

اثرات جهش‌زایی و سرطان‌زایی کیسه‌های پلاستیکی و ظروف یکبار مصرف غذایی با استفاده از سالمونلاتیفی موریموم و میکروزوم

دکتر صدیقه مهرابیان^۱، مریم توحیدپور^{۲*}، دکتر مژگان امتیازجو^۳، زهره محمدیان^۴

۱- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه تربیت معلم ۲- گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهریار-شهر قدس ۳- گروه میکروبیولوژی و بیولوژی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال ۴- گروه شیمی صنایع غذایی، دانشگاه شهیدبهشتی

Title: Assessment of mutagenicity and carcinogenicity effect of plastic bags and disposable food containers using *Salmonella typhimurium* and *Microsome*

Authors: Mehrabian S, (PhD); Tohidpour M, (MSc); Emtjazoo M, (PhD); Mohamadian Z, (MSc).

Introduction: The high quality and saniety of ingredients as well as what we use daily are very important. The necessity of analysis the high and low density polyethylene (HDPE and LDPE) compositions as the primitive granoul and used disposable food containers lead us to start this research. The present study, therefore, aims to evaluate mutagenicity and carcinogenicity effect of the compositions.

Methods: The method is based on Ames test applying *Salmonella typhimurium* strains TA100, TA104 which received directly from Professor Ames. In the first stage, these strains for property purity of mutation were confirmed. Then, polyethylenes compositions have been added separately to minimal agar medium contain fresh overnight culture (TA100, TA104) and compared to positive control (index of mutagen sodium azide and bacteria) and negative control (index of distilled water and bacteria). In the other stage rat liver tissues microsomes produced under sterile conditions had been added separately to minimal agar medium with polyethylene compositions and it was measured the effect of the carcinogen material and bacteria status affected by reverse mutation and histidin produced.

Results: There was a specific mutation in the histidine synthesis gene that made these strains (TA100, TA104) become an external source of histidine for theirs growth. These strains upon exposure to an external mutagen undergo a reverse mutagenecity in theirs mutated histidine synthesis operon and these strains then can grow in a histidine free medium. In this research considering to colony numbers and comparison with negative control index containing several colonies produced by spontaneous mutation approved materials mutagenicity and compared. The result, also showed that the HDPE grades as the raw material and their products made in the forms of disposable glasses and containers, drinking bottles and milk bags don't possess the mutagenicity property, but plastics bags made from LDPE caused reverse mutation of *S.typhimurium* of these products. If these products coated by liquid or solid oils were found to have much more affects on mutagenicity of the films.

Conclusion: Considering the above results, it seems that polyethylene is a safe element. The only reason, then for mutation or carcinogenicity of the PE thin bags is the presence of some very active elements added to polyethylene or involved in its formation. This critical case makes us have more care and control on the mechanism of plastics bags production.

Keywords: Mutagenicity, carcinogenicity, polyethylene (PE), *S.typhimurium*, microsome.

Hakim 2005; 8(3); 45-53.

چکیده:

مقدمه: سالم بودن تمام اجزا و بالا بودن کیفیت آنها و اطمینان از بی‌ضرر بودن آنچه که روزانه مصرف می‌شود از اهمیت بالایی برخوردار است، لزوم بررسی ترکیبات پلی اتیلنی سنگین و سبک به عنوان گرانول اولیه و ظروف یکبار مصرف ساخته شده از آنها، منجر به طرح این پروژه تحقیقاتی گردید. لذا تحقیق حاضر با هدف بررسی اثرات جهش‌زایی و سرطان‌زایی این ترکیبات به انجام رسیده است.

روش کار: روش کار در این پژوهش با بهره‌گیری از آزمون Ames و نیز استفاده از سویه‌های سالمونلاتیفی موریوم TA100, TA104 که مستقیماً از پروفوسور Ames دریافت گردید، می‌باشد. در مرحله اول، این سویه‌ها از نظر خلوص خاصیت جهش مورد تأیید قرار گرفتند. سپس انواع محصولات پلی‌اتیلنی به طور جداگانه به محیط کشت گلوکزآگار حداقل حاوی کشت تازه شبانه (TA100, TA104) اضافه گردیده، و متعاقباً با نمونه شاهد مثبت (شامل باکتری جهش یافته و ازید سدیم) و شاهد منفی (شامل باکتری جهش یافته و آب مقطر استریل) سنجیده شدند. در مرحله دیگری از این پژوهش به محیط آگار حداقل به همراه مواد پلی اتیلنی مشکوک به سرطان‌زایی به طور جداگانه میکروزوم کبد موش که در شرایط استریل تهیه گردیده، افزوده شد تا اثر ماده سرطان‌زا با تعیین باکتریایی که موتاسیون برگشتی یافته و هیستیدین تولید می‌کنند، اندازه‌گیری شود.

