

Concentration of Phthalate Esters in Polyethylene Terephthalate Bottled Drinking Water in Different Storage Conditions

Zabihollah Yousefi¹,
Esmail Babanezhad²,
Reza Ali Mohammadpour³,
Alireza Ala⁴

¹ Professor, Department of Environmental Health Engineering, Faculty of Health, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

² Assistant Professor, Department of Environmental Health Engineering, Faculty of Health, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

³ Associate Professor, Department of Biostatistics, Faculty of Health, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁴ MSc Student in Environmental Health Engineering, Faculty of Health, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received June 11, 2018 ; Accepted October 31, 2018)

Abstract

Background and purpose: Consumption of bottled water is increasing in the world and there are many concerns about the migration of phthalate esters into bottled water. These compounds are risky for consumers. This study investigated the concentration of phthalate esters in bottled water in polyethylene terephthalate containers in different storage conditions.

Materials and methods: Bottled water samples were stored in different conditions and then the phthalate esters were analyzed by gas extraction liquid-liquid-aqueous extraction (ALLME) method and gas chromatography-mass spectrometer (GC-MS). Data analysis was done in SPSS V24.

Results: Findings showed that the average concentrations of 5 phthalate esters (DEHP, DBP, DIBP, DEP, and DMP) in different conditions increased by an average of 392.84% compared to the initial levels in control samples. Diethylhexyl phthalate (DEHP) concentrations in bottles of drinking water incubated at 42°C for 15 days and 25°C for 75 days were 10.33 and 9.62 ppb, respectively, which were higher than the limits.

Conclusion: Current research showed increased concentration of phthalate esters in water samples in different storage conditions. High temperatures and prolonged storage time were found to influence the migration of phthalate esters. Therefore, PET packaging is not suggested for drinking water to be kept in higher temperatures and longer storage times.

Keywords: phthalate esters, polyethylene, bottled water, storage conditions

J Mazandaran Univ Med Sci 2018; 28 (167): 110-120 (Persian).

* **Corresponding Author:** Alireza Ala- Faculty of Health, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
(E-mail: ala_alireza@yahoo.com)

تعیین غلظت استرهای فتالات در آب های بطری شده در ظروف پلی اتیلن ترفتالات (PET) تحت شرایط مختلف نگهداری

ذبیح اله یوسفی^۱
اسماعیل بابانژاد^۲
رضا علی محمد پور^۳
علیرضا علا^۴

چکیده

سابقه و هدف: مصرف آب های بطری شده در دنیا رو به افزایش است و نگرانی های زیادی در زمینه مهاجرت استرهای فتالات به درون آب های بطری شده وجود دارد. این ترکیبات برای مصرف کنندگان مخاطره آمیز است. در این مطالعه غلظت استرهای فتالات در آب های بطری شده در ظروف پلی اتیلن ترفتالات تحت شرایط مختلف نگهداری تعیین و بررسی شد.

مواد و روش ها: نمونه های آب بطری شده در شرایط مختلف، نگهداری و سپس استرهای فتالات پس از استخراج با روش میکرو استخراج مایع- مایع کمک شده با هوا (ALLME) توسط کروماتوگرافی گازی- طیف سنج جرمی (GC-MS) آنالیز و اندازه گیری شدند. تجزیه و تحلیل آماری داده ها به وسیله نرم افزار SPSS نسخه ۲۴ انجام گرفت.

یافته ها: نتایج این تحقیق نشان می دهد که میانگین ۵ استر فتالات (DEHP, DBP, DIBP, DEP, DMP) مورد بررسی در شرایط مختلف نسبت به سطح اولیه آن در نمونه های شاهد به طور متوسط ۳۹۲/۸۴ درصد افزایش داشته است. دی اتیل هگزیل فتالات (DEHP)، در بطری های آب آشامیدنی که در معرض ۱۵ روز نگهداری در دمای انکوباتور (۴۲°C) و ۷۵ روز نگهداری در دمای انکوباتور (۲۵°C)، قرار گرفته بودند به ترتیب ۱۰/۳۳ و ۹/۶۲ ppb و بالاتر از حد مجاز بود.

استنتاج: غلظت استرهای فتالات اندازه گیری شده در آب تحت تاثیر شرایط نگهداری مختلف افزایش یافت. دمای بالا و افزایش مدت زمان نگهداری تاثیر بیش تری در مهاجرت استرهای فتالات داشته اند. بنابراین استفاده از ظروف PET برای بسته بندی آب های بطری شده جهت نگهداری در دمای بالا و زمان نگهداری طولانی مدت مناسب نیست.

واژه های کلیدی: استرهای فتالات، پلی اتیلن، آب های بطری شده، شرایط نگهداری

مقدمه

نگرانی هایی که در زمینه کیفیت آب لوله کشی، کمبود آب در مناطق مختلف خصوصاً در طول دوره های گرم سال، حضور ترکیبات جانبی ناشی از گندزدایی در آب

هر ساله در دنیا بیش از ۱/۸ میلیون نفر در اثر بیماری های ناشی از آب می میرند و این به یکی از شایع ترین و مهم ترین علل مرگ و میر تبدیل شده است (۲،۱).

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی شماره ۶۱۸۳ است که توسط معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران تامین شده است.

