 ± 0.158	0.490 ± 0.176	0.030
DMP	0.113 ± 0.057	0.219 ± 0.191	0.237 ± 0.193	0.540 ± 0.245	0.838 ± 0.214	0.002
DEHP	0.294 ± 0.149	0.529 ± 0.292	0.601 ± 0.359	0.982 ± 0.159	1.697 ± 0.390	0.002
BBP	n.d.	0.025 ± 0.025	0.032 ± 0.031	0.083 ± 0.015	0.117 ± 0.026	0.002
DnOP	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	-

nd: not detected.

DEP: Diethyl phthalate; DBP: Dibutyl phthalate; DMP: Dimethyl phthalate; DEHP: Diethylhexyl phthalate; BBP: Benzyl butyl phthalate; DnOP: Di-n-octyl phthalate



شکل ۱- میانگین افزایش غلظت استرهای فتالات در طول زمان نگهداری (میکروگرم بر لیتر)

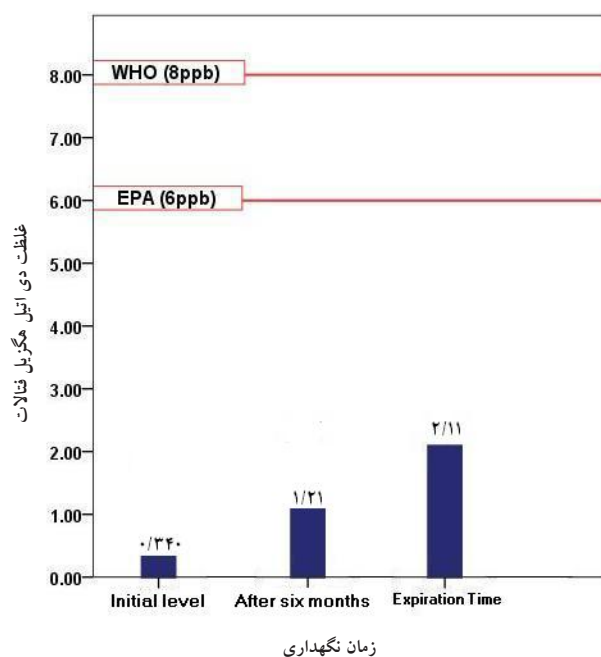
غلظت سایر استرهای فتالات نیز در طول دوران نگهداری روند صعودی داشته و با افزایش زمان ماند غلظت آنها افزایش یافته است و بعد از ۳۶۵ روز به بیشترین حد خود رسید (شکل ۱). درصد افزایش استرهای فتالات در پایان دوره مصرف نسبت به غلظت اولیه استرهای فتالات در روز اول تولید (نمونه شاهد) به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش یافته است به طوری که این افزایش برای دی اتیل هگزیل فتالات در روز پانزدهم، ماه ششم و ماه دوازدهم به ترتیب برابر با ۳۳/۴، ۴۳۳/۲ و ۸۱۱/۸ برابر نسبت به سطح اولیه آنها در آب بطری شده (نمونه شاهد) است (جدول ۲).

جدول ۲- درصد افزایش استرهای فتالات در سه دوره زمانی (ابتدا، میانه و پایان مصرف) نسبت به گروه کنترل (غلظت اولیه فتالات ها در روز صفر تولید).

زمان نگهداری	زمان نگهداری		
	روز پانزدهم	ماه ششم	ماه دوازدهم
DEP	۶۴/۴	۳۴۲/۳	۵۸۸/۰
DBP	۲۶۳/۸	۱۵۷۶/۷	۲۵۴۵/۲
DEHP	۳۳/۴	۴۳۳/۲	۸۱۱/۸
DMP	۶۲/۲	۹۸۲/۵	۱۴۲۹/۱
BBP	۰/۰	۵۶۲/۶	۸۳۲/۰