نتایج: نتایج این پژوهش با توجه به این مسئله که سویه های TA100, TA104 موتاسیون مشخصی در اپرون هیستیدین خود دارند، آنها را وابسته به منبع هیستیدین خارجی نموده است. در تماس با یک موتاژن این موتاسیون قابلیت برگشت داشته و بنابراین باکتری مجدداً مستقل از مصرف هیستیدین خارجی می‌گردد. در این پژوهش جهش‌زایی مواد از طریق شمارش کلنی‌ها و مقایسه آن با شاهد منفی که در اثر موتاسیون خودبخود حاصل می‌شود، به اثبات رسیده و سنجیده شد. نتایج حاصله نشان دادند که گرانول اولیه و ظروف مصرفی ساخته شده از پلی اتیلن سنگین (به صورت لیوان و ظروف یکبار مصرف، بطری حمل نوشابه و کیسه حمل شیر) دارای خاصیت جهش‌زایی نمی‌باشند، اما کیسه‌های نازک از جنس پلی اتیلن سبک سبب موتاسیون برگشتی سالمونلا در جهت سنتز هیستیدین شده و کیسه‌های پلی اتیلنی آغشته به روغن‌های جامد و مایع نیز اثر جهش‌زایشان افزایش یافته بود.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصله از این تحقیق حاکی از آن است که با توجه به اینکه پلی اتیلن خود به عنوان یک ماده کاملاً بی‌خطر به حساب می‌آید، تنها دلیلی که می‌توان برای خاصیت جهش‌زایی و سرطان‌زایی کیسه‌ها عنوان کرد، حضور مواد بسیار فعالی است که به پلی اتیلن اضافه شده و در فرایند ساخت آن کاربرد دارد. لذا با توجه به حساس بودن این موضوع می‌بایست در نحوه ساخت کیسه‌ها دقت، توجه و کنترل بیشتری صورت گیرد.

کلواژگان: جهش‌زایی و سرطان‌زایی، پلی‌اتیلن، سالمونلاتیفی موریوم، میکروزوم.**مقدمه:**

در موش صحرائی آزمایش می‌کنند که طولانی مدت و پر خرج است. جدیداً باکتری‌ها را برای سنجش سرطان‌زایی مواد مشکوک به کار برده‌اند، که با خرج کم و در زمانی کوتاه نتایج عالی ارایه می‌دهد. یکی از راه‌های سنجش مواد سرطان‌زا در باکتری‌ها کاربرد روش ایمز^۱ است. ایمز و همکارانش در سال ۱۹۷۵ جهش‌زایی و سرطان‌زایی مواد شیمیایی را مورد مطالعه و بررسی قرار دادند. در این روش از سویه‌های سالمونلایی که بر

در قرن حاضر یکی از علل مرگ و میر در جوامع صنعتی و پیشرفته سرطان می‌باشد. سرطان‌زاهای در واقع مواد شیمیایی، فیزیکی، زیستی هستند که موجب بروز انواع سرطان می‌شوند؛ از این نظر شناخت آنها از جنبه بهداشت همگانی اهمیت زیادی دارد. اکثر سرطان‌ها غیر قابل علاج بوده و برای عموم کاهش طول عمر را به دنبال داشته‌اند. مواد سرطان‌زا اثرات خود را در بدن در نتیجه مولکول‌های کوچک و بسیار خطرناک به نام رادیکال‌های آزاد اعمال می‌کنند (۱). مواد سرطان‌زا را معمولاً

^۱ - Ames

آزمونهای تأیید ژنوتیپ سوش‌های مورد آزمایش TA104 و TA100

برای تأیید سوش‌ها در تمامی آزمون‌های زیر از کشت برات تازه شبانه^۱ استفاده شد.

- **جهش rfa**: سوش مورد نظر برای حساسیت به کریستال ویوله آزمایش شد. برای این منظور یک دیسک (فیلتر) کاغذی استریل آغشته به کریستال ویوله را در سطح پلیت کشت شده با سالمونلاتیفی موریوم (TA100 و TA104) قرار داده، بعد از ۲۴ ساعت قطر هاله مهاررشد سنجیده شد.

- **جهش uvrB**: موتاسیون uvrB با نشان دادن حساسیت به UV در سوش‌های TA 104 و TA100 حامل این جهش تأیید شد.

- **فاکتور-R**: سوش‌های TA 104 و TA100 بطور معمول برای وجود فاکتور مقاومت به آمپی‌سیلین مورد آزمایش قرار گرفتند. این آزمایش تنها نشانه مناسب برای کسب اطلاع از وجود پلاسمید نواحی خاص DNA پلاسمید PKM 101 است که برای افزایش جهش‌زایی UV و مواد شیمیایی، همانندسازی و مقاومت به آمپی‌سیلین ضروری می‌باشد (۲).

آزمون جهش‌زایی مواد مشکوک با استفاده از سالمونلاتیفی موریوم (TA104 و TA100)

مرحله اول این آزمون، شامل آمیختن ماده مورد آزمایش به ۰/۵ میلی‌لیتر کشت تازه شبانه سالمونلاتیفی موریوم (TA100, TA104) و ۱ میلی‌لیتر محلول هیستیدین ویوتین در لوله آزمایش محتوی تاپ آگار است. سپس محتویات این لوله پس از ۳ ثانیه تکان دهی (در Shaker)، بطور یکنواخت در سطح محیط آگار حداقل گسترده می‌شود و بعد از سفت شدن آگار به مدت ۴۸ ساعت در ۳۷°C قرار می‌گیرد (برای هر ماده مورد آزمایش دو پلیت در نظر گرفته می‌شود). همچنین کنترل مثبت و منفی نیز باید در آزمون لحاظ شود (۲). کنترل منفی حاوی باکتری و آب مقطر استریل بوده، که حضور آن برای هر سوش آزمایشی ضروری است. کنترل مثبت یا ازید سدیم شامل جهش‌زای تشخیصی خاص، برای هر سوش می‌باشد. پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون، کلنی‌های برگشت یافته در پلیت‌های آزمایش و پلیت‌های کنترل شمارش می‌گردند. در این آزمون انواع پلی‌اتیلن و محصولات آنها مورد مطالعه و آزمایش قرار گرفت.

