



UNIVERSITATEA „BABEȘ-BOLYAI” DIN CLUJ-NAPOCA

FACULTATEA DE ȘTIINȚA ȘI INGINERIA MEDIULUI

ȘCOALA DOCTORALĂ: ȘTIINȚA MEDIULUI

DOMENIUL: ȘTIINȚA MEDIULUI



MODEL DE EVALUARE A EXPUNERII UMANE LA FTALAȚI

-REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT-

Doctorand

ing. chim. Irina Dumitrașcu

Conducător științific

C.Ș. I Prof. asoc. dr. Eugen Stelian Gurzău

2015

Cluj-Napoca

CUPRINS

1. Cadrul problemei și ipoteza de lucru.....	4 -
2. Studiu documentar și revizia literaturii de specialitate privind efectele ftalaților asupra stării de sănătate.....	7 -
2.1. Ftalații. Structură, proprietăți fizice și chimice.....	7 -
2.2. Soarta ftalaților în mediu.....	10 -
2.3. Domenii de utilizare a ftalaților.....	14 -
2.4. Metode de analiză.....	17 -
2.5. Expunerea umană la ftalați.....	24 -
2.6. Biomarkeri ai expunerii umane la ftalați.....	28 -
2.7. Norme și doze de referință.....	31 -
3. Modelul experimental.....	35 -
4. Rezultate personale.....	36 -
4.1. Metode de analiză și validarea metodei.....	36 -
4.1.1. Analiza pH-ului conform SR ISO 10523-2012.....	36 -
4.1.2. Analiza creatininei din urină conform metodei din Medicina muncii 1978.....	37 -
4.1.3. Analiza ftalaților din apă prin extracție lichid-lichid și cromatografie în fază gazoasă.....	38 -
4.1.4. Îmbunătățirea metodei de analiză.....	41 -
4.1.5. Validarea metodelor de analiză.....	44 -
4.1.5.1. Evaluarea statistică a curbei de etalonare și parametrii de performanță ai metodelor.....	45 -
4.1.5.2. Incertitudinea.....	54 -
4.1.5.3. Controlul calității.....	58 -
4.1.6. Analiza metaboliților ftalaților din urină.....	63 -
4.2. Modele experimentale de transfer a ftalaților în mediu lichid.....	66 -
4.2.1. Transferul ftalaților din ambalaje în apă îmbuteliată.....	66 -

4.2.2. Transferul ftalaților din ambalaje de tip catering în alimente lichide...- 76 -	
4.3. Studiu de caz privind concentrația de ftalați în apă potabilă din sisteme publice.....- 80 -	
4.3.1. Sistem de aprovizionare rural - modernizarea aprovizionării cu apă în zona rurală.....- 81 -	
4.3.2. Sistem de aprovizionare urban - sistemul central de aprovizionare cu apă în Cluj Napoca.....- 97 -	
4.4. Biomarkeri de expunere umană la ftalați.....- 112 -	
4.4.1. Cercetări privind metoda de determinare a metaboliților din urină -studiu pilot.....- 112 -	
4.4.2. Evaluarea expunerii la ftalați prin biomarkeri de expunere la un lot de subiecți umani voluntari.....- 115 -	
4.5. Analiza comportamentelor. Factori de risc, modalități de reducere și combatere.....- 132 -	
5. Concluzii generale.....- 142 -	
6. Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei.....- 146 -	
7. Referințe bibliografice.....- 147-	

Cuvinte cheie: ftalați, validarea metodelor, apă potabilă, apă îmbuteliată, metaboliți ai ftalaților, aport zilnic, analiza comportamentelor

Notă: La redactarea rezumatului s-au păstrat aceleași notații pentru capitole, tabele, formule și figuri utilizate în textul tezei de doctorat.

1. Cadrul problemei și ipoteza de lucru

Oamenii sunt expuși la o varietate de substanțe chimice, datorită surselor de poluare care sunt tot mai numeroase și mai diverse. Caracterul dinamic și variat al expunerii la compuși chimici a adus în discuție problematica riscului cumulativ datorat expunerii la amestecuri de substanțe chimice. Ca atare, în 1986, Agenția de Protecția Mediului din SUA (EPA-US) a publicat un “Ghid pentru evaluarea riscului asupra sănătății umane datorat expunerii la amestecuri de substanțe chimice”. De-a lungul timpului EPA-US a publicat o serie de acte cadru și documente în ceea ce privește evaluarea riscului asociat cu expuneri cumulative (ILSI 1999; EPA, 1997, 2000, 2002, 2003, 2006, 2007). Unele din aceste documente s-au axat pe clase de compuși chimici sau substanțe care au proprietăți chimice și fizice asemănătoare, pornind de la ipoteza că acestea prezintă un mecanism comun de acțiune, de exemplu: dioxine (EPA, 1993; Van den Berg et al., 2006), bifenili policlorurați (Van den Berg et al., 2006), hidrocarburi policiclice aromatice (EPA, 1993), pesticide organofosforice (EPA, 2002) etc.

Ftalații reprezintă o altă clasă de substanțe, pentru care EPA-US a solicitat Consiliului Național de Cercetare (NRC, 2008) oportunitatea de a efectua o evaluare cumulativă a acestei clase de compuși chimici de risc și să ofere îndrumări pentru evaluarea riscului expunerii la această clasă de compuși, dar și pentru evaluarea expunerii cumulative la ftalați și alți compuși chimici. În această solicitare, EPA-US s-a axat pe opt ftalați și anume: dibutil ftalat (DBP), diisobutil ftalat (DiBP), butil benzil ftalat (BBzP), di-n-pentil ftalat (DnPP), di (2-etilhexil) ftalat (DEHP), di-n-octil ftalat (DnOP), diisononil ftalat (DINP) și diisodecil ftalat (DIDP) (EPA, 2012).

Ftalații sunt o clasă de compuși sintetici produși pentru prima dată în anii 1920, ulterior producția comercială pe scară largă fiind introdusă în timpul anilor 1950, perioadă în care a fost sintetizată policlorura de vinil (PVC) (Genuis et al., 2012).

Utilizarea pe scară largă a ftalaților în industrie conduce la expunerea neocupațională și ocupațională a populației la această clasă de substanțe. Expunerea neocupațională prin multiplele produse care conțin ftalați reprezintă pentru populația generală o modalitate frecventă și intensă, datorită contactului cu diferite produse conținând ftalați, inclusiv dispozitive medicale. Expunerea la aerul

interior și a apei contaminate cu ftalați reprezintă alte modalități importante de pătrundere și contaminare a organismului uman în mediul neprofesional, pe de altă parte expunerea ocupațională la ftalați fiind frecventă, dar de intensitate mai redusă implicând un număr mult mai mic de persoane la risc.

Literatura de specialitate din ultimii 15 ani aduce o multitudine de dovezi în ceea ce privește prezența aproape ubiquitară a ftalaților în mediul de viață, de proprietățile acestora și modificările pe care le suferă în special în mediul înconjurător, în organismele vii și nu în ultimul rând la multiplele efecte asupra organelor, aparatelor și sistemelor organismului uman. Severitatea efectelor asupra sănătății umane observată în studiile de specialitate include și posibila carcinogeneză umană pentru o parte din componenții acestei clase susținută de studii experimentale pe animale.

Copiii reprezintă un grup cu susceptibilitate aparte în expunerea la substanțe chimice cu efect cunoscut sau suspectat de perturbator endocrin, grup de substanțe din care fac parte și ftalații. Ceea ce se cunoaște în prezent și există studii despre efectele adverse ale perturbatorilor endocrini asupra dezvoltării copiilor (creștere fetală, dezvoltare precoce a sistemului reproductiv, dezvoltare pubertală, neurodezvoltare și obezitate) ar trebui să stea la baza unor recomandări pentru sănătate, dar în același timp și pentru cercetări viitoare (Meeker, 2012).

Pornind de la informațiile științifice legate de locul pe care ftalații îl ocupă în toxicologia actuală am formulat următoarele ipoteze:

- ftalații sunt prezenți în concentrații variate în apă și alimente datorită multiplelor surse de contaminare, identificarea lor și măsurarea concentrațiilor presupunând metode specifice de analiză;

- expunerea umană la ftalații din apa de băut și alimente este prezentă, mai frecventă și mai intensă datorită schimbării obiceiurilor legate de consumul de apă și alimente și a materialelor care vin în contact cu acestea;

- datorită expunerii simultane la diferite surse de ftalați prezența metaboliților acestora în urină (biomarkeri de efect) este relaționată cu frecvența, durata și intensitatea expunerii.

Studiul nostru își propune să clarifice ipotezele menționate prin atingerea următoarelor obiective formulate:

- adaptarea și punerea la punct a metodelor de analiză a ftalaților din lichide și matrici biologice;

- cercetarea transferului ftalaților din ambalaje în conținut (apă îmbuteliată, alimente);
- determinarea conținutului de ftalați din apă potabilă în sisteme centrale de aprovizionare (sisteme publice);
- măsurarea biomarkerilor expunerii umane la ftalați (metaboliții acestora din urină);
- calculul expunerii umane integrate la trei diesteri ai acidului ftalic;
- o mai bună informare a mediului științific asupra efectelor generate de contaminarea cu substanțe xenobiotice (posibil cancerigene) a apei și alimentelor în paralel cu îmbunătățirea metodelor de analiză specifice.

2. Studiu documentar și revizia literaturii de specialitate privind efectele ftalaților asupra stării de sănătate

Acest capitol conține studiul documentar și revizia literaturii de specialitate privind răspândirea ftalaților în mediu și a efectelor lor asupra stării de sănătate structurat în șapte subcapitole: structura și proprietățile fizico-chimice ale ftalaților, soarta acestora în mediu, domenii de utilizare, metode de analiză, expunerea umană la ftalați, biomarkeri ai expunerii umane și respectiv norme și doze de referință.

3. Modelul experimental

Modelul de studiu a cuprins două părți distincte și succesive care au avut ca scop verificarea ipotezelor și atingerea obiectivelor formulate.

Prima parte a cercetării a constat în studiul metodelor analitice privind identificarea și măsurarea concentrației ftalaților în diverse matrici prin dezvoltarea metodelor gaz cromatografice. Elaborarea modelelor experimentale și a tehnicilor de analiză pentru evidențierea transferului ftalaților din produse cu plastifianți (butelii de plastic pentru băuturi, vase pentru mâncare, conducte de apă) în apă și alimente și a factorilor favorizanți ai transferului.

A doua parte a studiului a constat în evaluarea expunerii umane la ftalați prin analiza metaboliților acestora (biomarkerilor de expunere). În cadrul unui studiu pilot

de expunere la ftalați prin apă și alimente, aceasta a constat în investigarea unui lot de 43 de subiecți pentru identificarea metaboliților din urină. Subiecții au răspuns la întrebări legate de expunerea la ftalați prin apă și alimente.

Pornind de la studiul pilot am elaborat un alt model experimental prin investigarea unui lot de 25 de subiecți cărora li s-au identificat și cuantificat metaboliții din urină. Acești subiecți au completat un chestionar specific și complex privind sursele și căile de expunere individuale la ftalați.

S-a calculat aportul zilnic de ftalați pe baza concentrațiilor de metaboliți măsurați în urină și prognoza efectelor asupra sănătății ținând cont de frecvența, durata (pe baza scorului de risc obținut din chestionar) și intensitatea expunerii prin ingestie ca urmare a consumului individual de apă de băut.

Modelele experimentale au fost generate din punctul de vedere al expunerii unui consumator care achiziționează un produs cunoscut, cu bună reputație, autorizat/avizat pentru comercializare atât din punct de vedere al conținutului cât și al ambalajului, păstrat și etalat spre vânzare în condiții corespunzătoare pentru un hipermarket. De aceea condițiile experimentale au reprodus condițiile de consum/păstrare, atât a apei cât și alimentelor de către o persoană obișnuită.

4. Rezultate personale

Subcapitolul 4.1 descrie metodele de analiză utilizate și modul de validare al metodelor analitice.

Analiza probelor pentru determinarea conținutului de ftalați din diverse matrici presupune o pregătire laborioasă a sticlăriei de laborator folosite în analiză pentru a evita contaminarea probelor.

Pe lângă determinarea analiților de interes din probe lichide și matrici biologice, s-au analizat pH-ul pentru probele de apă și creatinina pentru probele de urină.

Analiza ftalaților din apă

Metoda standardizată de analiză descrisă în SR EN ISO 18856/2006 este selectivă, sensibilă și potrivită scopului nostru de a analiza matrici lichide pentru determinarea conținutului de ftalați. Metoda presupune extracția compușilor din apă

prin extracție în fază solidă (SPE), separarea acestora prin cromatografie în fază gazoasă, cu folosirea coloanelor capilare urmată de identificarea și cuantificarea ftalaților prin spectrometrie de masă.

Avantajele acestei metode sunt timpul scurt de prelucrare al probei și volumul mic de solvent utilizat, dar necesită echipamentul special pentru extracție.

După ce s-a constatat timpul de retenție al fiecărui ftalat și programul potrivit de temperatură al cuptorului pentru o separare bună a peak-urilor, s-au făcut teste pentru a găsi parametrii optimi pentru o intensitate mărită a semnalului și a unui raport semnal/zgomot cât mai bun.

Pentru aceasta s-au analizat soluții de concentrație cunoscută, iar diferiți parametri au fost schimbați ca presiunea de injecție (figura 7), temperatura de injecție (figura 7), debitul de gaz purtător.