E-mail: ala_alireza@yahoo.com

مؤلف مسئول: علیرضا علا- ساری: دانشگاه علوم پزشکی مازندران، دانشکده بهداشت

۱. استاد، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۲. استادیار، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۳. دانشیار، گروه آمار زیستی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۴. دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۳/۲۱ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۷/۳/۲۱ تاریخ تصویب: ۱۳۹۷/۸/۹

و تغییر در عادات مصرف کننده به ویژه در سال‌های اخیر وجود دارد، از دلایل افزایش و گسترش مصرف آب‌های بطری شده در جهان است (۳). یکی از مهم‌ترین اولویت‌های اجرایی در کشورها، استفاده بهینه از منابع آب آشامیدنی از طریق جایگزین نمودن روش‌های نوین تامین آب، از جمله استفاده از صنایع بسته‌بندی به جای شبکه توزیع آب شهری است و امروزه آب بسته‌بندی شده به عنوان یک کالای ضروری برای جامعه بین‌المللی مطرح است (۴). مواد به کار رفته در ساخت بطری‌های آب در کشورهای مختلف متفاوت است، اما معمولاً بیش‌ترین ماده مورد استفاده در ساخت آن پلی‌اتیلن ترفتالات PolyethyleneTerphtalate (PET) می‌باشد که دارای برخی از ترکیبات سمی و خطرناک مانند فتالیک اسیدها و فلزات سنگین است که در برخی موارد این ترکیبات وارد آب می‌شوند و تهدیدی هستند برای سلامتی انسان (۵). استرهای فتالات Phthalate Acid Esters (PAEs) ترکیبات سنتزی هستند که به عنوان عامل نرم‌کننده و روان‌کننده برای ساخت مواد پلاستیکی به پلیمرهای پلی‌اتیلن ترفتالات (PET) اضافه می‌شوند. فتالات‌ها در بسیاری از محصولات شامل بسته‌بندی مواد غذایی، مواد آرایشی بهداشتی، اسباب بازی کودکان، تجهیزات پزشکی و... استفاده می‌شود (۶، ۷). نگرانی‌ها و سوالات زیادی در زمینه امکان مهاجرت ترکیبات شیمیایی از مواد به کار رفته در ساخت ظروف پلی‌اتیلن ترفتالات به داخل آب و غذای بسته‌بندی شده در آن وجود دارد، شرایط نامناسب (درجه حرارت بالا، نور خورشید، انجماد و...) و طول زمان نگهداری از دلایل مهاجرت این مواد به محتویات داخل این ظروف مطرح است (۳، ۸). در مطالعات زیادی حضور ترکیبات مختل‌کننده عملکرد غدد درون ریز Endocrine Disruption Compounds (EDCs) که مولد فعالیت هورمون استروژن در انسان هستند، در محتویات بطری‌های پلی‌اتیلن ترفتالات (PET) گزارش شده است (۸، ۹). فتالات‌ها با اتصال به گیرنده‌های هورمونی در بدن منجر به بروز فعالیت‌های

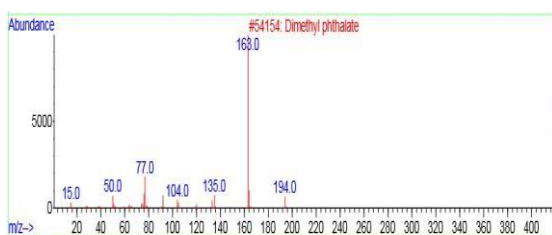
آنتی‌آندروژنی، تغییر در کارکرد و ساختار سلول‌های سرتولی بیضه، کاهش تعداد و کیفیت تحرک اسپرم‌ها در جنس نر و تغییر در مقادیر هورمون‌های استروئیدی جنس ماده، بلوغ زودرس، زایمان زودرس و مرگ جنین می‌گردند (۷، ۱۰). استفاده از استرهای فتالات در بسیاری از محصولات در اروپا و آمریکا به دلیل مضرات آن حذف شده است و EPA نیز فتالات‌ها را در لیست مواد شیمیایی دارای اولویت تحت بررسی قرار داده است (۱۱). برای استخراج فتالات‌ها روش‌های گوناگونی وجود دارد که از جمله آن‌ها روش میکرو استخراج فاز جامد SPME (Solid Phase Micro Extraction) (۱۲)، میکرو استخراج مایع مایع پخششی DLLME (Dispersive liquid liquid micro extraction) (۱۳)، میکرو استخراج مایع - مایع کمک شده با گرداب VALLME (Vortex-assisted liquid-liquid micro extraction) و سرانجام در سال ۲۰۱۲ با ابداع یک روش میکرو استخراج آسان و سریع به نام AALLME (Air assisted liquid-liquid micro extraction)، مشکلات مربوط به سایر روش‌ها مرتفع شد. در این روش حجم بسیار کمی در حد چند میکرولیتر از حلال آلی به عنوان حلال استخراج کننده به جای حلال پخش کننده استفاده می‌شود (۱۴). روش ALLME یک روش سریع، کار آمد، بهینه، ساده و موثر و با حجم کم حلال مصرفی می‌باشد (۱۵، ۱۶). زمانی که فتالات‌ها به عنوان پلاستی سایزر استفاده می‌شوند، آن‌ها با ساختار پلیمر پیوند برگشت ناپذیر تشکیل نمی‌دهند، زیرا پیوند بین استرهای فتالات با زنجیره پلیمر از نوع شیمیایی (کووالانسی) نیست و تنها به طور فیزیکی و برگشت پذیر، با ساختار پلیمر ارتباط برقرار می‌کنند. بنابراین ممکن است تحت شرایط و استرس‌های فیزیکی، از ساختار پلیمر جدا شده و به داخل محتویات بسته‌بندی مهاجرت یافته و موجب ایجاد مخاطراتی برای سلامت انسان و محیط زیست شوند (۱۷). استرهای فتالیک اسید که به طور معمول به آن‌ها فتالات می‌گویند، ترکیبات صنعتی هستند با وزن