از آنجا که کودکان و زنان باردار و شیرده نسبت به مواجهه با ترکیبات شیمیایی در مقایسه با سایر گروه‌های جامعه آسیب پذیرتر هستند، ارزیابی خطر مواجهه با ترکیبات مختل کننده غدد درون ریز موجود در آب‌های بطری شده در این گروه‌های جمعیتی صورت گرفت. لذا در این مطالعه برای اولین بار به منظور تعیین میزان مواجهه افراد با استرهای فتالات از طریق مصرف آب‌های بطری شده به جای آب لوله‌کشی از روش ارزیابی مواجهه و محاسبه $hazard\ quotient\ (HQ)$ استفاده شد. بدین ترتیب که پس از اندازه‌گیری سطح استرهای فتالات در آب‌های بطری شده، به منظور ارزیابی خطر مواجهه با این ترکیبات از طریق آب آشامیدنی، میزان مواجهه روزانه با استرهای فتالات بر اساس میزان دریافت روزانه آب محاسبه گردید. همانطور که در جدول ۳ نشان داده شده است بیشترین میزان دریافت روزانه بر حسب وزن بدن به ترتیب در زنان شیرده و کودکان قبل از سن مدرسه مشاهده گردید. اما با محاسبه ضریب خطر موجود مشاهده گردید که سهم مواجهه با استرهای فتالات از طریق مصرف آب به قدری کم است که قابل چشم‌پوشی است ($HQ < 1$). بیشترین و کمترین ضریب خطر محاسبه شده به ترتیب در رابطه با دی اتیل هگزیل فتالات در زنان شیرده ($HQ = 0/01$) و بوتیل بنزیل فتالات در زنان بالغ ($HQ = 0/000025$) مشاهده گردید. علاوه بر این ریسک سرطان اضافی ناشی از حضور دی اتیل هگزیل فتالات در آب‌های بطری شده بر اساس بیشینه غلظت این ترکیب در آب‌های بطری شده ناچیز و قابل چشم‌پوشی است (جدول ۳).

در بازه‌های زمانی مختلف میانگین غلظت استرهای فتالات تفاوت معنی داری با گذشت زمان داشتند ($P < 0/002$) و این رابطه به صورت افزایشی بوده است. حداکثر میزان مجاز آلاینده (MCL (Maximum contaminant level)) در آب‌های نوشیدنی توسط سازمان جهانی بهداشت و سازمان حفاظت از محیط زیست تنها برای دی اتیل هگزیل فتالات تعریف شده است ($8\ \mu g/L$ و $6\ \mu g/L$). غلظت DEHP در تمام نمونه‌ها کمتر از حد مجاز استاندارد تعیین شده در EPA ($6\ \mu g/L$) و WHO ($8\ \mu g/L$) بود و همانطور که در شکل ۲ نشان داده شده است بیشینه غلظت دی اتیل هگزیل فتالات بعد از ۱۲ ماه نگهداری به $2/11\ \mu g/L$ رسید که این میزان بسیار کمتر از حد مجاز اعلام شده است و تا رسیدن به این حد نیز فاصله زیادی وجود دارد (شکل ۲).



شکل ۲- تفاوت میان بیشینه غلظت دی اتیل هگزیل فتالات (برحسب میکروگرم بر لیتر) در روز اول تولید آب‌های بطری شده با میان و پایان دوره مصرف و مقایسه آن با حد مجاز اعلام شده توسط EPA و WHO ($6\ \mu g/L$ و $8\ \mu g/L$).

جدول ۳: ارزیابی خطر حاصل از مواجهه با بیشینه غلظت استرهای فتالات در آب‌های بطری شده

بوتیل بنزیل فتالات	دی بوتیل فتالات	دی اتیل هگزیل فتالات	بیشینه غلظت ($\mu\text{g/L}$)
۰/۱۶	۰/۸۳	۲/۱۱	
میزان دریافت روزانه (EDI)			
۰/۰۱	۰/۰۶	۰/۱۶	کودکان پیش از سن مدرسه (۱-۶ سال)
۰/۰۰۶	۰/۰۳۳	۰/۰۹	نوجوانان
۰/۰۰۵	۰/۰۳	۰/۰۷	زنان
۰/۰۰۷	۰/۰۳۳	۰/۰۸	زنان باردار
۰/۰۰۲	۰/۰۸	۰/۲	زنان شیرده
۰/۰۰۷	۰/۰۳۵	۰/۰۹	مردان
ضریب خطر (HQ)			
۰/۰۰۰۰۵	۰/۰۰۰۰۶	۰/۰۰۰۸	کودکان پیش از سن مدرسه (۱-۶ سال)
۰/۰۰۰۰۳	۰/۰۰۰۰۳۳	۰/۰۰۰۴۵	نوجوانان
۰/۰۰۰۰۲۵	۰/۰۰۰۰۳	۰/۰۰۰۳۵	زنان
۰/۰۰۰۰۳۵	۰/۰۰۰۰۳۳	۰/۰۰۰۴	زنان باردار
۰/۰۰۰۰۱	۰/۰۰۰۰۸	۰/۰۱	زنان شیرده
۰/۰۰۰۰۳۵	۰/۰۰۰۰۳۵	۰/۰۰۰۴۵	مردان
ریسک سرطان اضافی (ELCR)			
-	-	$9/9 \times 10^{-7}$	