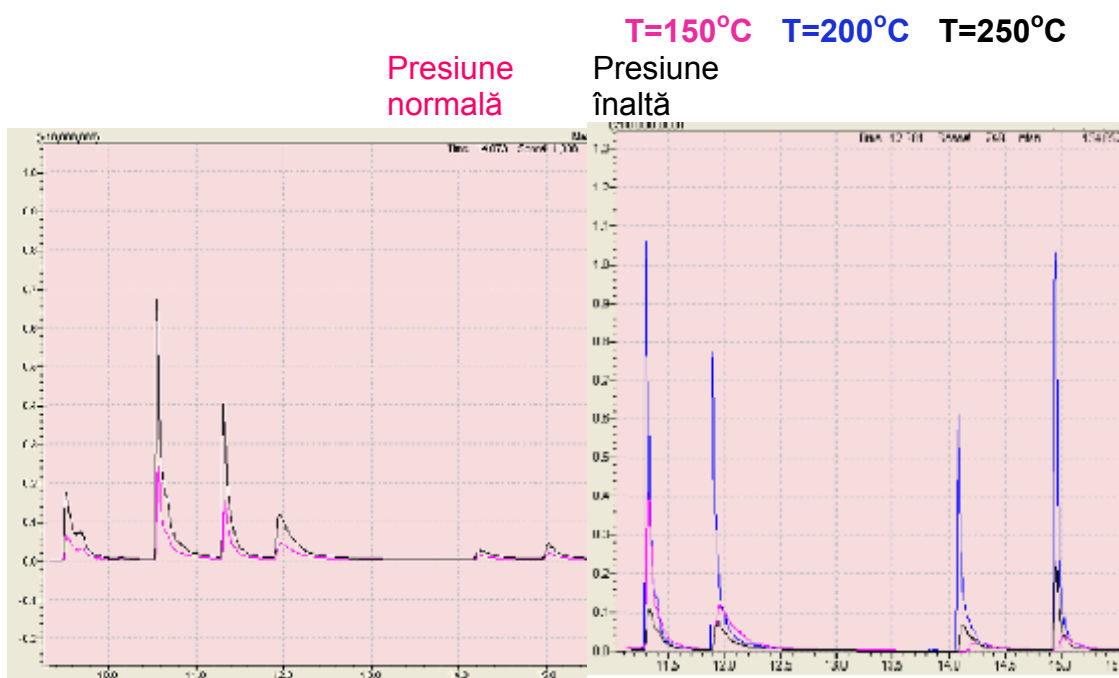


Figura 7. Cromatograme ale ftalaților din apă în diferite condiții de analiză

Un parametru care influențează semnificativ intensitatea semnalului este presiunea de injecție. S-a observat o creștere a intensității semnalului atunci când se folosește injecția la presiune ridicată față de presiunea din timpul analizei. De asemenea, temperatura portului de injecție influențează semnificativ intensitatea semnalului. Dacă aceasta este prea mică compușii cu masă moleculară mai mare nu se vaporizează suficient.

Asigurarea calității rezultatelor s-a efectuat atât prin analiza probelor martor din apă distilată, cât și prin analiza unei soluții standard de concentrație 0,08 $\mu\text{g/l}$.

Din diagrama de control prezentată în figura 10 se observă că procesul este în control statistic, toate valorile de control sunt între limitele de avertizare.

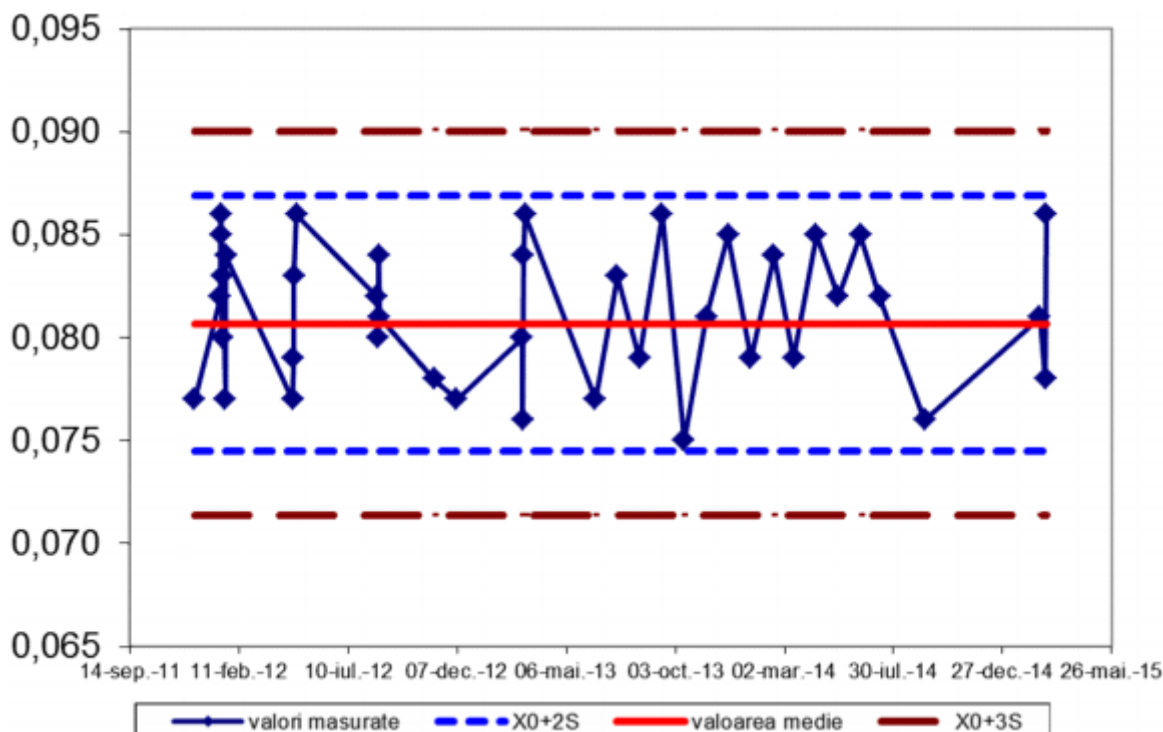


Figura 10. Diagrama de tip X pentru DBP

Din rezultatele experimentale obținute pentru determinarea ftalaților din apă, metoda s-a dovedit a fi potrivită pentru scopul propus pentru că este liniară, exactă și precisă pentru toți compușii:

- metoda s-a dovedit a fi liniară pe domeniul de concentrație 0,02-0,14 $\mu\text{g/l}$ prin realizarea testelor de verificare: omogenitatea dispersiilor și liniaritatea;
- metoda este precisă, lucru care rezultă din demonstrarea repetabilității;
- metoda este exactă, lucru demonstrat prin calculul deplasării pe tot domeniul ales.

Analiza metaboliților ftalaților din urină

Metoda de evaluare a concentrației metaboliților ftalaților în urină presupune incubare enzimatică, derivatizarea și cuantificarea acestora prin cromatografie în fază gazoasă.

Pentru a înțelege mai bine conceptul de biomonitorizare umană cât mai ales a procesului de hidroliză enzimatică și complexitatea analizelor pe matrici biologice s-a efectuat un training de două săptămâni în iunie 2011 la laboratorul de biomonitorizare din cadrul Wadsworth Center, USA (Departamentul de Sănătate Publică al statului New York).

În cadrul acestui program de pregătire s-au efectuat analize de metaboliți ai ftalaților urmărind etapele de hidroliză enzimatică, extracție în fază solidă prin metoda automată, cuantificarea acestora prin cromatografie în fază lichidă, pe probe de concentrație necunoscută trimise mai multor laboratoare într-un program de biomonitorizare european (Dumitrașcu & Gurzău, 2011).

Abordarea cromatografiei lichide de înaltă performanță în tandem cu spectrometria de masă este de preferat datorită sensibilității scăzute a metodei cromatografiei de gaze pentru metaboliții ftalaților. Datorită limitărilor analitice ale laboratorului această abordare nu a fost posibilă și s-a optat pentru derivatizarea compușilor după hidroliza enzimatică urmată de analiza prin cromatografie în fază gazoasă. Pentru o cuantificare cât mai exactă se folosește metoda diluției cu standard intern.

4.2 Modele experimentale de transfer a ftalaților în mediu lichid

4.2.1 Transferul ftalaților din ambalaje în apă îmbuteliată

Din cauza lipsei de legături covalente dintre ftalați și polimer, ftalații pot cu ușurință să treacă din matricea de plastic (Serrano et al., 2014) în alimente. În consecință, apare migrarea ftalaților din ambalajul de plastic în apă potabilă îmbuteliată, fapt ce reprezintă un factor de risc ridicat pentru sănătatea umană (Bach et al., 2012; Bach et al., 2013).

Pornind de la ipoteza că băuturile îmbuteliate cresc aportul de ftalați în organismul uman am efectuat un studiu experimental pentru a măsura nivelul acestora în apele îmbuteliate în ambalaje de polietilen tereftalat (PET) în diferite condiții de păstrare.

Material și metodă

Studiul s-a desfășurat în perioada decembrie 2011 - ianuarie 2012 și s-a efectuat pe apă îmbuteliată de la 5 producători. Probele au fost cumpărate de pe raft, de la un magazin local și alese aleator. Acestea au fost transportate la laborator și analizate imediat.

Din cele cinci probe de apă două au fost de apă plată și trei de apă carbogazoasă. Fiecare probă a fost împărțită în trei eșantioane (figura 11). Un eșantion s-a analizat imediat după cumpărare și deschiderea ambalajului. Al doilea eșantion a fost păstrat în frigider (la 4°C și întuneric), codificat în figuri și grafice cu litera R, iar al treilea eșantion la temperatura camerei (o medie de 20°C), lângă o sursă de căldură și lumină, codificat în figuri și grafice cu litera C lângă numărul probei de apă. Aceste două eșantioane au fost păstrate în condițiile menționate timp de 25 de zile (Dumitrașcu, 2012).



Figura 11. Eșantionarea probelor

Rezultate și discuții

Concentrațiile ftalaților în probele analizate după cumpărarea produsului, imediat după deschiderea ambalajului sunt prezentate în figura 12.

Dintre cei cinci ftalați analizați au fost identificați patru (DBP, DiBP, DEP și DEHP) peste limita de detecție, concentrația BBzP fiind mai mică decât limita de detecție a metodei (Dumitrașcu, 2012). Ca urmare în continuare ne vom referi la concentrațiile celor patru ftalați cuantificați. Dintre analiții de interes analizați aceiași compuși ca număr și identitate au fost identificați în probe indiferent de condițiile de păstrare și momentul analizei.

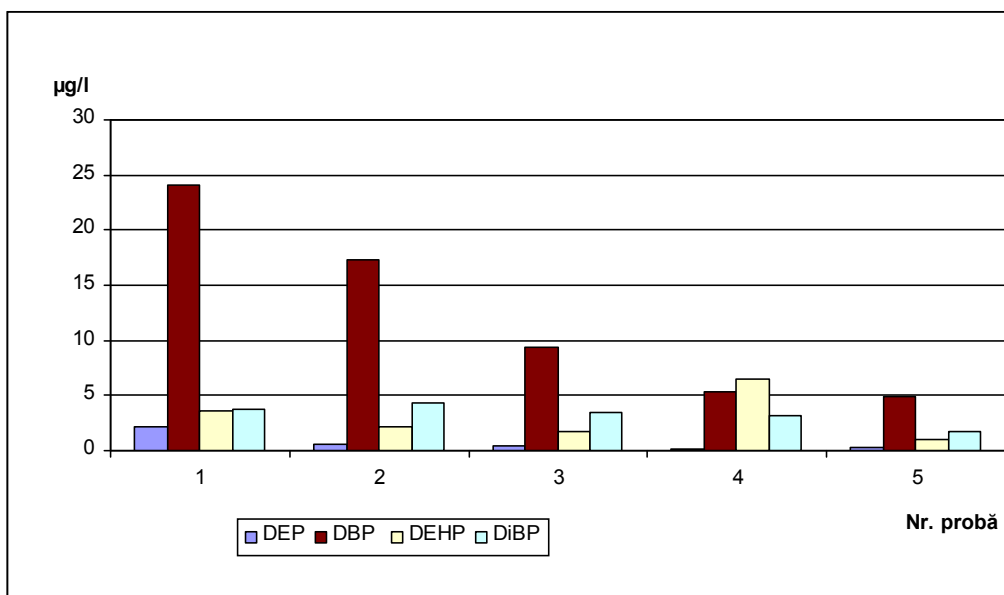


Figura 12. Concentrația ftalaților la cumpărare

Concentrațiile totale ale ftalaților în probele analizate și rata de creștere a acestora în condițiile de păstrare menționate sunt prezentate în figura 13 (Dumitrașcu, 2012) și au fost cuprinse între 7,86 și 33,51 µg/l imediat după cumpărare și deschiderea ambalajului; între 8,72 și 42,49 µg/l în condiții de păstrare la rece și întuneric; între 11,22 și 62,10 µg/l în condiții de păstrare la temperatura camerei și lumină, observându-se creșterea concentrației pe perioada de păstrare în toate cazurile.

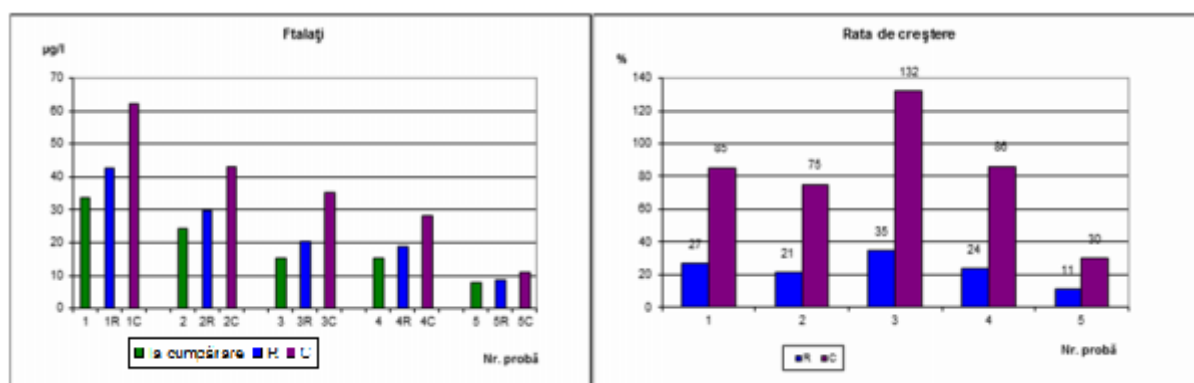


Figura 13. Concentrația totală a ftalaților și rata de creștere în diferite condiții de păstrare

Cele mai mari concentrații au fost măsurate în proba 1 care este apă plată caracterizată printr-un pH alcalin. În cazul acesteia s-au înregistrat cele mai mari concentrații de ftalați atât în cazul păstrării la rece și întruneric cât și în cazul păstrării

la cald. Contrarul acestei situații se observă în cazul probei 5 care este apă carbogazoasă caracterizată printr-un pH acid, dar creșterea concentrației totale a ftalaților a fost mai puțin marcantă relaționat condițiilor de păstrare și momentului analizei.

În probele de apă plată s-a constatat o rată de creștere mai mare decât în cazul probelor de apă carbogazoasă, ceea ce ne face să considerăm că pH-ul are un rol important în transferul de ftalați din PET în apă.

Din punct de vedere al riscului pentru sănătate (posibil carcinogen) detaliem în continuare modificarea concentrațiilor DEHP în probele de apă și condițiile de păstrare. Din figura 14 este foarte evidentă creșterea concentrației în probele păstrate la temperatura camerei, în special în cazul probelor 1 și 4.