مولکولی کم که شامل دی‌متیل فتالات (DMP)، دی‌اتیل فتالات (DEP)، دی‌ان بوتیل فتالات (DNBP)، بوتیل بنزیل فتالات (BBP)، دی‌اتیل هگزیل فتالات (DEHP)، دی‌ایزو بوتیل فتالات (DIBP) و ان اکتیل فتالات می‌باشند (۱۸). استرهای فتالات از نرم‌کننده‌های رایج در تولید PET هستند که با ورود به داخل بدن انسان موجب خطراتی برای سلامتی انسان شامل سرطان سینه، مشکلات هورمونی و تولید مثل، چاقی و اختلال در عملکرد آنزیم‌هایی که در بلوغ سلول‌های جنسی نقش دارند می‌شوند (۱۹). برخورد مزمن با استرهای فتالات در بروز انواع سرطان مثل سرطان پستان در بانوان و سرطان پروستات در آقایان (۲۰)، اختلال در سنتز و فعالیت هورمون‌های داخلی (آنتی‌آندروژنیک)، اثر روی عملکرد غده تیروئید، فعالیت تراژونیک و موتاژنیک، عقیم شدن (۲۱)، بروز هایپراکتیویته در کودکان، چاقی، ازدیاد پروکسی زوم، آسیب به کبد و آلرژی نقش دارند (۲۲-۲۷، ۷). میزان آسیب‌های ناشی از این مواد به دوز و میزان تماس با این مواد وابسته می‌باشد (۲۸).

پروفایل سمی استرهای فتالات موجب شده است مطالعات زیادی در زمینه تاثیر آن بر سلامت انسان صورت پذیرد. دی‌اتیل هگزیل فتالات، دی‌بوتیل فتالات و بوتیل بنزیل فتالات براساس طبقه‌بندی انجام شده توسط انستیتو سلامت و محیط آمریکا در گروه ۱ (ترکیبات نگران‌کننده‌ای که می‌توانند در غدد درون‌ریز و متابولیسم بدن اختلال ایجاد کنند) جای گرفتند (۲۹). IARC (International Agency for Research on Cancer) و IRIS (International Risk Information System) که سیستم‌هایی وابسته به سازمان حفاظت محیط زیست آمریکا است، دی‌اتیل هگزیل فتالات را در گروه ترکیبات احتمالاً سرطان‌زا برای انسان (B2) طبقه‌بندی کرده‌اند (۳۰). در طبقه‌بندی که REACH (Registration Evaluation Authorization and Restriction of Chemical Substances) برای ترکیبات شیمیایی انجام داد، استرهای فتالات شامل بوتیل بنزیل

فتالات، دی‌بوتیل فتالات و دی‌اتیل هگزیل فتالات در لیست مواد بسیار خطرناک و سمی برای سیستم تولید مثل (B1) قرار دارند (۳۱). سازمان محیط زیست و بهداشت کانادا بر لزوم پایش سطح دی‌اتیل هگزیل فتالات در مواد غذایی در تماس با محصولات پلی‌اتیلن ترفتالات تاکید کردند. میزان MCL (Maximum contaminant level) و MCLG (Maximum contaminant level goals) مجموعه قوانینی است که EPA در مورد آلاینده‌های شیمیایی آب تعیین کرده است. به جز دی‌اتیل هگزیل فتالات، در مورد دیگر فتالات‌ها میزان MCL در آب‌های آشامیدنی تعیین نشده است. بر اساس قوانین EPA در مورد دی‌اتیل هگزیل فتالات، MCLG برابر صفر است و میزان MCL دی‌اتیل هگزیل فتالات در آب‌های آشامیدنی ۶ میکروگرم در لیتر تعیین شده است (۳۲). هم‌چنین WHO و EU سقف مجاز ۸ میکروگرم در لیتر دی‌اتیل هگزیل فتالات را در آب‌های آشامیدنی تعیین کرده‌اند (۳۳). مقررات کمیسیون اروپا استفاده از استرهای فتالات را در بسته‌بندی‌های مواد غذایی مجاز ندانسته ولی فتالات‌ها در بسته‌بندی‌های پلی‌اتیلن ترفتالات و آب‌های بطری شده در مطالعات مختلف شناسایی شده‌اند (۳۴). مطابق استاندارد ملی ایران به شماره ۱۰۵۳ ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آب آشامیدنی حداکثر مجاز میزان دی (۲-اتیل هگزیل) فتالات (DEHP) ۰/۰۰۸ میلی‌گرم در لیتر می‌باشد (۳۵). با توجه به رشد روز افزون صنایع شیمیایی در کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه، مواد شیمیایی جزء لاینفک زندگی انسان به شمار می‌آیند و بدین ترتیب ارزیابی میزان خطرات ناشی از مواجهه با این ترکیبات در زندگی بشر از اولویتهای اصلی بر اساس اصول توسعه پایدار قرار می‌گیرد (۳۶). علی‌رغم مطالعات زیادی که در این زمینه انجام پذیرفته، ولی هنوز ابهامات فراوانی در مورد خطرات ناشی از مصرف این آب‌ها در گروه‌های مختلف سنی وجود دارد. در این مطالعه با بررسی تاثیر شرایط نگهداری بر میزان آزاد سازی استرهای فتالات در