آزمون جهش‌زایی با استفاده از میکروزوم کبد موش (S9)

جهت تهیه S9 از رت نر استفاده می‌شود. با شستشوی کبد موش در محلول استریل و سرد ۰/۱۵KCl مولار و سانتریفوژ

اثر موتاسیون قدرت سنتز هیستیدین را از دست داده‌اند، استفاده می‌شود. این سوش‌ها در مقابل ماده سرطان‌زا در محیط فاقد هیستیدین، موتاسیون برگشتی در جهت سنتز هیستیدین خواهند یافت. که با شمارش کلنی‌ها سرطان‌زایی ماده مورد نظر ثابت و سنجیده خواهد شد (۲).

امروزه به وفور از ظروف و کیسه‌های یکبار مصرف که اکثراً از جنس پلی‌اتیلن سنگین و سبک تهیه می‌گردند، جهت ارائه و حمل غذا استفاده می‌شود (۳). پلی‌اتیلن یک محصول پلی‌الفینی است که از پلیمریزاسیون اتیلن بدست می‌آید. جهت انجام این پلیمریزاسیون از مکانیسم‌های مختلفی استفاده می‌شود و بموجب آنها انواع گوناگونی از این پلیمر به بازار عرضه می‌شوند، که از نظر خواص فیزیکی و مکانیکی با یکدیگر تفاوت دارند (۳ و ۴). در ایران انواع پلی‌اتیلن‌های سنگین و سبک، اکثراً در واحد پتروشیمی بندر امام ساخته می‌شوند، که پلی‌اتیلن سبک در تهیه انواع مختلفی از کیسه‌های پلاستیکی و ظروف یکبار مصرف شفاف و روشن بکار می‌رود و از پلی‌اتیلن سنگین جهت ساخت انواع ظروف پلاستیکی مخصوص نگهداری مایعات، جعبه حمل نوشابه ظروف مخصوص نگهداری مواد غذایی و غیره استفاده می‌شود (۵).

تحقیق حاضر با هدف بررسی اثرات جهش‌زایی و سرطان‌زایی کیسه‌ها و ظروف یکبارمصرف غذایی، با استفاده از سالمونلاتیفی موریوم و میکروزوم انجام گرفته است.

روش کار:

مواد مورد آزمایش: گرانول‌های پلی‌اتیلن سبک و سنگین که از مجتمع پتروشیمی بندر امام تهیه شدند. بطری‌های پلاستیکی مخصوص حمل نوشابه، کیسه‌های پلاستیکی مخصوص نگهداری غذا در سردخانه، کیسه‌های پلاستیکی مخصوص نگهداری غذا آغشته شده به روغن‌های جامد و مایع، کیسه‌های پلاستیکی جهت طبخ غذا در فر و مایکروفر، کیسه‌های پلاستیکی زیب‌دار داخلی و خارجی، لیوان یکبار مصرف، ظروف یکبار مصرف، کیسه‌های حمل شیر.

محیط‌های کشت شامل: محیط آگار حداقل، تاپ آگار، نوترینت آگار، مولر هیتون آگار و نوترینت برات.

مواد آزمایشگاهی: سدیم ازید، کریستال ویوله و آنتی بیوتیک آمپی‌سیلین.

باکتری مورد آزمایش: باکتری سالمونلاتیفی موریوم (TA100 و TA 104) که مستقیماً از پروفوسور ایمز دریافت شد.

^۱ - Over night

جدول ۱- نتایج بررسی اثر جهش‌زایی ظروف حمل و نگهداری مواد غذایی و پلی‌اتیلن سنگین (میانگین ۳ بار آزمایش):

کیسه بیخ خارجی	کیسه حمل شیر	کیسه زیپ‌دار خارجی	کیسه زیپ‌دار داخلی	کیسه طبخ غذا آغشته به روغن	کیسه طبخ غذا	لیوان یکبار مصرف	ظروف یکبار مصرف	بطری نوشابه	پلی‌اتیلن سنگین	شاهد مثبت (آزید سدیم)	شاهد منفی (آب مقطر)	مواد مشکوک به جهش‌زایی	تعداد کلنی‌های برگشتی باکتری
۹۲۰	۵۷۲	۸۴۰	۹۶۰	۹۹۹	۹۶۰	۶۶۵	۹۱۲	۴۷۸	۴۲۵	۱۹۲۰	۵۰۰	سالمونلا تیفی موریوم TA104	
۹۱۹	۷۸۸	۷۶۳	۸۴۳	۱۰۱۵	۱۰۰۶	۹۰۷	۹۳۸	۷۲۵	۷۵۰	۱۸۸۰	۵۲۹	سالمونلا تیفی موریوم TA100	

آن و تقریباً معادل ماده جهش‌زای سدیم ازید می‌باشد.

جدول ۲- نتایج بررسی اثر جهش‌زایی کیسه‌های پلاستیکی جهت حمل و نگهداری مواد غذایی و پلی‌اتیلن سبک (میانگین ۳ بار آزمایش)

کیسه فریزر آغشته به روغن جامد	کیسه فریزر آغشته به روغن مایع	کیسه فریزر	پلی‌اتیلن سبک	شاهد مثبت (آزید سدیم)	شاهد منفی (آب مقطر)	مواد مشکوک به جهش‌زایی	تعداد کلنی‌های برگشتی باکتری
							TA104
							TA100

در مواردی غذای نگهداری شده در کیسه‌های پلاستیکی آغشته به مواد چربی می‌باشد. در این پژوهش کیسه پلاستیکی آغشته به روغن‌های جامد و مایع نیز مورد بررسی قرار گرفت. تعداد کلنی‌های برگشتی در این نمونه‌ها از کیسه پلاستیکی بدون ماده چربی بیشتر بود. روغن مایع نسبت به روغن جامد رادیکال‌های آزاد بیشتری تولید می‌کند، که در این بررسی نیز اثر جهش‌زایی بیشتری را نشان داد. نتایج بررسی پلی‌اتیلن سبک و سنگین و ظروف حمل و نگهداری مواد غذایی با استفاده از سالمونلاتیفی موریوم (TA 104 و TA100) و میکروزوم (S9) در جداول شماره ۳ و ۴ نشان داده شده‌اند.