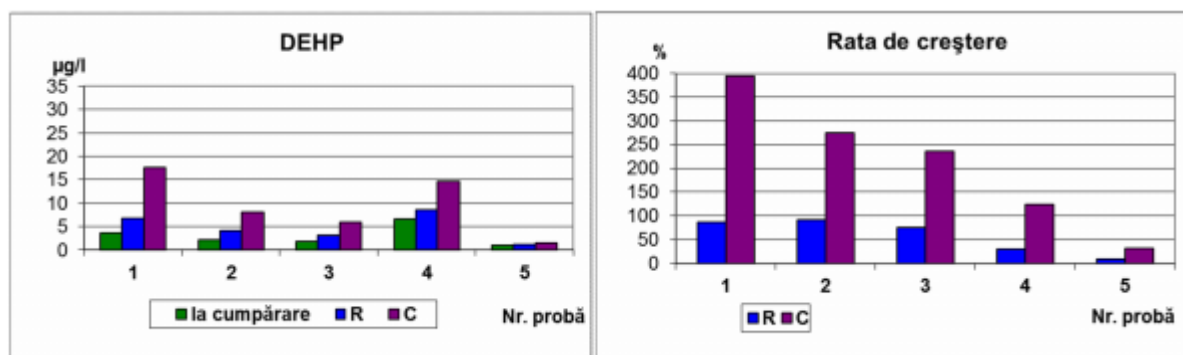


Figura 14. Concentrația DEHP și rata de creștere în diferite condiții de păstrare

Cele mai mari concentrații la cumpărare au fost măsurate pentru DBP în toate probele analizate. Ceea ce se remarcă este că fiecare din compușii identificați au avut concentrații mai mari după păstrarea probei timp de 25 de zile, indiferent de condițiile de păstrare.

Ratele de creștere au ținut cont de concentrația măsurată în apă la momentul deschiderii ambalajului fără să existe informații disponibile privind condițiile de depozitare, durata și condițiile de expunere pe raft. Pe de altă parte nu cunoaștem concentrația acestor ftalați în ambalaj. Toate interpretările sunt făcute pe baza concentrației la deschiderea ambalajului.

Studii similare în care s-a măsurat concentrația ftalaților în apa îmbuteliată arată concentrații diferite față de rezultatele noastre din momentul deschiderii ambalajului (Guart et al., 2014). După studierea a 7 mărci de apă îmbuteliată (6 în recipiente de PET și 1 în sticlă), cercetătorii portughezi au ajuns la concluzia că deși

toate conțin trei ftalați (DBP în concentrații de 0,06-6,5 $\mu\text{g/l}$, DEHP cu 0,02-0,16 $\mu\text{g/l}$, iar DiBP în concentrații de 0,1-1,89 $\mu\text{g/l}$), apele îmbuteliate în recipiente de PET conțin de cinci ori mai mult DEHP, decât cele îmbuteliate în recipiente de sticlă, care însă au o concentrație de DBP mai mare decât apele conținute în recipiente de PET (Santana et al., 2014). Montuori și colaboratorii săi au ajuns la concluzia că apa plată conține o cantitate mai mare de ftalați decât cea carbogazoasă, iar cele îmbuteliate în recipiente PET ajung să aibă o concentrație de 20 de ori mai mare decât cele îmbuteliate în sticle (Montuori et al., 2008).

Din punct de vedere al sănătății populației prezența DEHP este semnificativă având în vedere că acesta este carcinogen și mai ales datorită faptului că în Uniunea Europeană și România el nu este reglementat ca și concentrație în apa de băut. Compusul este singurul diester al acidului ftalic reglementat în apă în Statele Unite ale Americii de către US EPA (EPA, 2009), la o concentrație maximă de 6,0 $\mu\text{g/l}$. Referindu-ne la această normă, probele analizate de noi se încadrează sub aceasta limită la cumpărare, în momentul deschiderii ambalajului, cu excepția probei 4 care avea 6,53 $\mu\text{g/l}$. Depozitarea timp de 25 de zile la temperatura camerei a condus la depășirea ei la 4 din cele 5 probe analizate. Dacă luăm în considerare recomandările Organizației Mondiale a Sănătății (WHO, 2008), toate probele de apă analizate în momentul achiziționării au avut concentrația DEHP sub valoarea maximă admisă (8,0 $\mu\text{g/l}$), dar această concentrație recomandată a fost depășită în condițiile de păstrare la temperatura camerei timp de 25 de zile după deschiderea ambalajului (Dumitrașcu, 2012).

4.2.2 Transferul ftalaților din ambalaje de tip catering în alimente lichide

Conform literaturii de specialitate alimentele par a avea o contribuție majoră (95,5 %) la aportul de ftalați pe calea digestivă (Martine et al., 2013).

Datorită tendinței de creștere a consumului mâncării ambalate, în cea mai mare parte în plastic, propunem un model experimental pentru determinarea transferului ftalaților în alimentele lichide.

Material și metodă

Având în vedere consumul de alimente lichide furnizate în ambalaj tip catering și mai ales datorită faptului că de cele mai multe ori ele se încălzesc în ambalajul în

care sunt livrate am presupus că există transfer de ftalați în conținut. În acest sens am simulat condițiile utilizând în loc de alimentul lichid apă distilată cu corecția factorilor favorizanți (în acest caz pH-ul).

Compușii pentru care s-a determinat concentrația în condiții de păstrare a alimentelor în ambalaje de polistiren sunt di(2-etilhexil)ftalat (DEHP), dibutil ftalat (DBP), di(isobutil)ftalat (DiBP) și butil benzil ftalat (BBzP).

Apa distilată folosită a fost analizată ca și probă martor pentru a elimina eventuala contaminare datorată procedurii de extracție și concentrare sau a materialelor folosite.

Rezultate și discuții

Pentru a determina condițiile experimentale am măsurat pH-ul (tabel 14) conform metodei descrisă la capitolul 4.1.1 într-un număr de 14 alimente lichide furnizate colectivului de către firma de catering.

Crearea mediului experimental s-a făcut prin acidifierea a 300 ml de apă distilată cu acid acetic și transferul acestora în recipiente tip catering din polistiren (figura 18). S-au creat cinci probe cu pH diferit care acoperă plaja de valori măsurată în cazul supelor/ciorbelor livrate.



Figura 18. Ambalaje tip catering

Probele astfel preparate s-au lăsat timp de 3 ore la temperatura camerei și s-au încălzit în cuptorul cu microunde similar cu timpul de încălzire al supelor (1,5 minute) după care s-au analizat similar probelor de apă.

Au fost identificați 3 din cei 4 ftalați urmăriți (DiBP, DBP, DEHP).

Apare un paralelism în evoluția concentrației și valoarea pH-ului ceea ce ne face din nou să concluzionăm că pH-ul spre alcalin este favorabil transferului (figura 19). La valori mai mari ale pH-ului corelația este mai bună, decât la valori mai mici.

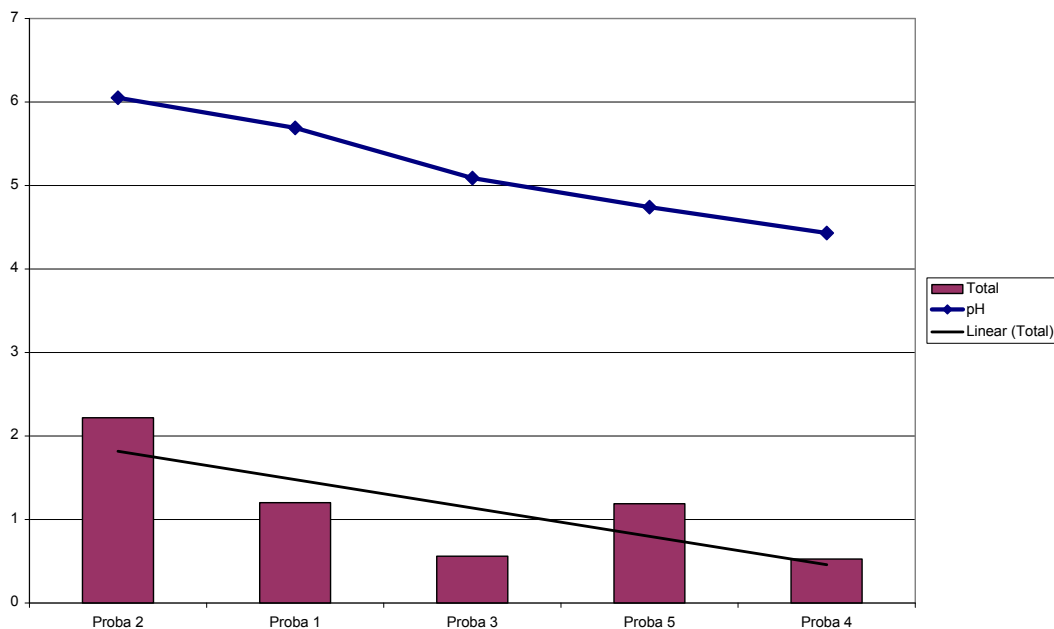


Figura 19. Corelația pH-ului cu concentrația totală de ftalați

Concentrațiile, deși sunt mici, ne demonstrează că ftalații se mobilizează chiar dacă timpul de contact este mic (de ordinul orelor).

4.3 Studiu de caz privind concentrația de ftalați în apă potabilă din sisteme publice

Cerințele Comisiei Europene pentru dezvoltarea și îmbunătățirea infrastructurii de aprovizionare cu apă potabilă a condus la implemetarea a numeroase proiecte de înfiintare a unor sisteme centrale de aprovizionare în mediul rural și de extindere și modernizare a celor din mediul urban.

Reglementările internaționale și naționale prevăd condiții specifice și severe în utilizarea produselor care vin în contact cu apa potabilă. Pornind de la premisa că ftalații, utilizați ca plastifianți în compoziția materialului din care se fabrică conductele de apă potabilă, pot să migreze în conținut în anumite condiții ne-am propus să analizăm în apa potabilă patru compuși (dibutil ftalatul, diisobutil ftalatul, di-

2(etilhexil) ftalatul și benzil butil ftalatul) cunoscând că: DEHP și BBzP intră în compoziția conductelor de apă fabricate pe bază de policlorura de vinil și alți doi (DBP și DiBP) pe care i-am identificat în studii anterioare (Dumitrașcu, 2012) în apa îmbuteliată, materialul ambalajelor fiind polietilen tereftalatul având același monomer de bază ca și conductele din polietilenă de înaltă densitate (HDPE). De asemenea cercetarea noastră a pornit și de la premisa că informațiile în literatura de specialitate a transferului din conductele pe bază de polietilenă de înaltă densitate sunt puține (Bagel-Boithias et al., 2005).

4.3.1 Sistem de aprovizionare rural - modernizarea aprovizionării cu apă în zona rurală

Aria de studiu, material și metoda

S-au investigat șase sisteme centrale de aprovizionare cu apă din mediul rural din județele Cluj și Hunedoara cu perioade de funcționare diferite:

- sistemul de tratare Alunișu, comuna Sâncraiu, județul Cluj;
- sistemul de tratare Călata, comuna Călățele, județul Cluj;
- toate cele 4 sisteme aferente localităților Feregi, Poienița Tomii, Cerbăl și Socet din comuna Cerbăl, județul Hunedoara.

O caracteristică comună a acestor sisteme de aprovizionare sunt sursele de apă, care sunt reprezentate de izvoare captate.

O altă caracteristică comună este faptul că totalitatea conductelor din sistem sunt din polietilenă de înaltă densitate.

Dintre aceste sisteme de aprovizionare centrală cu apă potabilă două au ca sistem de tratare tehnologia clasică, coagulare-decantare-dezinfecție cu clor, în timp ce celelalte tratează apa doar prin clorinare la nivelul rezervorului.

S-au determinat ftalații pentru fiecare din sistemele investigate din sursă, rețea de distribuție și acolo unde a fost posibil la ieșire din stația de tratare (în cazul localității Călata).

Fiecare sistem de aprovizionare a fost analizat conform legii 458 republicată în 2011 pentru parametrii chimici și parametrii indicatori.

Rezultate și discuții

a. Ftalații

Rezultatele analizelor sunt prezentate în tabelul 16 pentru județul Cluj și în tabelul 17 pentru județul Hunedoara.

	Brută Călata	Ieșire stație Călata	Rețea Călata	Brută Alunișu	Rețea Alunișu
DiBP μg/l	< 0,015	< 0,015	0,053	< 0,015	< 0,015
DBP μg/l	< 0,015	< 0,015	0,052	< 0,015	< 0,015
BzBP μg/l	< 0,015	< 0,015	< 0,015	< 0,015	< 0,015
DEHP μg/l	< 0,015	< 0,015	< 0,015	< 0,015	< 0,015

Tabel 16. Rezultate județul Cluj

	Brută Poienita Tomii	Rețea Poienița Tomii	Brută Feregi	Rețea Feregi	Brută Cerbăl	Rețea Cerbăl	Brută Socet	Rețea Socet
DiBP μg/l	< 0,015	0,337	< 0,015	0,094	< 0,015	0,091	< 0,015	< 0,015
DBP μg/l	< 0,015	0,072	< 0,015	< 0,015	< 0,015	< 0,015	< 0,015	0,283
BzBP μg/l	< 0,015	< 0,015	< 0,015	< 0,015	< 0,015	< 0,015	< 0,015	< 0,015
DEHP μg/l	< 0,015	< 0,015	< 0,015	< 0,015	< 0,015	< 0,015	< 0,015	< 0,015

Tabel 17. Rezultate județul Hunedoara

În localitatea Călata apa brută a fost lipsită de compuși pe care i-am analizat (DBP, DiBP, BzBP și DEHP). Aceeași situație fiind identificată și la ieșirea din stația de tratare. Lipsa ftalaților în apa complet tratată se datorează faptului că stația este tip monobloc, distanța parcursă de apă și timpul necesar procesului de tratare fiind scurte.

În rețeaua de distribuție am identificat în concentrații similare doi compuși DiBP (0,053 μg/l) și DBP (0,052 μg/l). Prezența acestor compuși o considerăm ca datorată transferului din materialul rețelei de distribuție și a timpul de contact dintre apă și conductă (distanța dintre ieșire stație Călata și punctul de recoltare este de 3 km).

În localitatea Alunișu (tabel 16) compușii cercetați nu au fost identificați nici în apa brută (izvor Zanda) și nici în capătul rețelei de distribuție, distanța dintre rezervor și acest punct de recoltare fiind aproximativ 3 km.

În județul Hunedoara (tabel 17) sistemele de aprovizionare centrală din localități aparținând comunei Cerbăl au fost investigate pentru conținutul de ftalați în apa brută și în rețeaua de distribuție. Localitatea Poienița Tomii a fost singura din cele patru luate în studiu unde s-au identificat doi compuși, DiBP (0,337 $\mu\text{g/l}$) și DBP(0,072 $\mu\text{g/l}$). Apa din rețeaua celorlalte trei localități, care de asemenea nu au avut concentrații detectabile de ftalați în apa brută, a conținut numai câte un compus și anume: Feregi - DiBP (0,094 $\mu\text{g/l}$), Cerbăl - DiBP (0,091 $\mu\text{g/l}$), iar în Socet - DBP (0,283 $\mu\text{g/l}$).