شرایط یکسان اعمال شده است. تاثیر هر یک از شرایط محیطی شامل دمای انکوباتور (۴۲°C و ۲۵°C) به عنوان دمای نمایانگر دمای محیط و هم‌چنین دمای انجماد (۱۸°C-)، دمای یخچال (۴°C) و نور خورشید (۲۳±۲°C) در آزادسازی استرهای فتالات از بطری‌های PET به درون آب‌های بطری شده مورد بررسی قرار گرفت. برای انجام روش AALLME ابتدا ۵ میلی‌لیتر از آب مورد نظر را داخل یک فالکون با انتهای مخروطی ریخته، سپس به وسیله سرنگ کروماتوگرافی، مایع با کارایی بالا (HPLC)، ۶۰ میکرولیتر کلروفرم که حلال فتالات‌ها است را برداشته و ۱۰ بار در نمونه آب مورد نظرمان پر و خالی کرده تا تمام کلروفرم با تمام آب مخلوط شده و بتواند استرهای فتالات را که به داخل آب مهاجرت کرده، استخراج کند. کلروفرم سنگین‌تر از آب است و به وسیله سانتریفیوژ کردن با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه ته نشین شد. سپس ۱ میکرولیتر از کلروفرم ته نشین شده در ته فالکون را با سرنگ مخصوص GC برداشته و جهت سنجش و آنالیز غلظت ترکیبات مورد نظر به دستگاه GC-MS تزریق شد. تجزیه‌های کروماتوگرافی بر روی دستگاه GC-MS (Agilent Technologies 7890A, 5975c inert MSD detector) انجام شد. در این پژوهش از تزریق کننده در حالت 2:1 split ratio استفاده شد. بهترین نسبت جرم به بار (m/z) برای DMP ۱۶۳ (نمودار شماره ۱) و برای DEHP (نمودار شماره ۲) و سایر فتالات‌های مورد بررسی ۱۴۹ بود (جدول شماره ۱) که جهت تعیین مقدار آن‌ها مورد استفاده قرار گرفت. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها به وسیله نرم افزار SPSS نسخه ۲۴ انجام گرفت.



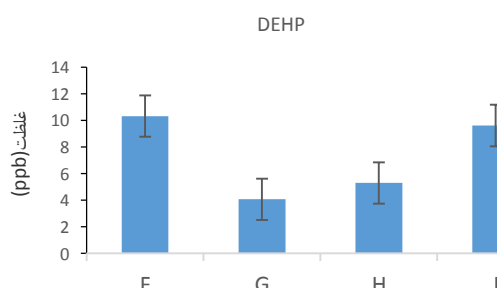
نمودار شماره ۱: جستجوی (اسکن) جرمی DMP

آب‌های بطری شده، مقادیر مهاجرت آن با استفاده از گاز کروماتوگرافی با طیف سنج جرمی (GC-MS) به دلیل دقت بالای آن، آنالیز و اندازه‌گیری شد. نتایج این تحقیق می‌تواند برای افزایش آگاهی‌هایی عمومی در نحوه نگهداری و استفاده از آب‌های بطری شده به کار گرفته شود و هم‌چنین در برنامه‌ریزی‌های آینده برای بهبود وضعیت موجود آن مورد توجه قرار گیرد.

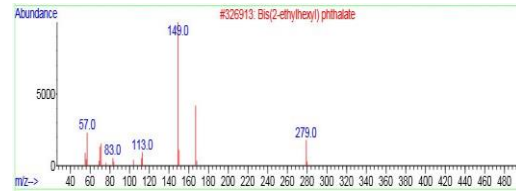
مواد و روش‌ها

این پژوهش در دانشکده بهداشت ساری و با همکاری آزمایشگاه جامع تحقیقاتی شمال کشور در معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران انجام شد. استانداردهای DBP, DIBP, DEP, DMP و DEHP با خلوص ۹۹/۹ درصد از شرکت مرک آلمان و سیگما-آلدریچ آمریکا تهیه شد. ابتدا با حل کردن جداگانه هر یک از استرهای فتالات در حلال کلروفرم، استاندارد اولیه هر یک با غلظت ۱۰۰ mg/L تهیه شد. سپس با مخلوط کردن همه استانداردهای تهیه شده و رقیق‌سازی مخلوط حاصله با کلروفرم، استاندارد مخلوط با غلظت ۱۰۰ mg/L تهیه شد. سپس به صورت روزانه با رقیق‌سازی مخلوط حاصله توسط آب با خلوص HPLC، استانداردهای رقیق‌تر ۱-۲۰ μg/L تهیه شدند. آب‌های بطری شده مورد استفاده از ۵ مارک رایج در بازار (سطح شهر) بوده است. ۱۱۰ نمونه بطری PET از آب‌های بطری شده (از نوع ۲۰ گرمی شفاف) که در این پژوهش مورد استفاده قرار گرفت، دارای ظرفیت ۰/۵ لیتر بود. سپس تزریق استانداردها به کروماتوگرافی گازی مجهز به شناساگر جرمی انجام شد. خطی که از تجزیه رگرسیون نمودارهای این استانداردها به دست آمد، ضریب همبستگی را بالای ۹۸ درصد نشان داد. در آزمایشگاه شرایط مختلف نگهداری و عرضه آب‌های بطری شده با توجه به شرایط واقعی آن‌ها در مراکز عرضه و نگهداری در بازار بر روی آن‌ها اعمال شد. در بررسی هر یک از فاکتورهای محیطی، سایر عوامل و

DEHP در نمونه های مورد سنجش که در این شرایط نگهداری شده بودند، ۹/۶۲ ppb بود. این مقدار نیز از مقادیر اعلام شده توسط سازمان های قانون گذار بیش تر بوده است (نمودار شماره ۳). میانگین غلظت استرهای فتالات در نمونه هایی که به مدت ۵ روز در دمای یخچال (۴°C)، دمای انجماد (-۱۸°C)، نور خورشید (دمای ۲۳±۲°C)، دمای انکوباتور (۲۵°C) و دمای انکوباتور (۴۲°C) نگهداری شده بودند، نسبت به سطح اولیه آن در نمونه های شاهد هر یک به ترتیب با ۱۲۱، ۶۳، ۲۳۳، ۷۸ و ۶۲۵ درصد افزایش ۱/۶۳، ۲/۲۲، ۳/۳۵، ۱/۷۶ و ۷/۲۸ ppb بوده است. مطابق نمودار شماره ۴ در بررسی تاثیر هر یک از عوامل محیطی اعمال شده در میزان مهاجرت استرهای فتالات به داخل آب های بطری شده در مدت زمان نگهداری ۵ روز، دمای انکوباتور (۴۲°C) بیش ترین تاثیر را داشته است. مطابق نمودار شماره ۵، بیش ترین مقدار فتالات اندازه گیری شده به میزان ۸/۶۲ ppb برای DIBP بود. هم چنین میانگین غلظت دی اتیل هگزیل فتالات (DEHP) در دمای ۴۲ درجه سانتی گراد انکوباتور ۸/۱۸ ppb بود. این مقدار از حد مجاز تعیین شده توسط سازمان های قانون گذار بیش تر بوده است. بررسی نمودار شماره ۵ نشان می دهد در بطری های آب آشامیدنی که به مدت ۵ روز در معرض نور خورشید قرار گرفته بودند، دی بوتیل فتالات (DBP) با میانگین غلظت ۵/۸۶ ppb از سایر استرهای فتالات بیش تر بود.