همانطور که مشاهده می‌شود، پلی‌اتیلن سبک و کیسه‌های حاصل از این نوع پلاستیک، هر دو در مقایسه با شاهد منفی بیش از ۲ برابر کلنی حاصل موتاسیون برگشتی را نشان می‌دهند، درحالی‌که پلی‌اتیلن سنگین، کیسه‌ها و ظروف یکبار مصرف غذایی در مقایسه با شاهد منفی اثر جهش‌زایی و سرطان‌زایی نداشتند.

کردن، محلول S9 تهیه می‌گردد (۲). این آزمون نیز مرکب از آمیختن ماده آزمایشی، سوش باکتریایی آزمایشی، محلول هیستیدین و بیوتین و مخلوط S9 در لوله آزمایش محتوی تاپ آگار بوده، که در سطح محیط آگار حداقل گسترده شده است. در این آزمون نیز کنترل‌های مثبت و منفی در نظر گرفته می‌شود. در این پژوهش، بعد از ۴۸ ساعت انکوباسیون در ۳۷°C کلنی‌های برگشت یافته، شمارش می‌شوند.

یافته‌ها:

نتایج حاصله در تأیید ژنوتیپ سوشهای سالمونلایی TA104 و TA100 حاکی از آن است که این ۲ سوش کاملاً جهش یافته بوده و جهت انجام آزمون‌های جهش‌زایی مواد، مناسب هستند. نتایج بررسی جهش‌زایی پلی‌اتیلن سبک و سنگین، ظروف حمل و نگهداری مواد غذایی، کیسه‌های پلاستیکی جهت نگهداری مواد غذایی در سردخانه و قرار دادن مواد غذایی در فر و ماکروویو، کیسه‌های پلاستیکی زیپ‌دار داخلی و خارجی و کیسه حمل شیر در جداول ۱ و ۲ آورده شده‌اند. پلیت‌های (سدیم ازید) به منظور تأیید خصوصیات جهش برگشتی استفاده می‌شوند. کلنی‌هایی که در سطح محیط حاوی آب مقطر رشد می‌کنند، نشان دهنده جهش خودبخودی هستند. مواد مشکوک به جهش‌زایی با شاهد منفی مقایسه و سنجیده می‌شوند. در این پژوهش، لیوان یکبار مصرف، ظرف یکبار مصرف، بطری نوشابه، کیسه حمل شیر، کیسه‌های پلاستیکی جهت طبخ غذا در فرو مایکروویو و پلی‌اتیلن سنگین در مقایسه با شاهد منفی اثر جهش‌زایی و موتاسیون برگشتی نداشتند (جدول ۱)، با توجه به ساختمان پلی‌اتیلن سنگین امکان آزاد شدن مونومر و رادیکال‌های آزاد در این ماده تقریباً وجود ندارد.

نتایج بررسی پلی‌اتیلن سبک در جدول شماره ۲ آورده شده است. در مقایسه با شاهد منفی تعداد کلنی‌های برگشتی ۲ برابر

جدول ۳- نتایج بررسی اثر جهش‌زایی و سرطان‌زایی ظروف و کیسه‌های نگهداری و حمل مواد غذایی و پلی‌اتیلن سنگین با استفاده از سالمونلاتیفی موریوم (TA100 و TA104) و میکروزوم

کیسه بیخ خارجی	کیسه حمل شیر	کیسه زین‌دار داخلی	کیسه زین‌دار خارجی	کیسه طلیخ غذا آغشته به مرغ	کیسه طلیخ غذا	بطری نوشابه	لیوان یکبار مصرف	ظروف یکبار مصرف	پلی‌اتیلن سنگین	شاهد مثبت (آزید سدیم)	شاهد منفی (آب مقطر)	مواد مشکوک به جهش‌زایی و سرطان‌زایی S9	تعداد کلنی‌های برگشتی باکتری
۱۰۴۰	۷۰۰	۱۱۰۴	۱۱۰۰	۱۳۰۰	۱۲۸۰	۹۲۰	۱۳۶۰	۱۴۸۰	۷۲۰	۲۷۶۰	۷۹۶	سالمونلاتیفی موریوم TA104	
۹۶۸	۷۲۸	۹۱۶	۸۰۰	۸۶۵	۸۳۵	۷۶۰	۹۰۰	۹۲۰	۶۳۰	۱۹۰۰	۵۴۰	سالمونلاتیفی موریوم TA100	

حضور و عدم حضور میکروزوم‌ها، سویه TA104(-S9) ارتباط جدول ۵- مقایسه میانگین و انحراف معیار در سوش‌های TA100, TA104 بدون در نظر گرفتن ۱۶ ترکیب آزمایشی (TA100.M, TA104.M همراه با میکروزوم)

خطای معیار	انحراف معیار	میانگین	تعداد	Strian
۷۶/۹۴	۴۳۵/۲۴	۱۱۰۹/۳۷	۳۲	TA100
۱۲۰/۴۱	۴۸۱/۶۷	۱۱۰۸/۲۵	۱۶	TA100.M
۶۷/۷۶	۴۶۹/۴۷	۹۷۵/۸۵	۴۸	TA104
۱۶۲/۸۷	۶۵۱/۴۸	۱۴۶۱/۸۷	۱۶	TA104.M
۴۸/۲۲	۵۱۰/۴۰	۱۱۰۲/۳۴	۱۱۲	Total