بحث

پلی اتیلن ترفتالات گسترده ترین ماده مورد استفاده برای بسته‌بندی مایعات است که به دلیل ویژگی‌های فیزیکی مناسبی که دارد جایگزین ظروف شیشه‌ای شده است. اگرچه مقررات کمیسیون اروپا (۲۴) استفاده از استرهای فتالات را در بسته‌بندی‌های مواد غذایی مجاز ندانسته ولی فتالات‌ها در بسته‌بندی‌های پلی اتیلن ترفتالات و آب‌های بطری شده در مطالعات مختلف شناسایی شده‌اند. مطالعات صورت گرفته احتمال مهاجرت استرهای فتالات را در بازه‌های زمانی مختلف بررسی نموده‌اند ولی تاکنون در هیچ مطالعه‌ای مدت زمان ماندگاری محصول به مدت یک سال از نظر مهاجرت استرهای

فتالات و ایمن بودن محصول در پایان زمان انقضا مورد بررسی قرار نگرفته است. در این مطالعه برای محدود کردن کلیه متغیرهای مخدوش کننده همه نمونه‌ها از یک رده تولید در زمان صفر تولید خریداری شدند و قبل از اینکه نمونه‌های تهیه شده در شرایط‌های مختلف نگهداری قرار داده شوند به منظور تعیین اثر بخشی شرایط نگهداری بر آزادسازی استرهای فتالات، از هر برند یک نمونه از نظر حضور اولیه استرهای فتالات بررسی شد. نتایج حاکی از پایین بودن میانگین غلظت استرهای فتالات (دی بوتیل فتالات، دی اتیل فتالات، دی متیل فتالات و دی اتیل هگزیل فتالات) در آب‌های بطری

خود اختصاص داده است و ترتیب میانگین غلظت استرهای فتالات به صورت ذیل است:

DEHP>DEP>DBP>DMP>BBP

Leivadara و همکاران گزارش کردند که غلظت دی اتیل هگزیل فتالات در آب‌های بطری شده که در دمای 24°C در جای تاریک به مدت ۳ ماه نگهداری شدند از غلظت کمتر از 0.5 به $2 \mu\text{g/L}$ افزایش یافت (۲۱). درصد افزایش میانگین غلظت فتالات‌ها به مدت یک سال در بازه‌های زمانی مختلف نسبت به گروه کنترل نیز تایید کننده اثر زمان در افزایش غلظت استرهای فتالات است.

قابل ذکر است که دی ان اکتیل فتالات (DnOP) در هیچ کدام از نمونه‌ها یافت نشد و بوتیل بنزیل فتالات (BBP) نیز در نمونه‌های شاهد و نیز نمونه‌های نگهداری شده به مدت ۱۵ و ۳۰ روز حضور نداشت لیکن با گذشت زمان غلظت‌های کمی از آن در بازه‌های زمانی بعدی مشاهده گردید و بعد از یک سال نگهداری در دمای 25°C بیشترین غلظت آن به ترتیب به $0.16 \mu\text{g/L}$ رسید.