نمودار شماره ۳: مقایسه تاثیر شرایط مختلف نگهداری بر میزان آزادسازی DEHP، F=دمای انکوباتور ۱۵ روز (۴۲°C)، G=مدت زمان نگهداری ۱۵ روز (۲۵°C)، H=مدت زمان نگهداری ۴۵ روز (۲۵°C)، I=مدت زمان نگهداری ۷۵ روز (۲۵°C)



نمودار شماره ۲: جستجوی (اسکن) جرمی DEHP

جدول شماره ۱: m/z و Start time به دست آمده برای استرهای فتالات

m/z	Start time (Minutes)	فتالات
۱۶۳ ۷ ۱۹۴	۶/۲	دی متیل فتالات
۱۴۹ ۱۷۷ ۱۰۵	۶/۹	دی اتیل فتالات
۱۴۹ ۲۲۳ ۵۷	۸/۷	ای ایزو بوتیل فتالات
۱۴۹ ۲۲۳ ۱۰۴	۹/۲	دی بوتیل فتالات
۱۴۹ ۱۶۷ ۲۷۹	۱۱/۹	دی اتیل هگزیل فتالات

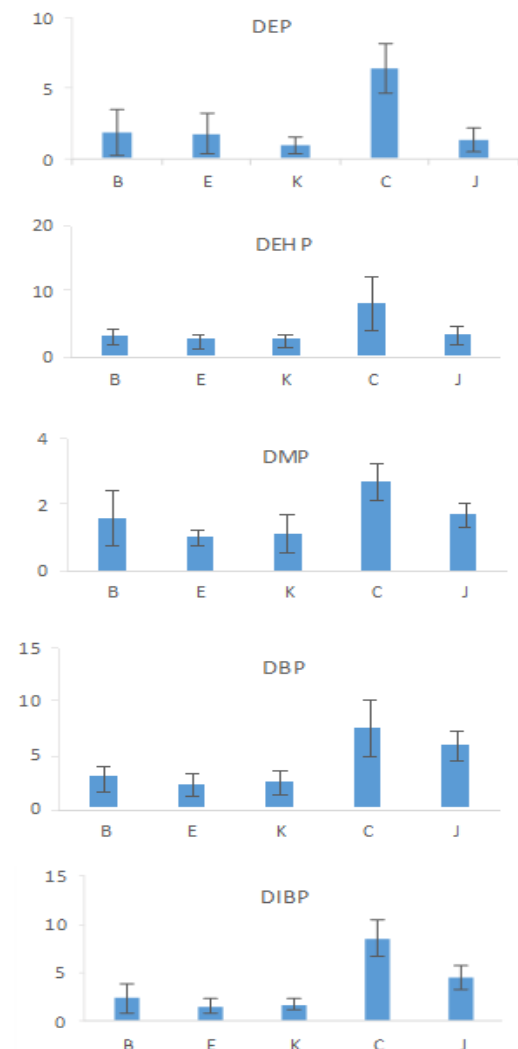
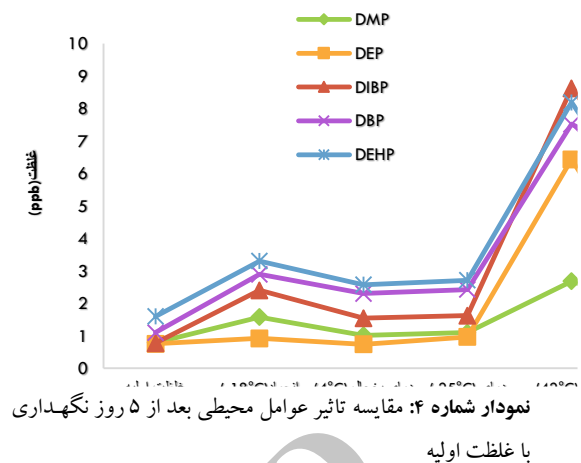
یافته ها

میانگین غلظت اولیه استرهای فتالات در بطری های آب آشامیدنی اندازه گیری شده در هفته اول تولید برای هر یک از استرهای فتالات شامل DBP، DMP، DIBP، DEHP و DEP به ترتیب ۱/۶، ۱/۱، ۰/۸، ۰/۷۷ و ۰/۷۵ ppb بود. میزان MCL (Maximum contaminant level) و MCLG (Maximum contaminant level goals) مجموعه قوانینی است که EPA در مورد آلاینده های شیمیایی آب تعیین کرده است. به جز دی اتیل هگزیل فتالات (DEHP)، 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 صفر است و میزان MCL دی اتیل هگزیل فتالات در آب های آشامیدنی ۶ میکرو گرم در لیتر تعیین شده است (۳۲). هم چنین WHO و EU، سقف مجاز ۸ میکرو گرم در لیتر دی اتیل هگزیل فتالات را در آب های آشامیدنی تعیین کرده اند (۳۸). بطری های آب آشامیدنی که در معرض دمای ۲۵°C انکوباتور به مدت ۷۵ روز نگهداری شدند، میانگین غلظت استرهای فتالات در آنها (DEP>DEHP>DIBP>DBP>DMP) ۸/۵۵ ppb بود. DEP با مقدار ۱۲/۶۷ ppb بیش ترین میانگین غلظت را در میان استرهای فتالات آزاد شده در این دما و زمان نگهداری به خود اختصاص داد. میانگین غلظت