معنی‌داری با TA104(+S9) دارد ($P < 0.05$)، بدین معنا که از نظر میزان عملکردشان در بروز جهش‌زایی، ترکیبات پلی‌اتیلنی کاملاً متفاوت از یکدیگر عمل می‌کنند، که این امر بیانگر اختلاف آشکار در کاربرد و عدم کاربرد میکروزوم‌ها می‌باشد، درحالی‌که چنین ارتباط معنی‌داری بین سویه TA100(-S9) و TA100(+S9) وجود ندارد ($P > 0.05$). نتایج حاصله از آزمون آماری حاکی از وجود ارتباط معنی‌دار میان شاهد منفی با شاهد مثبت و پلی‌اتیلن سبک است ($P < 0.05$)، این نتایج جهش‌زا نبودن شاهد منفی و همچنین جهش‌زایی پلی‌اتیلن سبک را به خوبی اثبات می‌کنند. همچنین میان شاهد منفی و پلی‌اتیلن سنگین ارتباط معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0.05$)، که این امر دال بر عدم جهش‌زایی و سرطان‌زایی پلی‌اتیلن سنگین می‌باشد. در نهایت مقایسه‌ای بین ۴ ترکیب آزمایشی و سویه‌ها و میکروزوم‌ها انجام گرفته شد، نتایج حاصله بیانگر آن است که در

جدول ۴- نتایج بررسی اثر جهش‌زایی و سرطان‌زایی کیسه‌های پلاستیکی جهت حمل و نگهداری مواد غذایی و پلی‌اتیلن سبک با استفاده از سالمونلاتیفی موریوم (TA100 و TA104) و میکروزوم

کیسه فریزر آغشته به روغن مایع	کیسه فریزر آغشته به روغن جامد	کیسه فریزر	پلی‌اتیلن سبک	شاهد مثبت (آزید سدیم)	شاهد منفی (آب مقطر)	مواد مشکوک به جهش‌زایی و سرطان‌زایی S9+	تعداد کلنی‌های برگشتی باکتری
۲۴۰۰	۲۲۵۰	۲۱۸۰	۲۰۰۰	۲۷۶۰	۷۹۶	سالمونلاتیفی موریوم TA104	
۱۸۸۰	۱۷۹۰	۱۷۶۰	۱۵۴۰	۱۹۰۰	۵۴۰	سالمونلاتیفی موریوم TA100	

در این تحقیق، اطلاعات مورد نیاز نظیر تعداد کلنی‌های برگشت یافته هر سوش آزمایشی در بررسی اثر جهش‌زایی پلی‌اتیلن سنگین و سبک و محصولات آنها با در نظر گرفتن شاهد منفی (آب مقطر استریل + باکتری) و شاهد مثبت (سدیم آزید + باکتری) تهیه گردیده و وارد بانک اطلاعاتی رایانه (برنامه SPSS) گردید. نتایج حاصله با توجه به آزمون LSD (نوعی آزمون مورد استفاده در تحلیل‌های آماری) مورد بررسی و تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. براساس نتایج بدست آمده، صحت آزمون‌های جهش‌زایی انجام گرفته ۱۰۰٪ بوده که نشان دهنده درستی انجام آزمون‌ها می‌باشد. در مرحله بعدی، مقایسه‌ای میان میانگین و انحراف معیار کلنی‌های شمارش شده باکتریایی صورت گرفت (جدول ۵). نتایج نشان دهنده آن است که سویه TA104(+S9) از بیشترین مقدار میانگین و انحراف معیار برخوردار است (۶۵۱,۴۸ - ۱۴۶۱,۸۷). در ارتباط با مقایسه اختلاف میانگین تعداد کلنی‌های برگشتی در ۲ سویه با توجه به

تمامی سوبه‌ها ارتباط معنی‌داری بین شاهد منفی و شاهد مثبت، پلی‌اتیلن سبک و سنگین وجود دارد ($P < 0.05$). بر اساس

جدول ۶- مقایسه میانگین و انحراف معیار بین ۱۶ ترکیب آزمایشی با در نظر گرفتن ۲ سوش باکتریایی (TA100, TA104) و میکروزوم کبد موش (S9)