Ceea ce remarcăm din rezultatele obținute este faptul că în rețeaua de distribuție din Poienița Tomii am identificat cea mai mare concentrație de DiBP, cu un ordin de mărime mai mare față de toate celelalte localități, atât din județul Hunedoara cât și din județul Cluj. De asemenea în rețeaua localității Socet am măsurat cea mai mare concentrație de DBP, cu un ordin de mărime mai mare decât în toate celelalte localități.

Alte studii de specialitate au raportat concentrații similare ca ordin de mărime a DBP (Serodio & Nogueira, 2005), dar nu specifică tipul materialului conductelor.

Având în vedere că vorbim despre surse de profunzime (apă necontaminată cu ftalați, așa cum a rezultat din analizarea probelor), chiar și aceste concentrații mici arată clar existența compusului în materialul conductei și transferul acestuia în apa potabilă, în proporții totuși diferite. Pentru a verifica acest aspect am calculat creșterea concentrației compușilor identificați în rețeaua de distribuție comparativ cu apa brută (figura 21).

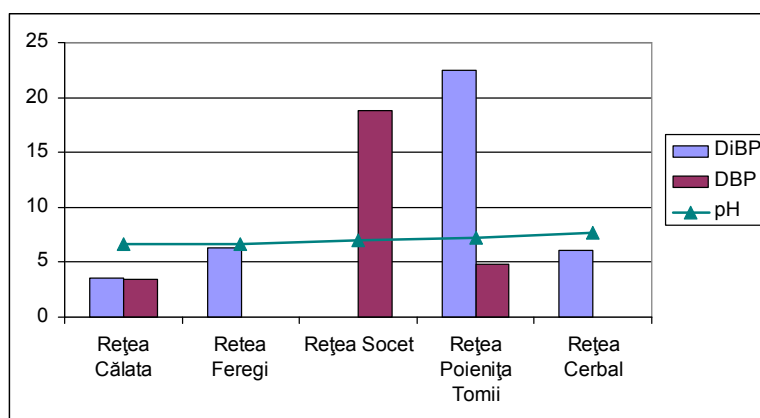


Figura 21. Rata de creștere a ftalaților în rețeaua de distribuție și pH-ul probelor

Faptul că nu am identificat compușii cunoscuți din literatura de specialitate ca parte componentă a conductelor de apă pe bază de PVC nu înseamnă că nu există în compoziția conductelor de polietilenă de înaltă densitate. Bagel-Boithias et al (2005) au arătat că DEHP se mobilizează din conductele de PVC, dar nu și din conductele de HDPE. Cercetările noastre nu au identificat în literatura de specialitate studii care să se refere la relația dintre ftalați și apă în cazul conductelor din polietilenă de înaltă densitate.

b. Calitatea apelor studiate conform legii 458 R1

Monitorizarea de control și audit conform legii 458 R1 privind calitatea apei potabile aduce informații privind posibilele riscuri pentru sănătatea a unor substanțe/compuși cu efecte certe. În cazul unor compuși sintetici cum sunt ftalații despre care în prezent, exceptând DEHP-ul, nu se cunosc efecte specifice decât cel de grup, ca disruptor endocrin, și ca urmare nu există norme sau recomandări privind concentrația maxim admisă în apa potabilă, determinarea acestora în apă se poate constitui în argumente științifice privind cel puțin reglementarea calitativă a materialelor în contact cu apa, dar fără să se constituie într-o monitorizare de rutină în ceea ce privește conținutul lor în apă.

4.3.2 Sistem de aprovizionare urban - sistemul central de aprovizionare cu apă în Cluj Napoca

Ne-am propus extinderea cercetărilor prin determinarea conținutului de ftalați ai apei potabile în diferite zone ale municipiului Cluj-Napoca ținând cont de diversitatea tipului de conducte din rețea (materiale folosite), de lucrările de modernizare a rețelei și de înlocuirea conductelor existente cu conducte HDPE și nu în ultimul rând ținând cont de calitatea apei brute și sistemului de tratare al acesteia.

Aria de studiu, material și metoda

Sursa de apă regională pentru aprovizionarea municipiului Cluj Napoca și a celorlalte localități învecinate este o sursă de suprafață (Iacul Tarnița). Lacul de acumulare Tarnița face parte dintr-un sistem de lacuri utilizate în principal în scop

hidroenergetic pe cursul râului Someșul Cald. Zona acestor lacuri este pe de altă parte una de localități rurale permanente și zonă turistică dezvoltată cu deosebire după anul 1995. Ca orice sursă de apă de suprafață aceste lacuri sunt vulnerabile la contaminare antropică, deșeurile de materiale plastice (PET) fiind prezente în special în zona barajelor (figura 22). Priza de apă este localizată la 20 m sub luciul apei.



Figura 22. Lac Tarnița - Stația de tratare Gilău - Cluj Napoca

Sistemul de aprovizionare cu apă al localității Cluj Napoca este compus din:

- barajul Tarnița cu priza de aducțiune;
- conducta de aducțiune din fibră de sticlă pe o distanță de 7 km, care parțial traversează subacvatic lacul Someșul Cald;
- stația de tratare Gilău;
- rezervoarele din oraș;
- rețeaua mixtă de distribuție către consumatori.

În interiorul stației de tratare toate conductele de transport ale apei între trepte tehnologice sunt din beton sau oțel.

Operatorul regional de apă a procedat și procedează în continuare la înlocuirea conductelor vechi din oțel cu cele din polietilenă de înaltă densitate.

S-a recoltat un număr total de 32 probe de apă. Recoltările s-au făcut în două etape, câte 16 probe în septembrie 2014 și februarie 2015.

Am procedat la recoltarea de probe de apă în următoarele puncte: baraj lac Tarnița (probă de suprafață) și pe treptele tehnologice, pe cele trei linii de tratare: apă brută, decantată, apă complet tratată, din rețeaua de distribuție a municipiului Cluj Napoca, șapte puncte de recoltare uniform distribuite și reprezentative pentru zonele de aprovizionare urbană și din rețeaua de distribuție a localității Florești. Aceasta este primul sat de lângă Cluj-Napoca înspre vest, unde în ultimii ani au fost

construite ansambluri rezidențiale, ai căror locatari lucrează în Cluj Napoca în marea majoritate, a cărei infrastructură privind aprovizionarea cu apă potabilă din rețeaua publică este nouă în zona în care s-a făcut prelevarea (aproximativ 8 ani) și este din conducte de polietilenă de înaltă densitate (figura 25).

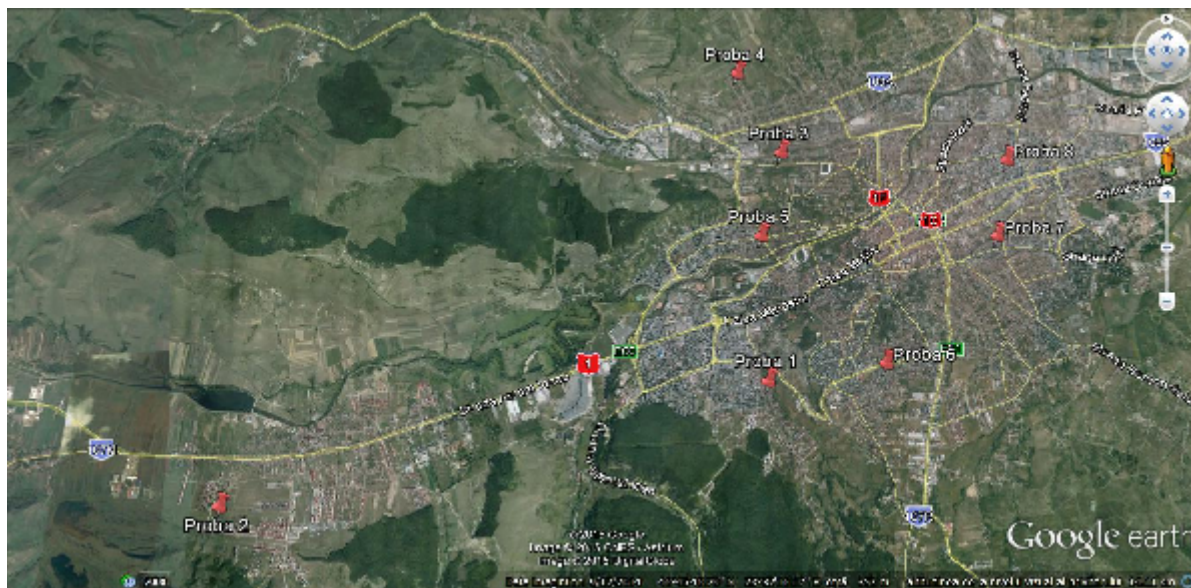


Figura 25. Punctele de prelevare a probelor în oraș

Rezultate și discuții

A. Lacul Tarnița

În proba de apă de suprafață recoltată din zona barajului lacului Tarnița s-au identificat doi din cei patru compuși analizați, DiBP și DBP. Prezența ftalaților în zona de apă de suprafață este explicabilă datorită existenței la locul de prelevare a numeroase reziduuri PET. Recoltarea s-a făcut intenționat din acest loc pentru a vedea în ce măsură reziduurile PET influențează concentrația de ftalați din apă.

Dibutil ftalatul a prezentat concentrațiile cele mai mici dintre valorile măsurate ale compușilor analizați ($0,097 \mu\text{g/l}$ față de $0,103 \mu\text{g/l}$ pentru DiBP). Dibutil ftalatul nu a mai fost identificat în campania de prelevare din luna februarie 2015 (tabelul 32).

După cum se observă în tabelul 32 concentrația DiBP în lacul Tarnița a fost de trei ori mai mare în februarie 2015 ($0,334 \mu\text{g/l}$) decât în septembrie 2014 ($0,103 \mu\text{g/l}$), fapt explicabil prin lipsa căldurii și a radiațiilor ultraviolete, factori favorizanți în biodegradarea ftalaților.

	sep. 2014	feb. 2015
DiBP (µg/l)	0,103	0,334
DBP (µg/l)	0,097	< 0,015
BzBP (µg/l)	< 0,015	< 0,015
DEHP (µg/l)	< 0,015	< 0,015

Tabel 32. Concentrații ftalați în lacul Tarnița

Contrar așteptărilor nu a fost identificat DEHP (acesta fiind normat în legislația din România la 1,3 µg/l în apele de suprafață) în contextul în care în apă existau numeroase reziduuri PET și un alt studiu a arătat transferul acestuia din ambalaj în apa imbuteliată (Dumitrașcu, 2012). Ca și în cazul celorlalți compuși transferul și biodegradarea DEHP sunt în strânsă interdependență cu pH-ul apei, prezența radiației solare și temperatura (Dumitrașcu, 2012).

B. Stația de tratare Gilău

Probele de apă recoltate la stația de tratare Gilău pe trepte tehnologice au fost caracterizate și din punct de vedere fizico-chimic (date preluate ulterior de la laboratorul stației de tratare Gilău aparținând operatorului regional, Compania de Apă Someș SA, pentru ziua recoltării și ziua următoare) (tabel 33).

Prin determinarea parametrilor uzuali se arată concordanța calității apei potabile cu normativele naționale și europene pentru parametrii prezentați. Parametrii analizați ne permit să caracterizăm apa brută ca o apă cu turbiditate mică, pH ușor alcalin, cu un conținut redus de săruri și cu încărcătura foarte mică de substanțe cu conținut de azot (amoniu, azotiți și azotați).

În ceea ce privește apa complet tratată analiza aceluiași parametri în cele trei rezervoare arată că apa își păstrează caracteristicile menționate mai sus.

În cazul apei brute prelucrată de stația de tratare Gilău (priza de aducțiune este sub luciul apei la 20 m) s-a identificat numai câte un compus dintre cei analizați (figura 26), DiBP în concentrație de 0,047 µg/l în februarie 2015 și DBP în concentrație de 0,027 µg/l în septembrie 2014, acestea fiind mai mici decât la suprafața lacului.

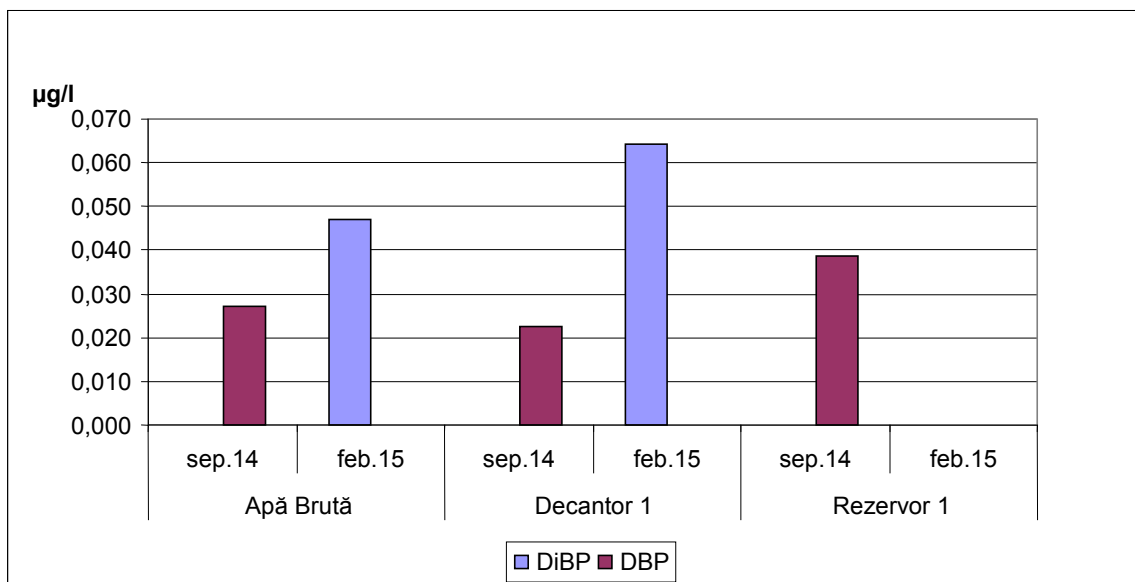


Figura 26. Concentrațiile de ftalați pe parcursul procesului de tratare

Având în vedere că aducțiunea de la priza de apă până la stația de tratare unde am prelevat proba de apă brută pentru analiză este, așa cum am arătat, din fibră de sticlă și ca urmare excludem contaminarea cu ftalați pe traseu, prezența acestor compuși în apa brută se datorează, cel mai probabil, reziduurilor de PET din apă atât în lacul Tarnița cât și în lacurile din amonte, curenții ascensionali și descendenți transportând spre adâncime o parte dintre ftalații prezenți la suprafață care nu se mai pot degrada.