در بطری‌های آب آشامیدنی که در معرض دمای ۴۲°C انکوباتور به مدت ۱۵ روز نگهداری شدند، میانگین غلظت استرهای فتالات (DEP>DEHP>DIBP>DBP>DMP) ۸/۹۹ ppb بود. DEP با مقدار ۱۳/۰۳ ppb بیشترین میانگین غلظت را در میان استرهای فتالات آزاد شده در این دما و زمان نگهداری به خود اختصاص داد. میانگین غلظت DEHP در نمونه‌های مورد سنجش که در این شرایط نگهداری شده بودند، ۱۰/۳۳ ppb بود (نمودار شماره ۳). این مقدار از مقادیر اعلام شده توسط سازمان‌های قانون‌گذار بیش‌تر بوده است. تاثیر هر یک از شرایط فوق‌الذکر در مهاجرت استرهای فتالات به درون آب‌های بطری شده معنی‌دار بوده است ($p < 0/05$).

بحث

میانگین سطح اولیه استرهای فتالات در آب‌های بطری شده (نمونه‌های شاهد) ۱ µg/l بود. حداکثر میزان مجاز آلاینده (MCL) در آب‌های آشامیدنی توسط سازمان جهانی بهداشت (WHO) و سازمان حفاظت از محیط زیست (EPA) تنها برای دی‌اتیل‌هگزایل فتالات و به میزان ۸ و ۶ µg/l تعریف شده است. غلظت DEHP در تمام نمونه‌های شاهد کم‌تر از حد مجاز تعیین شده بود. افزایش میزان DEP نسبت به سایر موارد استرهای فتالات در دما و مدت زمان نگهداری بالاتر مشاهده شده است و مقادیر غلظت DEP در مدت زمان نگهداری ۵ روز و شرایط دمایی پایین‌تر نسبت به سایر فتالات‌ها کم‌تر بوده است. حداکثر میزان دی‌اتیل‌هگزایل فتالات (DEHP) در شرایط اعمال شده فوق‌الذکر ۱۰/۳۳ ppb اندازه‌گیری شده بود و این مربوط به نمونه‌هایی بود که به مدت ۱۵ روز در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد انکوباتور نگهداری شده بودند (نمودار شماره ۵). این میزان از حد مجاز تعیین شده توسط سازمان‌های قانون‌گذار بیش‌تر بوده است. IARC (International Agency for Research on Cancer)



نمودار شماره ۵: نمودارهای میانگین غلظت استرهای فتالات برحسب ppm در آب‌های بطری شده تحت شرایط محیطی بعد از ۵ روز (B=دمای انجماد (-18°C)، E=دمای یخچال (4°C)، K=دمای انکوباتور (25°C)، C=دمای انکوباتور (42°C)، J=نور خورشید (23±2°C))

رسیدند که شرایط نامناسب نگهداری بطری‌های آب (۱۰ هفته در دمای °C ۳۰) باعث افزایش غلظت فتالات‌هایی نظیر DBP، DEHP و BBP در آب می‌شود. هم‌چنین مقدار فتالات‌ها در آب بسته‌بندی شده در PET، ۲۰ برابر بیش‌تر از مقدار فتالات‌ها در آب بسته‌بندی شده در شیشه بود (۳۹).

در سال ۲۰۱۴، زارع جدی و همکاران در دانشگاه علوم پزشکی تهران تحقیقی را درباره مصرف آب معدنی بسته‌بندی شده در بطری‌های PET انجام دادند. نتایج حاکی از این بود 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 نسبت به هفته اول تولید به ترتیب ۸۱۱/۸، ۲۵۴۵/۲ و ۸۳۲ درصد بیش‌تر شده است. با این حال در کل زمان نگهداری، میزان دی اتیل هگزیل فتالات از حد مجاز تعیین شده توسط EPA (۶ میکروگرم در لیتر) تجاوز نکرده است (۳۷).

اگرچه میزان DEHP در تحقیق جدی و همکاران نسبت به مقادیر مشاهده شده در این پژوهش کم‌تر و در حد مجاز اعلام شده است، ولی در یافته‌های این پژوهش، میانگین غلظت دی اتیل هگزیل فتالات از مقادیر مجاز اعلام شده توسط سازمان‌های قانون‌گذار بیش‌تر بوده است. در تحقیق دیگر، Zaater و همکاران در سال ۲۰۱۴، مهاجرت تکپارها و نرم‌کننده‌های بطری‌های PET را در آب معدنی‌های بسته‌بندی شده در ظروف PET اندازه گرفتند (۴۰) که مهر تاییدی بر نامناسب بودن بطری‌های PET بود. اعمال شرایط نگهداری مختلف بر روی آب‌های آشامیدنی بطری شده نشان داده است در همه موارد از فاکتورهای محیطی اعمال شده، غلظت استرهای فتالات نسبت به سطح اولیه اندازه‌گیری شده بیش‌تر بود. تاثیر هر یک از عوامل محیطی شامل افزایش دما، افزایش مدت زمان نگهداری، نور و انجماد در میزان مهاجرت استرهای فتالات معنی‌دار بوده است (p < ۰/۰۵). دمای بالا و افزایش مدت زمان نگهداری