ردیف	آزمایش	-S9, 104	-S9, 100	+S9, 104	+S9, 100
۱	M	۵۰۰/۰۰	۵۲۹/۰۰	۷۹۶/۰۰	۵۴۰/۰۰
	N	۳	۲	۱	۱
	SD	۱۲/۰۰	۱/۴۱	.	.
۲	M	۱۹۲۰/۰۰	۱۸۸۰/۰۰	۲۷۶۰/۰۰	۱۹۰۰/۰۰
	N	۳	۲	۱	۱
	SD	۷۸۷/۹۰	۵۶/۵۶	.	.
۳	M	۱۷۲۰/۰۰	۱۸۰۵/۰۰	۲۰۰۰/۰۰	۱۵۴۰/۰۰
	N	۳	۲	۱	۱
	SD	۱۵۴/۷۸	۷/۰۷	.	.
۴	M	۴۲۵/۰۰	۷۵۰/۰۰	۷۲۰/۰۰	۶۳۰/۰۰
	N	۳	۲	۱	۱
	SD	۲۲/۶۰	۴۲/۴۲	.	.
۵	M	۱۰۷۰/۰۰	۱۵۵۹/۵۰	۲۱۸۰/۰۰	۱۷۶۰/۰۰
	N	۳	۲	۱	۱
	SD	۴۸/۱۲	۵۵/۸۶	.	.
۶	M	۱۰۳۰/۰۰	۱۶۰۵/۰۰	۲۲۵۰/۰۰	۱۷۹۰/۰۰
	N	۳	۲	۱	۱
	SD	۱۱/۱۳	۷/۰۷	.	.
۷	M	۱۶۶۳/۰۰	۱۷۱۷/۵۰	۲۴۰۰/۰۰	۱۸۸۰/۰۰
	N	۳	۲	۱	۱
	SD	۳۶/۷۵	۳/۵۳	.	.
۸	M	۴۷۸/۰۰	۷۲۵/۰۰	۹۲۰/۰۰	۷۶۰/۰۰
	N	۳	۲	۱	۱
	SD	۴/۳۵	۲۱/۲۱	.	.
۹	M	۹۱۲/۰۰	۹۳۸/۰۰	۱۴۸۰/۰۰	۹۲۰/۰۰
	N	۳	۲	۱	۱
	SD	۹۳/۹۵	۱۱/۳۱	.	.
۱۰	M	۶۶۱/۶۶	۹۰۷/۰۰	۱۳۶۰/۰۰	۹۰۰/۰۰
	N	۳	۲	۱	۱
	SD	۶۲/۰۶	۴/۲۴	.	.
۱۱	M	۹۶۰/۰۰	۱۰۰۶/۰۰	۱۲۸۰/۰۰	۸۳۵/۰۰
	N	۳	۲	۱	۱
	SD	۱۸/۶۸	۲/۸۲	.	.
۱۲	M	۹۹۸/۶۶	۱۰۱۵/۰۰	۱۳۰۰/۰۰	۸۶۵/۰۰
	N	۳	۲	۱	۱
	SD	۰/۵۷	۴/۲۴	.	.
۱۳	M	۹۶۰/۰۰	۸۴۳/۰۰	۱۱۰۴/۰۰	۹۱۶/۰۰
	N	۳	۲	۱	۱
	SD	۶/۵۵	۵۲/۳۲	.	.
۱۴	M	۸۴۰/۰۰	۷۶۳/۰۰	۱۱۰۰/۰۰	۸۰۰/۰۰
	N	۳	۲	۱	۱
	SD	۳۴/۶۹	۳۲/۵۲	.	.
۱۵	M	۵۵۵/۳۳	۷۸۸/۰۰	۷۰۰/۰۰	۷۲۸/۰۰
	N	۳	۲	۱	۱
	SD	۴۸/۱۶	۱۱/۳۱	.	.
۱۶	M	۹۲۰/۰۰	۹۱۹/۰۰	۱۰۴۰/۰۰	۹۶۸/۰۰
	N	۳	۲	۱	۱
	SD	۱۱/۱۳	۱/۴۱۴۲۱	.	.
جمع	M	۹۷۵/۸۵	۱۱۰۹/۳۷	۱۴۶۱/۸۷	۱۱۰۸/۲۵
	N	۴۸	۳۲	۱۶	۱۶
	SD	۴۶۹/۴۷	۴۳۵/۲۴	۶۵۱/۴۸	۴۸۱/۶۷

M: Mean, N: Number, SD: Sted Deviation

۱. شاهد منفی، ۲. شاهد مثبت، ۳. پلی اتیلن سبک، ۴. پلی اتیلن سنگین، ۵. کیسه فریزر، ۶. کیسه فریزر اغشته به روغن جامد، ۷. کیسه فریزر اغشته به روغن مایع، ۸. بطری نوشابه، ۹. ظرف یکبار مصرف، ۱۰. لیوان یکبار مصرف، ۱۱. کیسه طبخ غذا، ۱۲. کیسه طبخ غذا اغشته به مرغ، ۱۳. زپ کیپ ایرانی، ۱۴. زپ کیپ خارجی، ۱۵. کیسه شیر، ۱۶. کیسه یخ خارجی

و دقیق جهت شناسایی جهش‌زایی مواد می‌باشد. طی مقایسه‌ای که E. Zeiger و همکارانش در سال ۱۹۹۶ بر روی روش‌های مختلف سنجش جهش‌زایی مواد شیمیایی انجام دادند، به این نتیجه دست یافتند که حدود ۷۶-۷۱٪ از نتایج جهش‌زایی مواد شیمیایی از طریق کاربرد سالمونلا در آزمون‌هاست. لازم به ذکر است که از سوش‌های جهش یافته در این آزمون‌ها استفاده می‌شود (۶). بدنبال نتایج حاصله از تحقیقات M. Kranendonk و همکاران در سال ۱۹۹۷ سوش‌های سالمونلاتیفی موریومی TA104, TA98, TA100 و نیز سوش‌های E. coli k12 جهت سنجش جهش‌زایی و سرطان‌زایی برخی از مواد شیمیایی مناسب هستند. آنها با مطالعه بر روی نقش آنزیم‌های ویژه در فعال‌سازی زیستی کارسینوژن‌ها این مطلب را عنوان کردند که این سوش‌ها در فعال‌سازی کارسینوژن‌ها و نیز فعال‌سازی ظرفیت‌هایشان اهمیت بسیار زیادی دارند (۷). در این پژوهش، جهش‌یافتگی سالمونلا TA104 و TA100 با جدول پروفیسور Ames که در سال ۱۹۹۴ براساس آخرین تحقیقات، ارایه داده شده است (۸)، همسویی نشان داد و سوش‌ها تأیید شدند. ایمز و همکارانش در سال ۱۹۸۳ با مطالعه بر روی بیش از ۳۰۰ نوع ماده شیمیایی این تئوری را بیان نمودند که در صورتیکه تعداد کلنی‌ها بر روی محیط کشت ۲ برابر شاهد منفی باشد، ماده جهش‌زا محسوب می‌شود (۹). نتایج بدست آمده از این تحقیق که در جداول (۱ و ۲ آمده با این تئوری همسویی و مطابقت دارد. طبق این تئوری، در این پژوهش لیوان یکبار مصرف، ظرف یکبار مصرف، بطری نوشابه کیسه حمل شیر، کیسه‌های پلاستیکی جهت طبخ غذا در فرورماکروفر و کیسه‌های زیپ‌دار ساخت داخل و خارج کشور و همچنین پلی‌اتیلن سنگین در مقایسه با شاهد منفی اثر جهش‌زایی و موتاسیون برگشتی نداشتند (جدول ۱ و ۲). با توجه به ساختمان پلی‌اتیلن سنگین امکان آزاد شدن مونومر و رادیکال‌های آزاد در این ماده تقریباً وجود ندارد (۱).