Din cei patru compuși analizați am putut identifica în campania de prelevare din luna septembrie 2014 numai DBP și numai pe linia tehnologică 1, respectiv apă decantor 1 și apă rezervor 1. În luna februarie 2015 am identificat doar DiBP, în decantorul 1, în concentrație mai mare decât în apa brută (figura 26).

Singurul studiu pe care l-am găsit publicat în literatura de specialitate referitor la influența procesului de tratare a apei asupra concentrației substanțelor cu potențial disruptor endocrin în apa potabilă este cel al lui Li et al., 2010, care au arătat că nu există o îndepărtare efectivă a acestora din apă în cursul procesului de tratare. Studiul a concluzionat de asemenea că DBP-ul a contribuit cu 50-100% la coeficientul de toxicitate echivalentă în studiul experimental asociat.

C. Rețeaua de distribuție

Din cele trei rezervoare cu apă complet tratată corespunzătoare liniilor tehnologice, apa intră în conducția magistrală de transport spre localitățile din aval, această conductă fiind din beton precomprimat tip premo. De la rezervoarele de apă din oraș până la consumatori rețeaua de distribuție este mixtă din punct de vedere al materialelor folosite, în principal fiind din oțel și polietilenă de înaltă densitate.

Rezultatele din tabelul 35 ne arată că din cei 4 compuși a fost identificat DiBP atât în etapa de recoltare din septembrie 2014 cât și în cea din februarie 2015, iar DBP numai într-un punct în etapa din septembrie 2014.

Punct de prelevare	DiBP		DBP		BzBP		DEHP	
	(μg/l)		(μg/l)		(μg/l)		(μg/l)	
	11.09. 2014	24.02. 2015	11.09. 2014	24.02. 2015	11.09. 2014	24.02. 2015	11.09. 2014	24.02. 2015
Mănăștur	< 0,015	< 0,015	< 0,015	< 0,015	< 0,015	< 0,015	< 0,015	< 0,015
Florești	0,105	0,201	< 0,015	< 0,015	< 0,015	< 0,015	< 0,015	< 0,015
Gruia	< 0,015	0,061	< 0,015	< 0,015	< 0,015	< 0,015	< 0,015	< 0,015
Dâmbu Rotund	0,308	0,128	0,044	< 0,015	< 0,015	< 0,015	< 0,015	< 0,015
Grigorescu	< 0,015	< 0,015	< 0,015	< 0,015	< 0,015	< 0,015	< 0,015	< 0,015
Zorilor	< 0,015	< 0,015	< 0,015	< 0,015	< 0,015	< 0,015	< 0,015	< 0,015
Gheorghieni	< 0,015	< 0,015	< 0,015	< 0,015	< 0,015	< 0,015	< 0,015	< 0,015
Mărăști	< 0,015	< 0,015	< 0,015	< 0,015	< 0,015	< 0,015	< 0,015	< 0,015

Tabel 35. Concentrația ftalaților în rețeaua de distribuție

Calculând un scor, pe care l-am denumit de risc, prin însumarea concentrației celor doi compuși observăm că în etapa din septembrie 2014 proba de apă din Dâmbu Rotund a avut scorul de risc cel mai mare, urmată de proba de apă din satul Florești. Situația se inversează în etapa februarie 2015, unde scorul de risc cel mai mare a fost în Florești urmat de Dâmbu Rotund.

Singurul compus reglementat în România în apele de suprafață și recomandat de Organizația Mondială a Sănătății să se urmărească în apa potabilă este di-2(etilhexil)ftalatul (WHO, 2008), care nu a fost detectat în nici una dintre probele de apă potabilă analizate.

4.4. Biomarkeri de expunere umană la ftalați

În raportul Comisiei pentru Siguranța Consumatorului din Statele Unite elaborat în 2014, pornind de la datele preexistente în literatura de specialitate, biomonitorizarea umană este definită ca o măsură integrată a expunerii din surse multiple și pe căi diferite (CHAP, 2014). Tot în acest raport se menționează că biomonitorizarea umană permite o evaluare integrată a expunerii chiar și atunci când expunerea este necunoscută cantitativ și calitativ la fel și dacă nu se cunoaște contribuția diferitelor căi de expunere.

Urina este matricea ideală pentru determinarea expunerii la ftalați, metaboliții urinari ai ftalaților fiind măsurați într-un număr tot mai mare de studii de biomonitorizare umană (Koch et al, 2004b; Silva et al., 2006; Koch & Calafat, 2009; Guo et al, 2011; CHAP, 2014). Având în vedere și faptul că recoltarea probelor de urină este o metoda neinvazivă, în modelele noastre am ales determinarea metaboliților din această matrice.

Ne-am propus analiza biomarkerilor de expunere din urină la ftalați la subiecți umani, voluntari. Pentru acesta am pus la punct metoda de determinare prezentată în continuare.

4.4.1 Cercetări privind metoda de determinare a metaboliților din urină - studiu pilot

Probele de urină utilizate pentru punerea la punct a metodei și validarea ei au fost prelevate de la un număr de 43 de subiecți care au participat într-un alt studiu al colectivului nostru. Subiecții și-au dat acordul în scris pentru colectarea probei de urină în vederea determinării concentrației de metaboliți ai ftalaților.

Metaboliții ftalaților determinați au fost mono butil ftalatul (MBP), mono-2(etilhexil) ftalatul (MEHP), mono(2-etil-5-oxohexil)ftalatul (5-oxo-MEHP), mono(2-etil-5-hidroxihexil)ftalatul (5-OH-MEHP) și mono benzil ftalatul (MBzP), motivația alegerii acestora fiind dată de faptul că sunt metaboliții ftalaților interziși în uniunea europeană în ambalaje care intră în contact cu alimentele conform directivei europene 2007/19/CE.

Pentru a stabili parametrii optimi de analiză a metaboliților din urină menționați în capitolul 4.1.6 s-au făcut determinări pe probe de urină în diferite condiții. S-au analizat câte trei probe pregătite conform 4.1.6, dar timpul de hidroliză

a fost de 1,5 h, 2,5 h și 3 ore. De asemenea s-au modificat atât cantitatea de agent de derivatizare, cât și timpul de derivatizare. pentru fiecare situație analizându-se câte trei replicare.

S-a constatat că un timp mai mic de termostatare nu este suficient pentru hidroliza enzimatică, iar un timp mai mare nu influențează semnificativ acest proces. În același mod acționează timpul de derivatizare care s-a constatat că este suficient 1 h pentru completarea derivatizării cu o cantitate de 100 μ l de agent de derivatizare.

Datele statistice s-au obținut luând în considerare exprimarea în μ g/g creatinină, aceasta analizându-se conform metodei descrise la capitolul 4.1.2.

Rezultatele obținute în studiul pilot în cadrul căruia am pus la punct metoda de determinare a ftalaților a permis identificarea tuturor celor cinci metaboliți în concentrații diferite în probele de urină analizate.

Prelucrarea statistică sumară a valorilor concentrațiilor între care au fost identificați acești compuși sunt prezentate în tabelul 36.

	MBP	MEHP	MBzP	5-oxo-MEHP	5-OH-MEHP
	μg/g cr	μg/g cr	μg/g cr	μg/g cr	μg/g cr
mediana	17,31	15,12	6,56	7,04	9,03
media	37,30	21,30	14,63	9,77	16,51
minim	2,65	1,48	1,00	2,51	1,97
maxim	295,51	91,90	182,92	34,07	88,65

Tabel 36. Valorile metaboliților în urină - studiu pilot

Comparând plajele de valori (diferența între minim și maxim), acestea au fost variabile, de la 1,00 μ g/g creatinină în cazul MBzP-ului la 295,51 μ g/g creatinină în cazul MBP-ului, ceea ce ne permite să considerăm ca metoda pusă la punct de noi este aplicabilă chiar dacă performanțele tehnice ale aparaturii avută la dispoziție nu permite coborârea limitei de detecție mai mult.

4.4.2 Evaluarea expunerii la ftalați prin biomarkeri de expunere la un lot de subiecți umani voluntari

Scopul acestui studiu a fost evaluarea expunerii la ftalați și încercarea cuantificării contribuției consumului de apă (rețea publică și apă îmbuteliată) la contaminarea cu ftalați a organismului.

Designul studiului:

S-a luat în studiu un lot de 25 de subiecți cu domiciliul permanent în județul Cluj. Toți subiecții examinați au în comun aprovizionarea cu apă din același sistem central (sursa - lacul Tarnița, stația de tratare Gilău) și lucrează în aceeași instituție

Subiecții și-au dat consimțământul în scris pentru a participa la un studiu pe bază de chestionar legat de posibilele surse de expunere la ftalați și pentru colectarea unei probe de urină pentru măsurarea biomarkerilor de expunere (metaboliți primari, secundari și terțiari ai ftalaților).

Participanții la studiu au fost rugați să nu își schimbe obiceiul de a bea apă sau alte băuturi îmbuteliate în ambalaje din plastic, de a consuma hrană ambalată în plastic (pungi, containere de alimente tip catering, pahare de unică folosință) și în general stilul de viață, în intervalul de timp dintre acordul de participare în studiu și recoltarea probei de urină. S-a utilizat o parte dintr-un chestionar validat într-un alt studiu, care a fost modificat și adaptat scopului studiului nostru și lotului de subiecți participanți, acesta fiind administrat de o persoană specializată și instruită în acest scop.

Subiecții au colectat proba de urină din prima micțiune de dimineață și au transportat-o la laborator unde a fost analizată în aceeași zi. Predarea probei de urină a fost însoțită de completarea unui alt chestionar cu întrebări legate de cantitatea de apă și alimente ambalate sau încălzite în cuptorul cu microunde consumate în ziua anterioară colectării probei.

Rezultate și discuții

a) Chestionarul

Vârsta celor 25 de subiecți a fost cuprinsă între 23 și 67 de ani, în lot fiind incluși 17 femei și 8 bărbați.

Dintre subiecți, 14 din cei 25 (56%) locuiesc de peste 10 ani în localitatea de reședință, iar 24 din 25 (96,5 %) afirmă că sursa de apă nu a fost schimbată în locuință.

În ceea ce privește modul de păstrare al băuturilor îmbuteliate toți subiecții participanți în studiul de biomonitorizare au declarat că la serviciu acestea stau la temperatura camerei, în timp ce acasă 13,6 % dintre cei care consumă le păstrează la frigider.

În ansamblu la lotul nostru de subiecți consumul de apă pe zi (de toate tipurile, acasă și la locul de muncă) este de aproximativ $1,29 \pm 0,63$ l/zi și un consum de $0,35 \pm 0,16$ l/zi pentru băuturi calde (ceai, cafea) preparate cu apă din rețeaua publică de distribuție.

În ceea ce privește consumul de alimente preambalate sau fast food, 80 % dintre subiecți declară un consum mai rar de o dată pe săptămâna acasă, dar în proporție ușor mai mare (83,3 %) au un astfel de consum la locul de muncă.

Dacă 32 % dintre subiecți încălzesc mâncarea la microunde acasă, 42,9 % dintre aceștia o încălzesc de 2-3 ori pe săptămână și un procent similar zilnic sau mai rar de două ori pe săptămână. Situația se inversează la locul de muncă unde două treimi dintre subiecți încălzesc mâncarea la microunde, 81,25 % dintre aceștia în fiecare zi.

O altă secțiune a chestionarului a vizat utilizarea produselor de îngrijire personală adresate în mod egal bărbaților și femeilor. La întrebările care s-au referit la utilizarea fardurilor/machiajului și a lacului de unghii răspunsurile au arătat că 6 din 17 femei (35%) le folosesc zilnic, restul cu o frecvență redusă. Per total în cadrul lotului de subiecți luați în studiu, șampoanele sunt utilizate de 18 din cei 25 de subiecți (72 %) cu frecvență mare (la fiecare 2 zile). De asemenea, cu frecvență mare (zilnic) sunt utilizate cremele și parfumurile, cea mai mare parte dintre subiecți (92 %) utilizând cel mai frecvent deodorantul.

Alte surse posibile de expunere la ftalați despre care am pus întrebări în chestionarul nostru sunt utilizarea pardoselilor și a tapetului tip PVC, 92 % și respectiv 76 % dintre subiecți au declarat că nu au astfel de materiale în interiorul locuinței.

Întrebările referitoare la timpul petrecut în mașină și vechimea acesteia (materialele plastice din interiorul mașinii sunt surse cunoscute de ftalați) au arătat o împărțire relativ apropiată a subiecților care petrec mai puțin de o oră (37,5 %) sau 1-2 ore zilnic în mașină (33,3 %), 29,2 % petrecând mai mult de 2 ore zilnic în mașină. Dintre subiecți 36,4 % au declarat că mașina are o vechime de peste 10 ani.

Purtarea mănușilor de plastic este declarată ca "niciodată" de către 72 % dintre participanți.

b) Biomonitorizarea expunerii la ftalați

La cei 25 de subiecți am urmărit aceiași metaboliți care s-au determinat în cadrul studiului pilot de punere la punct a metodei prin extracție lichid-lichid, urmată de derivatizare și cromatografie în fază gazoasă cuplată cu spectrometrie de masă.

Ne-am propus să evaluăm relația dintre concentrațiile urinare de metaboliți și consumul de apă și alimente, de aceea întrebările referitoare la comportamentul din ultimele 24 h înainte de recoltarea probei de urină se referă numai la consumul acestora.

Dintre cei cinci metaboliți urmăriți, 5-oxo-MEHP și 5-OH-MEHP, care sunt metaboliți secundar și terțiar ai di-2(etilhexil) ftalatului, au fost identificați în concentrații variabile la toți subiecții; MEHP-ul, metabolit primar al aceluiași compus, a fost identificat la 24 din cei 25 de subiecți (96%). MBP-ul, metabolit primar al dibutil ftalatului, a fost identificat la 21 dintre cei 25 de subiecți (80 %), în timp ce MBzP, metabolit primar al butilbenzil ftalatului, a fost identificat la cel mai mic număr de subiecți, 16 din cei 25 (64 %).

Statistica sumară a concentrațiilor măsurate ale acestor metaboliți este prezentată în tabelul 38.

	MBP	MEHP	MBzP	5-OH-MEHP	5-oxo-MEHP
	μg/g cr	μg/g cr	μg/g cr	μg/g cr	μg/g cr
mediana	10,09	7,23	2,97	17,49	14,07
media	16,43	8,44	2,99	20,15	20,06
minim	0,87	2,24	0,41	2,06	2,22
maxim	53,72	19,41	10,37	58,47	66,53

Tabel 38. Concentrațiile metaboliților la lotul de subiecți investigat

La 15 dintre cei 25 subiecți (60 %) au fost identificați toți cinci metaboliți urmăriți, semnificând o expunere certă la trei ftalați (DBP, DEHP și BBzP).