که سیستمی وابسته به سازمان حفاظت از محیط آمریکا (EPA) است، از میان استرهای فتالات، فقط دی اتیل هگزیل را در گروه ترکیبات احتمالاً سرطان‌زا برای انسان (B-2) طبقه بندی کرده است. با توجه به بررسی تاثیر هر یک از عوامل محیطی ذکر شده به صورت مجزا در میزان آزاد سازی استرهای فتالات در آب‌های بطری شده و محاسبه میانگین غلظت استرهای فتالات آزاد شده که به داخل آب‌های بطری شده مهاجرت کردند، دمای انکوباتور (°C ۴۲) به مدت ۱۵ روز و مدت زمان نگهداری ۷۵ روز در دمای انکوباتور (°C ۲۵) هر یک به ترتیب بیش‌ترین تاثیر را در افزایش میزان مهاجرت ویژه استرهای فتالات در آب‌های بطری شده در ظروف پلی اتیلن ترفتالات داشته‌اند. دمای یخچال (°C ۴) شرایط مناسب‌تری را برای نگهداری آب‌های بطری شده فراهم آورده بود، به گونه‌ای که کم‌ترین میزان آزادسازی فتالات‌ها در این دما بود. با توجه به واریانس دو جهتی (دو عاملی) داده‌ها که در نرم‌افزار SPSS انجام شد، می‌توان دریافت که شرایط مختلف اعمال شده، تاثیر معنی‌داری در مهاجرت استرهای فتالات دارد (p < ۰/۰۵). هم‌چنین تفاوت معنی‌داری بین دماهای مختلف و مدت زمان‌های متفاوت اعمال شده در نگهداری آب‌های بطری شده، وجود دارد. بنابراین می‌توان گفت که با افزایش زمان و افزایش دما، مهاجرت استرهای فتالات افزایش می‌یابد. هم‌چنین بررسی اثر متقابل دما و زمان نشان داده که بین میانگین مهاجرت‌ها تفاوت معنی‌داری وجود دارد و فاکتور دما و زمان، تاثیر مستقیمی بر مهاجرت دارند. در بررسی همگنی شرایط اعمال شده در تاثیر بر آزادسازی فتالات‌ها مشاهده شد که همه شرایط در میزان آزاد سازی پلاستی سایزرهای DEHP، DEP و DIBP شبیه هم عمل کرده‌اند و با قرار گرفتن در یک زیر مجموعه، شرایط مشابه‌تری در آزاد سازی این سه آنالیت بوده‌اند. DEP، DIBP و DEHP فراوان‌ترین استرهای فتالاتی بودند که در نمونه‌های مورد سنجش یافت شد. Casajuana و همکاران (۲۰۰۳) به این نتیجه

سپاسگزاری

این مقاله حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد و طرح تحقیقاتی با عنوان "بررسی اثر شرایط محیطی بر میزان آزاد سازی استرهای فتالات در آب های بطری شده در ظروف پلی اتیلن ترفتالات (PET)" با کد ۶۱۸۳ است که با حمایت معاونت تحقیقات و فن آوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران در دانشکده بهداشت ساری، گروه مهندسی بهداشت محیط اجرا شده است. از معاونت تحقیقات و فناوری، آزمایشگاه جامع تحقیقاتی، دانشکده بهداشت ساری و همراهی گروه مهندسی بهداشت محیط دانشکده تشکر و قدردانی می شود. (IR.MAZums.REC.96/6183).

تاثیر بیش تری داشته اند و در دمای یخچال (۴°C) میزان آزادسازی فتالات ها کم تر بوده است. غلظت استرهای فتالات اندازه گیری شده در آب تحت تاثیر شرایط نگهداری مختلف افزایش یافت. دمای بالا و افزایش مدت زمان نگهداری تاثیر بیش تری در مهاجرت استرهای فتالات داشته اند. با توجه به بالاتر بودن مقادیر دی اتیل هگزیل فتالات در بطری های آب نگهداری شده در دمای بالا (۴۲°C) و بعد از زمان نگهداری ۷۵ روز (در دمای ۲۵°C) از حد مجاز تعیین شده توسط سازمان های قانون گذار استفاده از آب های بطری شده ای که در شرایط نامناسب نگهداری شوند، برای کل جامعه و به خصوص گروه های حساس مناسب نیست.

References

- 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): 1089-1096.
- Yousefi Z, Enayati A, Mohammadpoor R. Parasitic Contamination Of Wells Drinking Water in Mazandaran Province. *Iran J Environ Health Sci Eng* 2009; 6(4): 241-246.
- Li X, Ying GG, Su HC, Yang XB, Wang L. Simultaneous determination and assessment of 4-nonylphenol, bisphenol A and triclosan in tap water, bottled water and baby bottles. *Environ Int* 2010; 36(6): 557-562.
- International Bottled Water Association (IBWA). *Bottled Water Vs Tap Water*. Alexandria: International Bottled Water Association; 2009 [updated cited 25 jun 2014]. Available from: <http://www.bottledwater.org/health/bottled-water-vs-tap-water>.
- Arfaeinia H, Nabipour I, Ostovar A, Asadgol Z, Abuee E, Keshtkar M, et al. Assessment of sediment quality based on acid-volatile sulfide and simultaneously extracted metals in heavily industrialized area of Asaluyeh, Persian Gulf: concentrations, spatial distributions, and sediment bioavailability/toxicity. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2016; 23(10): 9871-9890.
- Moore NP. The oestrogenic potential of the phthalate esters. *Reprod Toxicol* 2000; 14(3): 183-1892.
- Scholz N. Ecotoxicity and biodegradation of phthalate monoesters. *Chemosphere* 2003; 53(8): 921-926.
- Amiridou D, Voutsas D. Alkylphenols and phthalates in bottled waters. *J Hazard Mater* 2011; 185(1): 281-286.
- Gonzalez-Castro MI, Olea-Serrano MF, Rivas-Velasco AV, Medina-Rivero E, Ordoñez-Acevedo LG, De Leon-Rodriguez A. Phthalates and bisphenols migration in Mexican food cans and plastic food containers. *Bull Environ Contam Toxicol* 2011; 86(6): 627-631.
- Oehlmann J, Oetken M, Schulte-Oehlmann U. A critical evaluation of the environmental risk