ارزیابی خطر محاسبه شده نشان داد که در گروه‌های مختلف مورد مطالعه زنان شیرده و کودکان قبل از سن مدرسه (۱-۶ سال) بیشترین مواجهه با استرهای فتالات را از طریق مصرف آب‌های بطری شده را دارند ولی نتایج حاصل از محاسبه ضریب خطر نشان داد که این سطح از حضور استرهای فتالات در آب‌های بطری شده خطری را متوجه افراد مصرف کننده خصوصاً گروه‌های آسیب‌پذیر نمی‌نماید.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که زمان نگهداری در افزایش میزان آزادسازی استرهای فتالات از جدار بطری‌ها موثر است. ولی غلظت دی اتیل هگزیل فتالات بدست آمده در این مطالعه بسیار پایین‌تر از حد مجاز اعلام شده توسط EPA و WHO در آب‌های آشامیدنی بود و تا رسیدن به این حد نیز فاصله زیادی وجود داشت. با توجه به نتایج بدست آمده و ارزیابی میزان مواجهه در

شده بود. بر اساس نتایج حاصل از ارزیابی اثرات سمی فتالات‌ها مخصوصاً 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 سایزها تاکید کردند. علاوه بر آن سازمان حفاظت از محیط زیست آمریکا (EPA) نیز دو مجموعه از قوانین را در مورد آلاینده‌های شیمیایی در آب‌های نوشیدنی تصویب کرده است: ۱. حداکثر میزان آلاینده هدف (MCLG(Maximum contaminant level)) (goals): 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 می‌شود. در مورد آلاینده‌های آب‌های نوشیدنی کمتر از میزان مشخص شده و یا کمتر از ریسک سلامتی احتمالی است، و ۲. حداکثر میزان آلاینده (MCL(Maximum contaminant level)) که همان حداکثر مقدار مجاز آلاینده در آب‌های نوشیدنی است، یک استاندارد اجباری و قابل اجرا است. به جز دی اتیل هگزیل فتالات، در مورد دیگر فتالات‌ها میزان MCL در آب‌های آشامیدنی تعیین نشده است. بر اساس قوانین EPA، در مورد دی اتیل هگزیل فتالات، MCLG برابر با صفر است و حداکثر سطح مجاز دی اتیل هگزیل فتالات در آب‌های نوشیدنی $6 \mu\text{g/L}$ تعیین شده است (۲۵). علاوه بر این، WHO و EU سقف مجاز $8 \mu\text{g/L}$ دی اتیل هگزیل فتالات را در آب‌های نوشیدنی تعیین کرده‌اند (۲۴، ۲۶).

میانگین غلظت دی اتیل هگزیل فتالات در نمونه‌های شاهد بسیار پایین‌تر از حد مجاز اعلام شده توسط سازمان‌های قانون‌گذار بود ($0.217 \mu\text{g/L}$). در مطالعات صورت گرفته (۲۲، ۲۷-۲۸) نیز مقدار غلظت دی اتیل هگزیل فتالات در نمونه‌های تازه تولید شده کمتر از $0.4 \mu\text{g/L}$ گزارش شده است که با نتایج بدست آمده از این مطالعه همخوانی دارد. همانطور که ذکر گردید، هم در نمونه‌های شاهد و نیز در نمونه‌های نگهداری شده به مدت یک سال دی اتیل هگزیل فتالات نسبت به سایر استرهای فتالات بالاترین میزان را به

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل (بخشی از) طرح تحقیقاتی با عنوان "اندازه‌گیری میزان آزادسازی استرهای فتالات در آب‌های بطری شده در پلی اتیلن ترفتالات (PET) تحت شرایط مختلف نگهداری" مصوب دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران در سال ۱۳۹۰ با کد ۱۴۵۸۰-۴۶-۰۲-۹۰ است که با حمایت دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران اجرا شده است.

گروه‌های حساس جامعه به نظر می‌رسد که استفاده از آب‌های بطری شده به عنوان یک منبع مواجهه خطرزا با استرهای فتالات محسوب نمی‌گردد و سهم آب‌های بطری شده از نظر حضور استرهای فتالات ناچیز است. بنابراین استفاده از آب‌های بطری شده از این لحاظ برای تمامی مصرف‌کنندگان خطری را به همراه ندارد.