Se observă că cele mai mari concentrații medii (figura 29) au fost măsurate în cazul metaboliților secundari și terțiar ai di-2(etilhexil)ftalatului 20,15 μg/g creatinină, respectiv 20,06 μg/g creatinină. Metabolitul primar al acestuia (MEHP-ul), identificat în proporție de 96 % a avut o concentrație medie la lotul investigat de 8,71 μg/g creatinină, ceea ce ne face să estimăm că grupul în ansamblu nu a avut expunere semnificativă în ultimele 48 h.

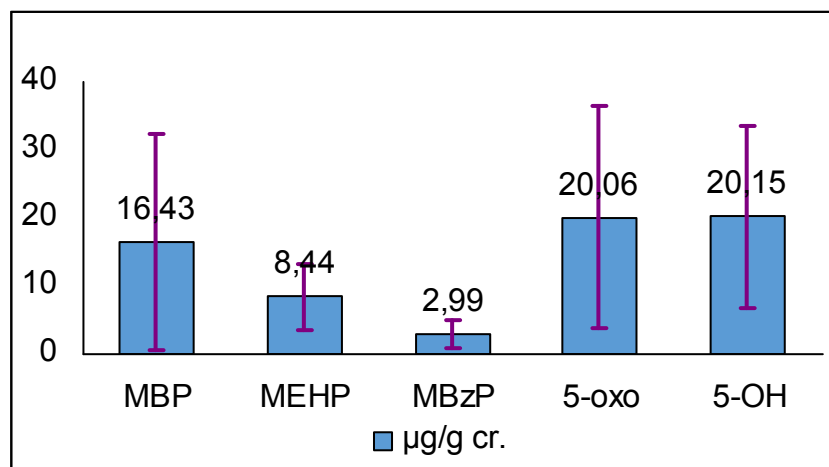


Figura 29. Valori medii ale metabolizilor din urină (total)

În ceea ce privește valorile medii ale concentrațiilor metabolizilor analizați, din figura 30 observăm că apar diferențe între femei și bărbați, acestea fiind semnificative statistic numai în cazul metabolizilor primari.

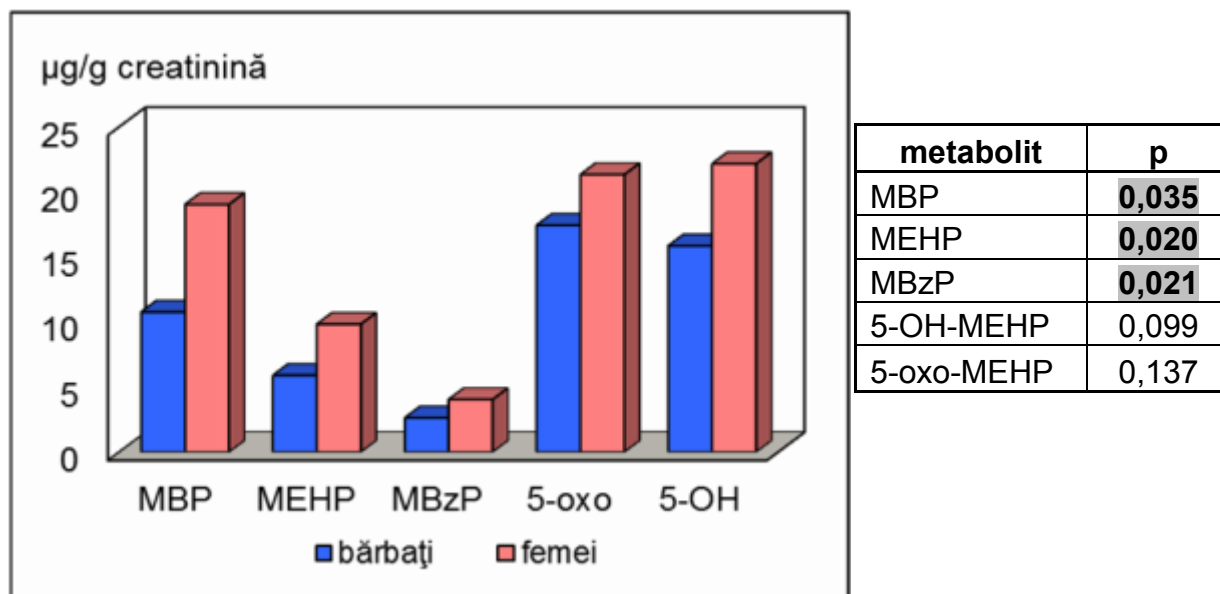


Figura 30. Valori medii și testul t-Student între persoane de sex opus

Literatura de specialitate menționează faptul că ftalații sunt reținuți pentru un timp mai îndelungat în țesutul adipos (Chiang et al., 2014) motiv pentru care în lucrarea noastră prezentăm comparativ concentrațiile acestor metabolizi în urină în funcție de indicele de masă corporală și în funcție de rezultatele obținute le-am

împărțit în două grupuri: mai mic de 25 și peste 25 (persoanele cu indicele mai mare de 25 fiind considerate supraponderale).

Dintre cei opt bărbați investigați unul singur a depășit pragul de supraponderalitate, în timp ce la femei 47% au depășit acest prag. În acest context am asociat concentrațiile ftalaților din urină numai în cazul persoanelor de sex feminin. În figura 31 se observă că în cazul DBP-ului diferențele sunt semnificative statistic ($p=0,014$). În cazul femeilor care depășesc indicele de supraponderabilitate concentrațiile medii ale metaboliților sunt mai mari, țesutul adipos funcționând ca un depozit de unde eliberarea se face gradual.

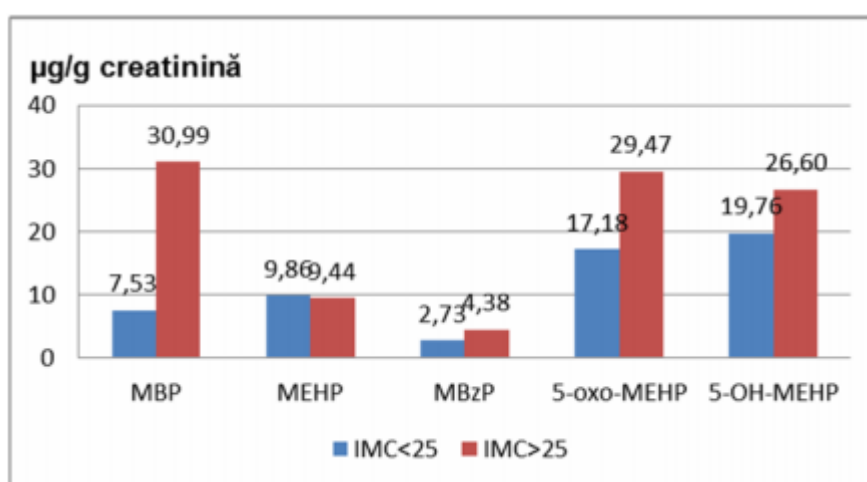


Figura 31. Concentrațiile metaboliților în urină în funcție de indicele de masă corporală, în cazul femeilor

c) Asocieri cu posibile riscuri identificate (ftalați în apă și alimente)

Alți factori de risc, pe lângă obiceiurile legate de consumul de apă, îl reprezintă atât încălzirea mâncării în cuptorul cu microunde în recipiente din plastic, utilizarea produselor cosmetice, de îngrijire personală cât și mașina utilizată.

Cea mai mare parte a subiecților (64%) beau apă atât din rețeaua de distribuție cât și apă îmbuteliată, în timp ce numai 3 subiecți beau apă numai din sistemul public. Ca urmare interpretarea concentrației metaboliților ftalaților în urină în contextul unui anumit tip de consum de apă este dificil de făcut.

Referitor la ziua de dinaintea expunerii, răspunsurile date la întrebările chestionarului privind consumul de apă în ultimele 24 h care au precedat recoltarea probei de urină au arătat că subiecții și-au păstrat același comportament privind

consumul de apă cu cel declarat în chestionarul completat la demararea studiului (9 numai îmbuteliată, 3 rețea, 13 mixt).

În cazul utilizării cuptoarelor cu microunde pentru încălzirea alimentelor în vase de plastic rezultatele au arătat o diferență semnificativă din punct de vedere statistic pentru doi dintre cei cinci metaboliți, și anume 5-oxo-MEHP ($p=0,029$) și 5-OH-MEHP ($p=0,039$), persoanele care au acest obicei având concentrații mult mai mari în urină față de cei care nu au acest comportament (figura 32).

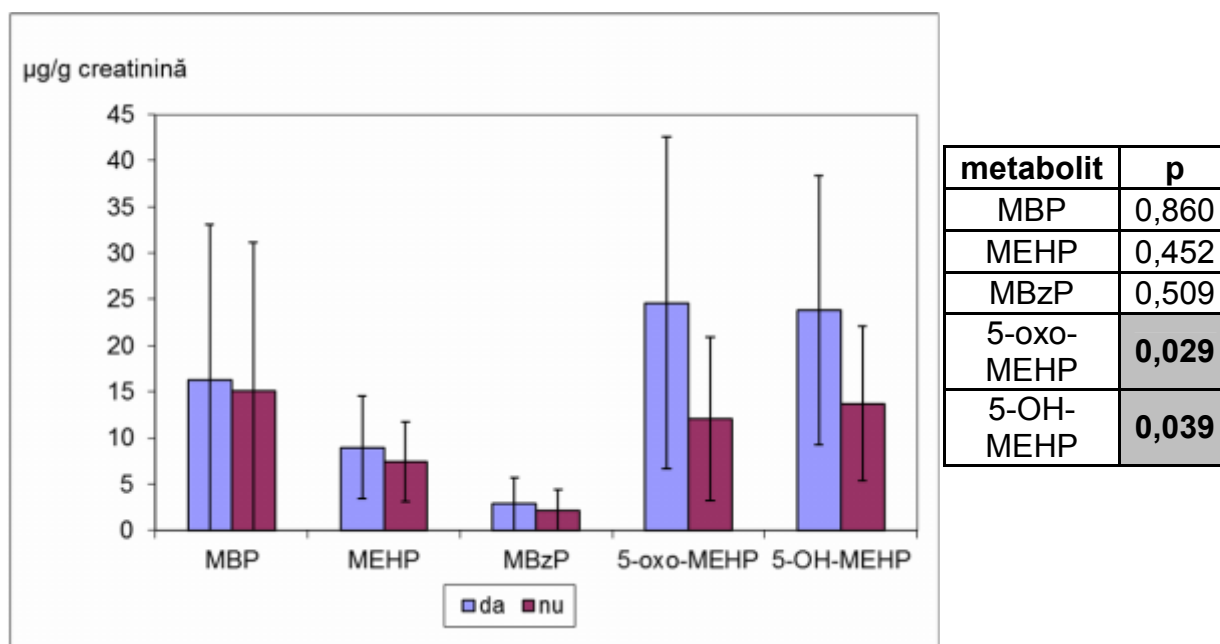


Figura 32. Valori medii și testul t-Student între concentrațiile biomarkerilor urinari în funcție de utilizarea cuptorului cu microunde pentru încălzit alimente

Spre deosebire de date publicate recent (Cerna et al, 2014) care au găsit că singurul factor care conduce la diferențe semnificative ale concentrației ftalaților în urină este utilizarea produselor de îngrijire personală, în studiul nostru, efectuat pe un număr mic de subiecți, nu am găsit o astfel de asocieră.

d) Aportul zilnic

Stabilirea aportului zilnic este crucial în stabilirea relației doză-efect și de fapt de anticipare a posibilelor efecte secundare asupra stării de sănătate.

În acest subcapitol ne-am propus calculul aportului zilnic de ftalați, pe baza tuturor căilor de expunere (ingestie, inhalare, contact dermic), pe baza concentrației metaboliților urinari măsurați la toți subiecții din studiile noastre (68 de subiecți).

Pentru calculul aportului de DEHP s-au însumat concentrațiile celor trei metaboliți analizați pe baza factorilor de excreție urinară.

Rezultatele au fost comparate cu valorile găsite în alte studii de biomonitorizare și cu valorile de referință internaționale (EFSA).

Metoda principală de evaluare a riscului la cancer, pentru un anumit nivel de expunere, în cazul amestecurilor care conțin substanțe chimice, este calcularea indicelui de hazard al ftalaților prin însumarea aportului zilnic pentru fiecare ftalat raportat la valorile de referință (Christensen et al, 2014; Frederiksen et al., 2014). Metoda este în mod specific recomandată pentru grupuri de substanțe chimice similare din punct de vedere toxicologic pentru care există date în ceea ce privește relația doză-răspuns (EPA,2004).

Rezultate și discuții

În tabelul 40 prezentăm statistica sumară a aportului zilnic a trei ftalați la lotul de 25 subiecți voluntari care au participat în studiul de biomonitorizare în relație cu expunerea la multiple surse de ftalați.

	DBP μg/kg Corp/zi	DEHP μg/kg Corp/zi	BBzP μg/kg Corp/zi
mediana	0,398	2,195	0,068
media	0,495	2,611	0,067
minim	0,022	0,615	0,0002
maxim	1,464	5,926	0,267
valoare referință	10	50	500

Tabel 40. Statistica sumară a aportului zilnic calculat și a valorilor de referință

Media aportului zilnic pentru fiecare din cei trei compuși a fost mai mare la femeii decât la bărbați, BBzP fiind singurul semnificativ mai mare din punct de vedere statistic ($p=0,0001$).

Autoritatea Europeană pentru Siguranța Alimentară (EFSA) recomandă ca și aport zilnic de referință următoarele valori: 10 μg/kg Corp/zi pentru DBP, 50 μg/kg Corp/zi pentru DEHP și 500 μg/kg Corp/zi pentru BBzP. Raportat la aceste valori de referință nici unul dintre subiecți nu s-a apropiat de acestea, mai mult toate valorile au fost cu un ordin de mărime, chiar trei ordine de mărime (în cazul BBzP) mai mici.

Valorile obținute de noi pentru aportul zilnic sunt ușor mai mari decât cele obținute în Franța de Martine et al, 2013 care au calculat un aport zilnic doar pe baza concentrațiilor acestora în apa potabilă, alimente și aerul ambiental.

În practică, din cauza lipsei de informații privind modul de acțiune și farmacocinetică, cerința similitudinii din punct de vedere toxicologic se rezumă la similitudinea organului țintă (sistemul endocrin). O modalitate luată în calcul de asociere a expunerii la ftalați cu posibilele efecte asupra sănătății este indicele de hazard.

Valoarea medie a indicilor de hazard a fost 0,102 (valori între 0,017 și 0,249), cu un ordin de mărime mai mic decât valoarea 1 peste care se consideră că ar putea apărea efecte toxicologice ale substanțelor studiate ceea ce sugerează că sănătatea subiecților nu este periclitată din punct de vedere al expunerii la ftalați în momentul de față.