ترفتالیک اسید (TPA) در صنایع تولیدی به عنوان ماده اولیه در تهیه پلی‌اتیلن ترفتالات (PET) که در تهیه و ساخت بطری‌های نوشابه در صنایع غذایی کاربرد دارد، مورد استفاده قرار می‌گیرد. در اکتبر ۲۰۰۰ کمیته دانش غذا^۱ SCF مطالعاتی را به منظور بررسی اثرات TPA بر روی سلامت و بهداشت جامعه و تأثیر آن بر روی مواد غذایی به انجام رساند. این نتایج دلالت بر این موضوع دارند که غلظت‌هایی از TPA که در آنالیز مواد

مقایسه‌های نهایی صورت گرفته، سوپه TA104 جهت بررسی خصوصیات جهش‌زایی ترکیبات پلی‌اتیلنی در مقایسه با سوپه TA100 مناسب‌تر است.

مقایسه میانگین داده‌ها و انحراف معیار بین ۱۶ ترکیب آزمایشی با در نظر گرفتن سوش‌های TA104, TA100 ارایه شد، تا آمار توصیفی در این بخش امکان‌پذیر باشد (جدول ۶). در مقایسه میانگین‌ها در سوش TA100 (-S9) کمترین میانگین کلنی‌های برگشت یافته مربوط به شاهد منفی با مقدار ۵۲۹ کلنی و بیشترین میانگین مربوط به شاهد مثبت با میزان ۱۸۸۰ کلنی می‌باشد. (که از نظر بیشترین میانگین‌ها بین دو سوش TA100, TA104 همسویی وجود دارد). پس از آنها به ترتیب از کمترین به بیشترین: شاهد منفی، بطری نوشابه، پلی‌اتیلن سنگین، زیپ کیپ خارجی، کیسه شیر، زیپ کیپ ایرانی، لیوان یکبار مصرف، کیسه یخ خارجی، ظرف یکبار مصرف، کیسه طبخ غذا، کیسه طبخ غذا آغشته به مرغ، کیسه فریزر، کیسه فریزر آغشته به روغن جامد، کیسه فریزر آغشته به روغن مایع، پلی‌اتیلن سبک و شاهد مثبت (سدیم آزید).

در مقایسه میانگین‌ها در سوش TA104 (+S9) کمترین میانگین کلنی‌های برگشت یافته مربوط به کیسه شیر با میزان ۷۰۰ کلنی و بیشترین میانگین مربوط به شاهد مثبت با میزان ۲۷۶۰ کلنی می‌باشد. پس از آنها به ترتیب از کمترین به بیشترین: کیسه شیر، پلی‌اتیلن سنگین، شاهد منفی، بطری نوشابه، کیسه یخ خارجی، زیپ کیپ خارجی، زیپ کیپ ایرانی، کیسه طبخ غذا، کیسه طبخ غذا آغشته به مرغ، لیوان و ظرف یکبار مصرف، پلی‌اتیلن سبک، کیسه فریزر، کیسه فریزر آغشته به روغن جامد، کیسه فریزر آغشته به روغن مایع، شاهد مثبت (سدیم آزید).

- در مقایسه میانگین‌ها در سوش TA100 (+S9) کمترین میانگین کلنی‌های برگشت یافته مربوط به شاهد منفی و بیشترین میانگین کلنی‌های برگشت یافته مربوط به شاهد مثبت ۱۹۰۰ کلنی می‌باشد. پس از آنها به ترتیب از کمترین به بیشترین: شاهد منفی، پلی‌اتیلن سنگین، کیسه شیر، بطری نوشابه، زیپ کیپ خارجی، کیسه طبخ غذا، کیسه طبخ غذا آغشته به مرغ، لیوان یکبار مصرف، زیپ کیپ داخلی، ظرف یکبار مصرف. کیسه یخ خارجی، پلی‌اتیلن سبک، کیسه فریزر آغشته به روغن جامد، کیسه فریزر آغشته به روغن مایع، شاهد مثبت (سدیم آزید).

بحث:

کاربرد روش ایمز در این تحقیق به عنوان آزمونی استاندارد

^۱ - Scientific Committee for Food

پلی‌اتیلن سنگین و شاهد منفی می‌باشد.

زیپ کیپ‌های ساخت داخل کشور در مقایسه با نمونه خارجی آنها از نظر میانگین تعداد کلنی‌های برگشتی در جریان جهش‌زایی بسیار نزدیک به هم هستند. و این خود نشانه خوبی از کیفیت مناسب این محصولات در مقایسه با نمونه خارجی آنهاست. کیسه طبخ غذا در مقایسه با زیپ کیپ‌های ایرانی از میانگین تعداد کلنی‌های برگشتی بیشتری در جریان جهش‌زایی برخوردار است، که می‌بایستی در نحوه ساخت کیسه طبخ غذا نیز دقت بیشتری را مبذول داشت.