منابع

- 1- International Bottled Water Association. Bottled Water vs Tap Water. Alexandria: International Bottled Water Association; 2009 [cited 25 Jun 2014]. Available from: <http://www.bottledwater.org/health/bottled-water-vs-tap-water>
- 2- Krachler M, Shotyk W. Trace and ultratrace metals in bottled waters: survey of sources worldwide and comparison with refillable metal bottles. *Science of the Total Environment*. 2009;407(3):1089-96.
- 3- Kokkinakis EN, Fragkiadakis GA, Kokkinaki AN. Monitoring microbiological quality of bottled water as suggested by HACCP methodology. *Food Control*. 2008;19(10):957-61.
- 4- Venieri D, Vantarakis A, Komninou G, Papapetropoulou M. Microbiological evaluation of bottled non-carbonated ("still") water from domestic brands in Greece. *International Journal of Food Microbiology*. 2006;107(1):68-72.
- 5- Li X, Zeng Z, Chen Y, Xu Y. Determination of phthalate acid esters plasticizers in plastic by ultrasonic solvent extraction combined with solid-phase microextraction using calix[4]arene fiber. *Talanta*. 2004;63(4):1013-19.
- 6- Cao XL. Phthalate esters in foods: Sources, occurrence, and analytical methods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2010;9(1):21-43.
- 7- Amiridou D, Voutsas D. Alkylphenols and phthalates in bottled waters. *Journal of Hazardous Materials*. 2011;185(1):281-86.
- 8- Bach C, Dauchy X, Chagnon M-C, Etienne S. Chemical compounds and toxicological assessments of drinking water stored in polyethylene terephthalate (PET) bottles: A source of controversy reviewed. *Water Research*. 2012;46(3):571-83.
- 9- Fasano E, Bono-Blay F, Cirillo T, Montuori P, La-

- corte S. Migration of phthalates, alkylphenols, bisphenol A and di (2-ethylhexyl) adipate from food packaging. *Food Control*. 2012;27(1):132-38.
- 10- IEH. Chemicals purported to be endocrine disruptors: A compilation of published lists. Leicester (UK): Institute for Environment and Health; 2005 Mar. Report No.: IEH Web Report W20.
- 11- Ceretti E, Zani C, Zerbini I, Guzzella L, Scaglia M, Berna V, et al. Comparative assessment of genotoxicity of mineral water packed in polyethylene terephthalate (PET) and glass bottles. *Water Research*. 2010;44(5):1462-70.
- 12- Sax L. Polyethylene terephthalate may yield endocrine disruptors. *Environmental Health Perspectives*. 2010;118(4):445-48.
- 13- Wagner M, Oehlmann J. Endocrine disruptors in bottled mineral water: Total estrogenic burden and migration from plastic bottles. *Environmental Science and Pollution Research*. 2009;16(3):278-86.
- 14- Gupta RK, Singh JM, Leslie TC, Meachum S, Flaws JA, Yao HH. Di-(2-ethylhexyl) phthalate and mono-(2-ethylhexyl) phthalate inhibit growth and reduce estradiol levels of antral follicles in vitro. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2010;242(2):224-30.
- 15- Ghisari M, Bonfeld-Jorgensen EC. Effects of plasticizers and their mixtures on estrogen receptor and thyroid hormone functions. *Toxicology Letters*. 2009;189(1):67-77.
- 16- Miodovnik A, Engel SM, Zhu C, Ye X, Soorya LV, Silva MJ, et al. Endocrine disruptors and childhood social impairment. *Neurotoxicology*. 2011;32(2):261-67.
- 17- Testa C, Nuti F, Hayek J, De Felice C, Chelli M, Rovero P, et al. Di-(2-ethylhexyl) phthalate and autism spectrum disorders. *ASN Neuro*. 2012;4(4):223-29.
- 18- IARC. Some chemicals present in industrial and consumer products, food and drinking-water. Lyon: World Health Organization, International Agency for Research on Cancer; 2013.
- 19- IRIS. Di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) (CASRN 117-81-7). Washington: Integrated Risk Information System; 2014 [cited 2014 Nov 20]. Available from: <http://www.epa.gov/iris/subst/0014.htm>.
- 20- The European Chemicals Agency. Registration, evaluation, authorisation and restriction of chemicals, Regulation-Annex XIV21. Helsinki, Finland: The European Chemicals Agency; 2012 [cited 11 Jun 2014]. 2012. Available from: <http://echa.europa.eu/regulations/reach/legislation>.
- 21- Leivadara SV, Nikolaou AD, Lekkas TD. Determination of organic compounds in bottled waters. *Food Chemistry*. 2008;108(1):277-86.
- 22- Montuori P, Jover E, Morgantini M, Bayona JM, Triassi M. Assessing human exposure to phthalic acid and phthalate esters from mineral water stored in polyethylene terephthalate and glass bottles. *Food Additives and Contaminants*. 2008;25(4):511-18.
- 23- Al-Saleh I, Shinwari N, Alsabhaheen A. Phthalates residues in plastic bottled waters. *The Journal of Toxicological Sciences*. 2011;36(4):469-78.
- 24- European Union law E. Commission Regulation (EU) No 10/2011 of 14 January 2011 on plastic materials and articles intended to come into contact with food. Luxembourg: Official Journal of the European Union; 2011 [cited 12 Dec 2014]. Available from: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX:32011R0010>.
- 25- USEPA. National primary drinking water regulations. United States Environmental Protection Agency; 2009 [cited 24 Sep 2013]. Available from: <http://www.epa.gov/ogwdw/consumer/pdf/mcl.pdf>
- 26- WHO. Guidelines for Drinking-water Quality. 3rd ed. Geneva: World Health Organization; 2011.
- 27- Penalver A, Pöcurull E, Borrull F, Marce R. Determination of phthalate esters in water samples by solid-phase microextraction and gas chromatography with mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*. 2000;872(1):191-201.
- 28- Kayali N, Tamayo FG, Polo-Diez LM. Determination of diethylhexyl phthalate in water by solid phase microextraction coupled to high performance liquid chromatography. *Talanta*. 2006;69(5):1095-99.