Având în vedere că indicii de hazard calculați pentru lotul de 25 de subiecți la care am aplicat un chestionar complex privind posibilele surse de expunere la ftalați insistând asupra consumului de apă au fost mici, am calculat indicii de hazard și pentru lotul de subiecți participanți într-un alt studiu al colectivului nostru ale căror probe de urină au fost utilizate pentru punerea la punct a metodei de analiză.

În situația acestui lot de subiecți indicii de hazard calculați au oscilat între 0,015 și 1,123, media fiind 0,122 cu mult sub valoarea 1 considerată critică în expectanța efectelor relaționate expunerii la ftalați. Trebuie scos în evidență faptul că unul din subiecții a căror urină am analizat-o în cadrul studiului pilot a avut indicele de hazard peste 1 (1,123) semnificând că exista un risc potențial de efect antiandrogenic, acesta având un aport zilnic pentru DBP mai mare decât valoarea de referință (11,23 $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{corp}}/\text{zi}$).

Dacă privim comparativ la cele două loturi de probe de urină analizate mediana valorilor coeficienților de hazard (pentru fiecare compus individual) observăm din figura 34 că în ambele situații DEHP-ul este cel care contribuie cu mai bine de jumătate la indicele de hazard. Nu trebuie uitat faptul că DEHP-ul pe lângă efectul de disruptor endocrin este singurul ftalat clasificat ca și posibil carcinogen la oameni și mai ales faptul că exista persoane, chiar și în studiul nostru, pentru care expunerea la DEHP este semnificativă și cu risc carcinogen, contribuția acestuia fiind similară în ambele loturi.

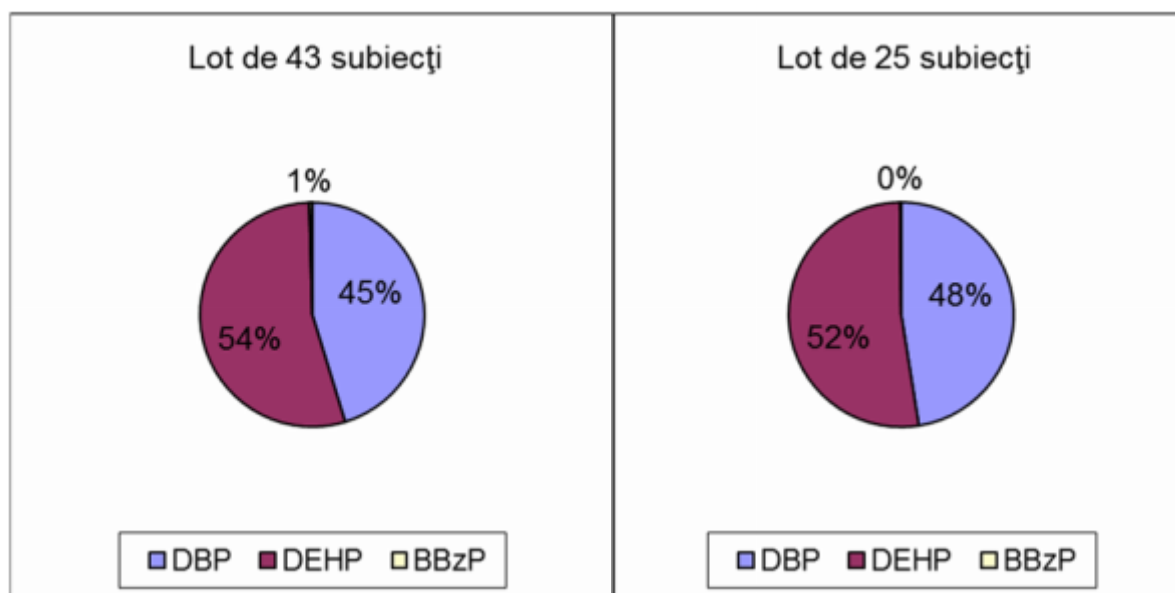


Figura 34. Contribuția ftalaților determinați la indicele de hazard calculat

4.5 Analiza comportamentelor. Factori de risc, modalități de reducere și combatere.

În etapele anterioare ale studiului nostru, din prelucurarea concentrațiilor metaboliților în urină la subiecții care au completat chestionarul de expunere la ftalați a rezultat un singur factor de risc semnificativ privind stilul de viață și anume încălzirea alimentelor în recipiente de plastic în cuprotul cu microunde.

În acest capitol ne-am propus analiza comportamentelor privind și alți factori care se pot constitui, mai ales cumulativ, într-un factor de risc potențial semnificativ în expunerea la ftalați. Un alt obiectiv este de a propune modalități de reducere și combatere a factorilor comportamentali de risc identificați.

Material și metoda

Fiecare din întrebările chestionarului legate de posibila expunere la ftalați s-a codificat acordându-i-se un număr de puncte în funcție de varianta de răspuns referitoare la aspectele cantitative și frecvența utilizării. După punctarea fiecărui răspuns s-a calculat un scor total. De asemenea s-au calculat scorurile parțiale împărțind răspunsurile din chestionar pe trei categorii: consumul de apă (atât îmbuteliată cât și de la rețeaua publică), consumul de alimente (ambalate și

încălzirea acestora în recipiente de plastic sau de unică folosință) și stilul de viață (folosirea cosmeticelor, utilizarea mașinii, finisajul interiorului locuinței).

Am stabilit un scor ideal de 15 puncte relaționat unei expuneri mici la ftalați prin adoptarea unui stil de viață care să limiteze interacțiunea cu produsele cu conținut de ftalați.

Rezultate și discuții

Scorarea comportamentală efectuată după cum am arătat mai sus arată pentru subiecții investigați un scor mediu pentru consumul de apă de 6,4 și pentru alimente și stil de viață un scor similar (17,96, respectiv 17,28). Scorul total mediu pentru lotul de subiecți chestionați a fost de 41,64 .

Comparat cu scorul ideal, cele mai mari deviații (figura 35) în ceea ce privește expunerea la ftalați apar în cazul stilului de viață și a alimentelor.

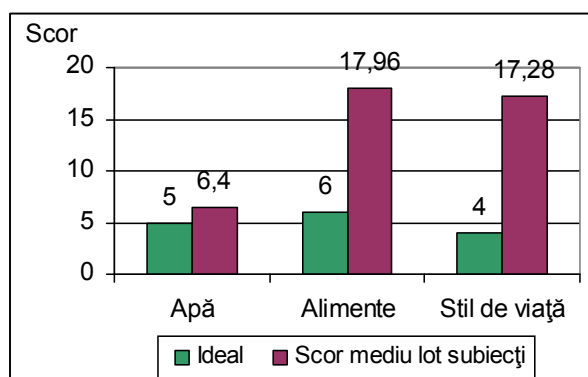


Figura 35. Scor mediu pe categorii

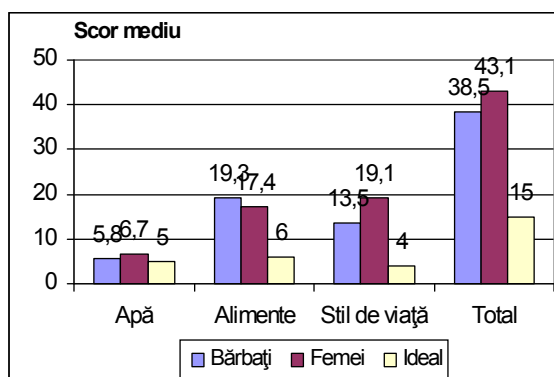


Figura 36. Scor mediu pe sexe

Calculul separat al scorului pentru femei și bărbați (figura 36) a arătat diferențe între aceste două categorii ale scorului mediu. Pentru alimente și apă acestea sunt apropiate, dar pentru stilul de viață există o diferență semnificativă în cazul persoanelor de sex feminin, valoarea testului t-Student fiind de 0,005 în acest caz (o valoare sub 0,05 arătând o corelare între cele două categorii analizate).

Raportat la scorul ideal calculat observăm că în ceea ce privește obiceiurile de a consuma apă sunt mai aproape de ideal valorile medii obținute pentru bărbați (5,8), în timp ce atât pentru femei cât și pentru bărbați scorurile pentru alimente și stil de viață sunt cu mult mai mari (alimente 19,3 și 17,4, respectiv 13,5 și 19,1) decât cele propuse pentru o viață sănătoasă din punct de vedere al expunerii la ftalați.

În continuare am împărțit scorurile totale atât pentru bărbați cât și pentru femei în trei categorii, multipli ca valoare ai scorului ideal propus: cu risc scăzut în expunerea la ftalați (15-30), risc mediu (31-45, peste de două ori valoarea ideală), respectiv risc crescut (peste 45, de mai mult de 3 ori valoarea ideală a scorului).

În cazul bărbaților cea mai mare parte dintre ei (62,5%) s-au situat în categoria de scor mediu, de până la trei ori mai mare decât scorul ideal. În cazul persoanelor de sex feminin aproximativ jumătate (47%) s-au încadrat în categoria de risc crescut, peste trei ori mai mare (≥ 46). Numai două femei (8 % din lotul investigat) și un bărbat (4 % din lotul investigat) au avut scorul de comportament calculat a fi de până de două ori mai mare față de ideal (scor calculat cuprins între 15-30). În concluzie putem spune că femeile au un comportament cu risc față de expunerea la ftalați.

Analiza comportamentului efectuat în studiul nostru indică un factor de risc care nu se regăsește în analiza statistică a concentrațiilor metaboliților din urină raportat la comportament și anume utilizarea cosmeticelor.

Modalități de reducere și combatere a riscurilor asociate expunerii la ftalați

Grupul investigat pe bază de chestionar este personal cu educație superioară care lucrează într-o instituție de profil și care vine în contact cu cercetări și rezultatele acestora din diferite segmente ale efectului antropic asupra mediului și sănătății. Cu toate acestea practicile lor comportamentale sunt cu risc în expunerea la ftalați. Beneficiind de background-ul educațional și cunoștințele specifice domeniului, un astfel de grup poate fi un grup țintă pentru care să creăm un model de schimbare eficient.

Pentru a crea un model de schimbare ca urmare a studiilor noastre ne gândim la mai multe faze:

- selectarea grupului țintă pentru promovarea și generarea schimbării comportamentale (lotul de 25 de subiecți);
- crearea unor condiții premergătoare schimbării - informare, prezentare de rezultate, îndepărtarea de la dispoziția grupului a mijloacelor care permit comportamentele nesănătoase (păstrarea corespunzătoare a apei îmbuteliate și excluderea încălzirii alimentelor în recipiente de plastic sau tip catering la cuptorul cu microunde);

- implementarea unui program demonstrativ eficient pentru adoptarea inovației sau a schimbărilor comportamentale (păstrarea corespunzătoare a apei îmbuteliate, de ex măsurarea demonstrativă a concentrației de ftalați după o perioadă de timp);
- utilizarea puterii exemplului care a avut succes pentru dispersarea schimbărilor comportamentale în alte comunități - instruirea grupului pentru diseminare ulterioară (în cadrul familiei și apropiaților).

Condițiile premeditate schimbării sunt create prin creșterea nivelului de cunoștințe și conștientizare a grupului în legătură cu beneficiile noilor practici pentru îmbunătățirea calității vieții.

Un comportament bazat pe utilizarea intensă a materialelor din plastic este un factor de risc în generarea acestui tip de deșeu care este greu biodegradabil și conduce la contaminarea mediului cu substanțe chimice (după cum s-a arătat în capitolul 4.3.2. s-au măsurat concentrații de compuși exclusiv sintetici în surse de apă de suprafață). Conform literaturii de specialitate s-au găsit concentrații mai ridicate de ftalați în apa subterană în zona depozitelor de deșeuri (Mihovec-Grdić et al., 2002).

Cantități uriașe de materiale plastice ajung la gropile de gunoi, cele mai multe dintre ele fiind poziționate în imediata vecinătate localităților și nefericit gestionate. În plus, gropile de gunoi nu reprezintă decât o ascundere a problemei, nu o rezolvare a ei, procesele întârziate de degradare naturală, infiltrațiile și cantitățile uriașe urmând a prelungi poluarea pe termen nedefinit.

Schimbarea normelor pe baza acumulării de noi cunoștințe necesită o evaluare atât din punct de vedere economic cât și social, aceasta trebuie să estimeze cât mai exact costurile financiare ale schimbării. Pe lângă costurile economice intervine și decidența politică și administrativă. Dacă aceasta lipsește e puțin probabil ca măsurile pentru educare în spiritul protejării sănătății să aibă succes.

Un prim și cel mai important pas în managementul deșeurilor de plastic și implicit efectelor asupra factorilor de mediu, a ecosistemului în ansamblu și sănătății umane este limitarea producerii de astfel de deșeuri de plastic și asta se poate face numai prin schimbarea comportamentelor umane relaționate.

Schimbarea atitudinilor/comportamentelor

Concentrarea pe schimbarea atitudinilor/comportamentelor ca mijloc principal al schimbării comportamentale trebuie să aibă ca și condiție premergătoare creșterea nivelului de conștientizare a populației în legătura cu beneficiile noilor practici propuse în îmbunătățirea calității vieții. Cercetările sugerează faptul că schimbările comportamentale și atitudinale sunt cel mai adesea eficiente atunci când se crează anumite condiții care să sprijine comportamentul dorit.

Educația socială nu este suficientă pentru promovarea unui comportament. Receptivitatea populației trebuie stimulată prin crearea unor condiții optime pentru învățarea unor noi comportamente, oferirea de resurse și inițiative pozitive pentru adoptarea acestora, precum și acordarea unui sprijin în sistemul social care să le susțină. Implementarea unui program de schimbare a comportamentelor sănătoase necesită transmiterea cunoștințelor și a noilor seturi de competențe potențialilor subiecți ce îl vor adopta. Acestora trebuie să li se ofere modele de urmat.

Rezistența la schimbare

Unii oameni sunt mai conservatori și nu adoptă cu ușurință inovațiile, alții sunt mai puțin rezistenți la inovații și le adoptă cu ușurință. O persoană este mai dornică să învețe noi practici în urma contactelor de scurtă durată și inovațiile se extind mai ușor în cadrul grupurilor cu coeziune mai mare față de cele cu legături sociale slabe.

Un program de informare a populației trebuie să fie îndreptat în principal înspre aceste două sectoare cu factor de risc ridicat (alimentație și stil de viață). Din punct de vedere al produsului și al industriei excluderea sau înlocuirea ambalajelor de unică folosință și revenirea la ambalajele returnabile (sticlă) sau biodegradabile (hârtie) pune în discuție atât aspectele economice, această industrie fiind extrem de bine dezvoltată și profitabilă, cât și aspecte politice. Pe de altă parte reducerea ambalajelor de plastic ar reprezenta pentru mediul înconjurător cel puțin două beneficii majore: îmbunătățirea managementului deșeurilor deoarece nu sunt reciclate și în al doilea rând de contaminarea surselor în cazul depozitelor de deșeurii care înglobează deșeurile de plastic, descompunerea acestora conducând la un levigat inclusiv cu ftalați cu posibilități de contaminare a pânzei freatică (depozite de deșeurii vechi neecologice).