- assessment for plasticizers in the freshwater environment in Europe, with special emphasis on bisphenol A and endocrine disruption. *Environ Res* 2008; 108(2): 140-149.
11. Kamrin MA. Phthalate risks, phthalate regulation, and public health: a review. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev* 2009; 12(2): 157-174.
 12. Beutler J, DerMarderosian A. The review of natural products. St Louis: Facts and Comparisons; 2004.
 13. Clark GS. An Aroma Chemical Profile: Menthol. 2007.
 14. Hoffmann D. The complete illustrated Guide to holistic herbal: A safe and practical guide to making and using herbal remedies. Shaftesbury, Dorset: Element Books; 1996.
 15. Farahani H, Norouzi P, Dinarvand R, Ganjali MR. Development of dispersive liquid-liquid microextraction combined with gas chromatography-mass spectrometry as a simple, rapid and highly sensitive method for the determination of phthalate esters in water samples. *J Chromatogr A* 2007; 1172(2): 105-112.
 16. Farajzadeh MA, Mogaddam MR. Air-assisted liquid-liquid microextraction method as a novel microextraction technique; Application in extraction and preconcentration of phthalate esters in aqueous sample followed by gas chromatography-flame ionization detection. *Anal Chim Acta* 2012; 728: 31.
 17. 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 Pharmacol* 2008; 50(1): 37-49.
 18. Cao XL-Liang. Phthalate esters in foods: sources, occurrence, and analytical methods. *Comp Rev Food Sci Food Safety* 2010; 9(1): 21-43.
 19. Parmar D, Srivastava SP, Seth PK. Effect of di (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) on spermatogenesis in adult rats. *Toxicology* 1986; 42(1): 47-55.
 20. Mortazavi S, Bakhtiari AR, Sari AE, Bahramifar N, Rahbarizade F. Phenolic endocrine disrupting chemicals (EDCs) in Anzali Wetland, Iran: elevated concentrations of 4-nonylphenol, octylphenol and bisphenol A. *Mar Pollut Bull* 2012; 64(5): 1067-1073.
 21. Preston MR, Al-Omran LA. Dissolved and particulate phthalate esters in the river Mersey estuary. *Mar Pollut Bull* 1986; 17(12): 548-553.
 22. Sirivithayapakorn S, Thuyviang K. Dispersion and ecological risk assessment of di (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) in the surface waters of Thailand. *Bull Environ Contam Toxicol* 2010; 84(5): 503-506.
 23. Zhang D, Liu H, Liang Y, Wang C, Liang H, Cai H. Distribution of phthalate esters in the groundwater of Jiangnan plain, Hubei, China. *Front Earth Sci China* 2009; 3(1): 73.
 24. Van Wezel A, Van Vlaardingen P, Posthumus R, Crommentuijn GH, Sijm D. Environmental risk limits for two phthalates, with special emphasis on endocrine disruptive properties. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2000; 46(3): 305-321.
 25. Harris CA, Henttu P, Parker MG, Sumpter JP. The estrogenic activity of phthalate esters in vitro. *Environ Health Perspect* 1997; 105(8): 802-811.
 26. Ankley GT, Jensen KM, Kahl MD, Durhan EJ, Makynen EA, Cavallin JE, et al. Use of chemical mixtures to differentiate mechanisms of endocrine action in a small fish model. *Aquat Toxicol* 2010; 99(3): 389-396.
 27. Parkerton TF, Staples CA. An assessment of the potential environmental risks posed by

- phthalates in soil and sediment. Berlin: Springer, Series Anthropogenic Compounds; 2003.
28. Oishi S. Reversibility of testicular atrophy induced by di (2-ethylhexyl) phthalate in rats. *Environ Res* 1985; 36(1): 160-169.
 29. Botham C, Holmes P. Chemicals purported to be endocrine disruptors: A compilation of published lists. Leicester (UK): Institute for Environment and Health (IEH); 2005.
 30. Some chemicals present in industrial and consumer products, food and drinking-water. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum 2013; 101(9): 549.
 31. Zare Jeddi M, Rastkari N, Ahmadvani R, Alimohammadi M, Yunesian M. Carcinogenic and Non-Carcinogenic Assessment of Phthalates Exposure Through Consumption of Bottled Water During the Storage Time. *IJHE* 2015, 8(1): 97-108.
 32. USEPA. National primary drinking water regulations. United States Environmental Protection Agency; 2009. Available from: <http://www.epa.gov/ogwdw/consumer/pdf/mcl.pdf>. Accessed May 2 2016.
 33. WHO. Guidelines for Drinking-water Quality. 3rd ed. Geneva: World Health Organization; 2011.
 34. 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; 3:42-130. Available from: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN>.
 35. Institute of Standards and Industrial Research of Iran, ISIRI. No:1035."DrinkingWater-Physical and Chemical Specifications"; 5th revision. Tehran: ISIRI; 2010.
 36. WHO (World Health Organization). 1999. Principles for the Assessment of Risks to Human Health from Exposure to Chemicals. Environmental Health Criteria No. 210. Geneva: World Health Organization.
 37. Jeddi Zare M, Rastkari N, Ahmadvani R, Yunesian M. Concentrations of phthalates in bottled water under common storage conditions: Do they pose a health risk to children?. *Food Res Int*. 2015;69:256-265.
 38. WHO (World Health Organization). Guidelines for drinking-water quality: recommendations. 4th ed. World Health Organization; 2011.
 39. Casajuana N, Lacorte S. Presence and release of phthalic esters and other endocrine disrupting compounds in drinking water. *Chromatographia*. 2003; 57(9-10): 649-655.
 40. Zaater MF, Tahboub YR, Al Sayyed AN. Determination of phthalates in Jordanian bottled water using GC-MS and HPLC-UV: environmental study. *J Chromatogr Sci* 2014; 52(5): 447-52.