Carcinogenic and Non-Carcinogenic Assessment of Phthalates Exposure Through Consumption of Bottled Water During the Storage Time

M. Zare Jeddi^{1,2}, N. Rastkari³, R. Ahmadkhaniha⁴, M. Alimohammadi¹, M. Yunesian^{1,5*}

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

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

³Center for Air Pollution Research (CAPR), Institute for Environmental Research (IER), Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

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

⁵Center for water qualities Research (CWQR), Institute for Environmental Research (IER), Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Received: 20 September 2014 ; Accepted: 17 December 2014

ABSTRACT

Background and Objectives: Bottles for packaging drinking water represent one of the most popular uses of plastic and polymer additives. Recently, public concerns related to possibility of exposure to chemicals through the consumption of polyethylene terephthalate bottled water has caused great concern to consumers. Phthalate esters, as a class of these compounds, are often classified as endocrine disruptors and one of them is a possible carcinogen for human. The aim of this study was to determine the concentrations of phthalates in bottled water and to calculate the health risk of phthalates intake via consumption of bottled waters.

Materials and Method: After purchasing, samples were immediately stored according to the recommended conditions (25 °C, dark place) given on the bottle label. Migration of phthalates was investigated in PET-bottled water at different time intervals using gas chromatography–mass spectroscopy. Therefore, a phthalate exposure assessment was performed to characterize their risk to the consumer's health via a calculated hazard quotient (HQ).

Results: It seems that the duration of storage affects phthalate migration. Total increases of DEHP (811.8%), DBP (2545.2%), and BBP (832%) were observed at 12 months over the initial level before storage (bottled water immediately after production); but the level of phthalates in bottled water was always very low (<EPA: 6 µg/L). Non-carcinogenic risk assessment from exposure to phthalate via consumption of bottled water was negligible in all of the subject groups (HQ<1). Furthermore, a little excess cancer risk of 9.9×10^{-7} for bis (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) was observed.

Conclusion: The research showed that the concentration of phthalates in PET-bottled water was extremely low. Consequently, based on the risk assessment results, bottled waters regarding existence of safe for consumers and they phthalates are not considered as public health issue for consumers as phthalates does not have any risk exposure for the consumers.

Key words: Phthalate, Preschooler, Endocrine disruptors, women, risk assessment

*Corresponding Author: yunesian@tums.ac.ir

Tel: +98 21 8898 7381 Fax: +98 21 8898 9664