În cadrul programului de intervenție ar trebui să fie specificat pe eticheta produselor cosmetice (cum se specifică pentru parabeni), cel puțin DEHP care e

identificat ca posibil cancerigen; materialele utilizate să aibă o calitate, un conținut minim de ftalați (în literatura de specialitate am găsit studii care au arătat un transfer al ftalaților din ambalaje în apă în concentrații mult mai mici decât ceea ce am găsit noi, ceea ce înseamnă că există posibilitatea tehnică a utilizării unor materiale de calitate mai bună. Populația trebuie instruită să citească eticheta și să aleagă între un produs ambalat în material plastic (sau plastifiat) și unul biodegradabil (hârtie) sau neutru (sticlă).

5. Concluzii generale

Ftalații ocupă un loc aparte în toxicologia actuală datorită prezenței aproape ubiquitare în mediu și a multiplelor efecte asupra organismului uman, de o severitate complexă ce include și posibila carcinogeneză.

Studiul nostru a fost structurat în patru direcții:

- punerea la punct a metodelor de analiză a ftalaților din lichide și matrici biologice;
- cercetarea transferului ftalaților din ambalaje în conținut (apă îmbuteliată, alimente);
- determinarea conținutului de ftalați din apă potabilă în sisteme centrale de aprovizionare;
- măsurarea biomarkerilor expunerii umane la ftalați și calculul expunerii integrate la trei diesteri ai acidului ftalic.

Dezvoltarea de noi metode de analiză care să poată identifica concentrații mici ale acestor compuși este o cerință actuală a metodelor analitice care se adresează diverselor matrici în care acești compuși sunt prezenți.

Datorită particularităților specifice atât fiecărui instrument analitic, cât mai ales analistului, metodele gaz cromatografice de analiză pot fi îmbunătățite prin varierea ușoară a condițiilor de lucru (programul de temperatură al cuptorului, temperatura portului de injecție, debitul gazului purtător, volumul și tipul de injecție).

Evaluarea parametrilor de performanță ai metodelor de analiză, cum ar fi limita de determinare, precizia, acuratețea, recuperarea și incertitudinea, din diferite matrici mai mult sau mai puțin complexe (apă/urină) demonstrează că acestea sunt potrivite pentru scopul propus, îndeplinind cerințele stabilite.

Metoda de analiză a ftalaților din probe lichide (apă îmbuteliată și ambaleje tip catering) pusă la punct de noi a permis identificarea acestora în diferite condiții experimentale de măsurare.

Condițiile de păstrare, durata contactului dintre conținut și ambalaj, temperatura (ridicată) la fel ca și pH-ul (alcalin) sunt factori care contribuie, alături de tipul de ambalaj, cantitatea de plastifianți din ambalaj și procesul de îmbuteliere-ambalare, la cantitatea de compuși regăsită în apă.

Concentrația de ftalați măsurată de noi la deschiderea ambalajului a depășit normele US-EPA pentru una dintre probe, în timp ce după 25 de zile de păstrare la temperatura camerei au fost depășite recomandările OMS pentru trei din cele cinci probe de apă îmbuteliată analizate.

În studiul nostru nici una din sursele de apă subterană (din mediul rural) nu a fost contaminată cu ftalați, spre deosebire de sursa de apă de suprafață investigată care a fost contaminată cu acești compuși, datorită, cel mai probabil, contaminării cu deșeuri de recipiente PET.

Deși în concentrații mici, dar crescând în cursul procesului de tratare a apei, la intrarea în rețeaua de distribuție DBP-ul a fost identificat numai la stația de tratare a sursei de suprafață.

În rețelele de distribuție s-au identificat doi compuși (DBP și DiBP). Aceștia au fost măsurați în concentrații variabile în toate sistemele de aprovizionare investigate, cele mai mari concentrații măsurându-se în rețele exclusiv din conducte HDPE.

La fel ca și parametrii uzuali de monitorizare curentă a calității apei prezența ftalaților este influențată de materialele folosite la construcția conductelor din rețeaua de distribuție (în cazul ftalaților HDPE), din care se pot elibera ftalați în apa de băut cu contribuție la aportul zilnic a acestor categorii de compuși cunoscuți cu efecte asupra stării de sănătate.

Rezultatele studiului nostru sugerează, în cazul sursei de apă de suprafață și a probelor analizate la finalul unor trepte tehnologice, rolul temperaturii și a radiațiilor ultraviolete în biodegradarea DiBP.

În sens invers creșterea concentrației ftalaților a rezultat a fi influențată de stagnarea apei în rețeaua de distribuție și pH-ul ușor alcalin, care se constituie în

factori favorizanți în migrarea ftalaților înspre apa potabilă din conducte, reflectată în rata de creștere a concentrației compușilor identificați.

Biomonitorizarea expunerii la ftalați prin metoda de determinare a metaboliților acestora pusă la punct de noi a permis identificarea tuturor celor cinci metaboliți în probele de urină analizate. Biomonitorizarea s-a efectuat la un lot de subiecți la care, conform chestionarului aplicat, am putut identifica particularitățile consumului de apă, frecvența utilizării produselor de îngrijire personală, comportamentele privind păstrarea/încălzirea apei/alimentelor și despre mediul de viață.

Concentrațiile metaboliților în urină determinate de noi sunt cu mult mai mari față de valorile obținute în SUA pentru populația cu vârsta > 20 ani, în schimb comparativ cu concentrații din țări europene sunt mai mici pentru MBzP, dar ușor mai mari pentru metaboliții DEHP-ului.

Diferențe semnificative statistic privind concentrațiile metaboliților în urină în cadrul lotului de subiecți investigați s-au înregistrat între persoane de sex opus.

Analiza comportamentelor subiecților pe baza unui scor prestabilit ca ideal a arătat că femeile au un comportament cu risc față de bărbați în expunerea la ftalați și că pentru femei folosirea cosmeticelor ar fi principalul factor de risc.

În cazul femeilor care depășesc indicele de supraponderabilitate concentrația medie mai mare ne indică faptul că avem diferențe semnificative în ceea ce privește excreția urinară a metaboliților.

Încălzirea alimentelor în vase de plastic în cuptorul cu microunde a făcut diferența între concentrațiile metaboliților urmăriți în urină, aceasta fiind singura semnificativ statistic din punct de vedere al stilului de viață la subiecții care au acest comportament alimentar, pe baza informațiilor date de răspunsurile la chestionar.

Datorită particularităților metabolice, analizarea unei singure probe de urină nu permite determinarea momentului în spațiu și timp când pot să apară cele mai mari expuneri la ftalați, și ca urmare concentrațiile metaboliților în urină, existând o incertitudine intrinsec asociată, ceea ce poate constitui o limitare în evaluarea riscului cumulativ.

Aportul zilnic de ftalați calculat pe baza metaboliților urinari măsurați a avut cea mai mare valoare medie pentru DEHP, urmat de DBP și BBzP, acesta din urmă fiind semnificativ mai mare la femei decât la bărbați ($p=0,0001$). Toate valorile

calculate pentru lotul de subiecți din studiul de biomonitorizare au fost cu mult mai mici decât aportul zilnic de referință, conducând la indici de hazard sub 1.

Monitorizarea de control și cea de audit a calității apei de băut cu rezultate care corespund cu legislația în vigoare nu exclude prezența altor compuși care pot avea efecte adverse asupra stării de sănătate. Din punct de vedere a contaminării cu ftalați legislația românească și cea europeană ar trebui să conțină cel puțin referiri la DEHP clasificat ca posibil carcinogen.

În ciuda rezistenței la schimbare modificarea comportamentelor umane privind evitarea factorilor de risc în expunerea la ftalați, alături de măsuri tehnice privind compoziția materialelor care vin în contact cu apa și alimentele, dar și de limitare a altor surse de expunere la ftalați constituie o strategie care poate contribui semnificativ la limitarea efectelor asupra sănătății a numeroaselor substanțe și mixturi la care organismul uman este expus.

6. Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei

- Studiul nostru e evidențiat pentru prima dată în România posibilitatea transferului diesterilor acidului ftalic din ambalaje în apă/alimente identificând concentrații ale acestor compuși, uneori semnificative, relaționate condițiilor de păstrare și consum;
- Este primul studiu din România care identifică ftalații în sisteme centrale de aprovizionare cu apă începând de la sursă (apă de suprafață/subterană), la stația de tratare și în rețeaua de distribuție până la consumator;
- Este primul studiu din România care evidențiază prezența ftalaților în rețele de distribuție exclusiv compuse din conducte de polietilenă de înaltă densitate. Conform cunoștințelor noastre nu există date publicate în literatura de specialitate privind conținutul și transferul ftalaților din produse din polietilenă de înaltă densitate în apă;
- Nu există date publicate în literatura de specialitate despre nivelul concentrației metaboliților ftalaților în urină în România;

- Este primul studiu din România care calculează aportul zilnic de ftalați pe baza concentrației biomarkerilor din urină (expunere multiplă ca surse și căi);
- Este primul studiu din România care a arătat contribuția unor comportamente și a stilului de viață care influențează semnificativ expunerea la ftalați.

7. Bibliografie selectivă

- Bach C., Dauchy X., Severin I., Munoz J.F., Etienne S., Chagnon M.C., 2013. Effect of temperature on the release of intentionally and non-intentionally added substances from polyethylene terephthalate (PET) bottles into water: chemical analysis and potential toxicity, *Food Chemistry* 139(1-4), 672-680.
- Bach C., Dauchy X., Chagnon M.-C., Etienne S., 2012, Chemical compounds and toxicological assessments of drinking water stored in polyethylene terephthalate (PET) bottles: A source of controversy reviewed, *Water Research* 46, 571 - 583.
- Bagel-Boithias S., Sautou-Miranda V., Bourdeaux D., Tramier V., Boyer A., Chopineau J (2005), Leaching of diethylhexyl phthalate from multilayer tubing into etoposide infusion solutions, *Am J Health Syst Pharm* 62(2), 182-188.
- Bandura A., 2004, Health Promotion by Social Cognitive Means, *Health Education & Behavior* 31 (2), 143-164.
- Cerna M., Malý M., Rudnai P., Középesy S., Náray M., Halzlová K., Jajcaj M., Grafnetterová A., Krsková A., Antošová D., Forysová K., Hond E.D., Schoeters G., Joas R., Casteleyn L., Joas A., Biot P., Aerts D., Angerer J., Bloemen L., Castaño A., Esteban M., Koch H.M., Kolossa-Gehring M., Gutleb A.C., Pavloušková J., Vrbík K., 2014, Case study: Possible differences in phthalates exposure among the Czech, Hungarian, and Slovak populations identified based on the DEMOCOPHES pilot study results, *Environmental Research*, Epub ahead of print.
- Dumitrașcu I., 2012, Determination of phthalates from bottled water by GC-MS, *Air and Water Components of the Environment*, Univeristy Press Cluj Napoca, 338-343.
- Dumitrașcu I., Gurzău E.S., 2011, Method for Assessing Human Exposure to Phthalates, *STUDIA UBB AMBIENTUM LVI(1)*, 57-65.
- EPA, 2012, Phthalates Action, Revised 03/14/2012. <http://www.epa.gov/oppt/existingchemicals/pubs/actionplans/phthalates_actionplan_revised_2012-03-14.pdf> [accesat 23 iunie 2013]
- Genuis S.J., Beesoon S., Lobo R.A, Birkholz D., 2012, Human Elimination of Phthalate Compounds: Blood, Urine, and Sweat (BUS) Study, *Archives of environmental contamination and toxicology* 61 (2), 344-357.
- Guart A., Calabuigl., Lacorte S., Borrell A., 2014, Continental bottled water assessment by stir bar sorptive extraction followed by gas chromatography-tandem mass spectrometry (SBSE-GC-MS/MS), *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 21(4), 2846-2855.
- Koch H.M., Bolt H.M., Angerer J., 2004, Di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) metabolites in human urine and serum after a single oral dose of deuterium-labelled DEHP, *Archives of Toxicology* 78, 123–130.
- Koch H.M., Calafat A.M., 2009, Human body burdens of chemicals used in plastic manufacture. *Philosophical Transactions of the Royal Society, Biological Sciences* 364 (1526), 2063–2078.
- Martine B., Marie-Jeanne T., Cendrine D., Fabrice A., Marc C., 2013, Assessment of adult human exposure to phthalate esters in the urban centre of Paris (France), *Bull Environ. Contam. Toxicol.* 90(1), 91-96.

- Meeker J.D., 2012. Exposure to environmental endocrine disruptors and child development, *Arch. Pediatr. Adolesc. Med.* 166(10), 952-958.
- Mihovec-Grdić M., Smit Z., Puntarić D., Bosnir J., 2002, Phthalates in underground waters of the Zagreb area, *Croatian Medical Journal* 43(4), 493-497.
- Montuori P., Jover E., Morgantini M., Bayona J.M., Triassi M., 2008, Assessing human exposure to phthalic acid and phthalate esters from mineral water stored in polyethylene terephthalate and glass bottles, *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess.* 25(4), 511-518.
- Santana J., Giraudi C., Marengo E., Robotti E., Pires S., Nunes I., Gaspar E.M., 2014, Preliminary toxicological assessment of phthalate esters from drinking water consumed in Portugal, *Environ. Sci. Pollut. Res.* 21, 1380–1390.
- Serodio P., Nogueira J.M., 2006, Considerations on ultra-trace analysis of phthalates in drinking water, *Water Research* 40(13), 2572-2582.
- Serrano S.E., Braun J., Trasande L., Dills R., & Sathyanarayana S., 2014, Phthalates and diet: A review of the food monitoring and epidemiology data, *Environmental Health*, 13(1), 43.
- Silva M.J., Samandar E., Preau J.L. Jr, Needham L.L., Calafat A.M., 2006, Urinary oxidative metabolites of di(2-ethylhexyl)phthalate in humans, *Toxicology* 219, 22–32.
- Van den Berg M., Birnbaum L.S., Denison M., De Vito M., Farland W., Feeley M., Fiedler H., Hakansson H., Hanberg A., Haws L., Rose M., Safe S., Schrenk D., Tohyama C., Tritscher A., Tuomisto J., Tysklind M., Walker N., Peterson R.E., 2006, The 2005 World Health reevaluation of human and mammalian toxic equivalency factors for dioxin-like compounds, *Toxicological Sciences* 93(2), 223-241.