نتیجه‌گیری:

کیسه‌های پلی‌اتیلنی که در کشور جهت بسته بندی مواد غذایی تهیه و مصرف می‌گردند، امکان سرطان‌زایی دارند. با توجه به اینکه پلی‌اتیلن خود به عنوان یک ماده کاملاً بی‌خطر بحساب می‌آید و در ساخت بسیاری از وسایل و لوازم بهداشتی و بیمارستانی مصرف دارد. تنها دلیلی که می‌توان برای خاصیت جهش‌زایی و سرطان‌زایی کیسه‌ها ارائه نمود، حضور مواد بسیار فعالی است که بعنوان پایدار کننده، قبل از فرایند شکل دهی به پلی‌اتیلن اضافه می‌شود، تا از اکسایش حرارتی آن در دمای بالای فرایند شکل‌دهی (ساخت کیسه) مانعت بعمل آورند. با توجه به موارد ذکر شده، در نظر داشتن این موضوع بسیار حساس و مهم بوده و بایستی مورد کنترل بیشتری قرار گیرد.

پیشنهادات:

۱- جهت بهبود کیفیت کیسه‌های پلاستیکی نازک بهتر است ضخامت آنها افزوده گردد، تا هم از جنبه نگهداری و حفظ بیشتر مواد غذایی ارتقا داده شوند، وهم از جنبه سلامت و بهداشت به آن توجه شود. لذا بهتر است با در نظر گرفتن مقادیر بیشتری از پلی‌اتیلن سنگین که جهت ساخت کیسه‌های پلاستیکی بکار می‌رود، این کمبود جبران گردد.

۲- پیشنهاد می‌شود از زیپ کیپ‌هایی که به تازگی به بازار آمده جهت حمل و نگهداری مواد غذایی استفاده شود، چون هم از جنبه کیفیت و هم از جنبه حفظ و نگهداری بیشتر مواد غذایی در سطح بالاتری قرار دارند.

۳- پیشنهاد می‌شود که حتی‌الامکان از کیسه‌های پلاستیکی نازک جهت نگهداری مواد غذایی سرخ شده و آغشته به مواد چربی (اعم از روغن‌های جامد و یا مایع) استفاده نشود، چون میزان تحریک مواد چربی به جهت بروز میزان جهش‌زایی

غذایی تعیین شده‌اند، تأثیری در بهداشت عمومی ندارند. لذا در سال ۲۰۰۱ مطالعات توکسیتی بر روی ترکیبات PET و TPA با بهره‌گیری از رت‌ها به انجام رسیده است و نتایج حاکی از بی‌ضرر بودن این ترکیبات بوده و لازم به ذکر است که نتایج بدست آمده از این تحقیق در ارتباط با بطری نوشابه نیز با پژوهش‌های محققین همسویی دارد (۱۰).

طبق تئوری ایمرز ۸۰٪ از مواد جهش‌زا، سرطان‌زا نیز می‌باشند. اما آزمایش با استفاده از میکروزوم‌های موش سرطان‌زایی مواد را ثابت می‌کند (۲)، با بررسی جداول ۳ و ۴ این تئوری به خوبی اثبات می‌شود. برخی از مواد مانند دود سیگار، گاز خردل و پشم شیشه قطعاً با سرطان‌زایی ارتباط دارند. در تحقیقی که بر روی اثر سرطان‌زایی دود سیگار انجام شده است، معلوم گردیده که دود سیگار تنها در حضور میکروزوم‌های ریه یا کبد قدرت موتان‌زایی شدید دارد. نتایجی که از این بررسی حاصل می‌شود، دلیلی است بر آن که سرطان‌ها ممکن است ناشی از موتاسیون‌های بدنی^۱ باشند. البته این نکته دال بر آن نیست که سرطان، همواره بر اثر موتاسیون ایجاد می‌شود (۱۱).

در طول ۲۰ سال گذشته، پیشرفت و تکامل بسته‌بندی پلاستیک‌ها برای غذاهای آماده، منجمد شده، لبنیات، نوشابه، نان و شکلات اهمیت و ضرورت بیشتری پیدا کرده است. پلاستیک‌ها دارای مزایای فراوان از جمله وزن مخصوص کم، قابلیت شکل‌پذیری و ... می‌باشند (۳). کوچکترین واحد ساختمانی پلاستیک را مونومر می‌نامند. مونومرها که به یکدیگر متصل شده‌اند زنجیره بلندی رامی‌سازند که پلیمر نامیده می‌شود. به ظروف یکبار مصرف علاوه بر پلی‌اتیلن سنگین و سبک، ترکیبات دیگری مانند نرم کننده‌ها، پایدار کننده‌ها، روان کننده‌ها و مواد رنگی اضافه می‌شود که امکان دارد بعضی از این مواد جهش‌زا باشند. تحقیقات نشان داده است که در شرایطی این مواد وارد مواد غذایی می‌شوند (۱۲). همچنین طی بررسی‌های بعمل آمده در این پژوهش تعداد کلنی‌های برگشتی ظرف ولیوان یکبار مصرف و کیسه طبخ غذا، کیسه طبخ غذا آغشته به مرغ از نظر بروز میزان جهش‌زایی در مرز خطر قرار گرفته‌اند که در میزان تولید آن در پروسه صنعتی می‌بایستی دقت و توجه بیشتری شود. کیسه‌های شیر با توجه به ساختار ۳ لایه‌ای که در تولید آنها بکار گرفته می‌شود، میانگین تعداد کلنی‌های برگشت یافته آنها در جریان پدیده جهش‌زایی کمتر از ترکیبات دیگر و بسیار نزدیک به میانگین تعداد کلنی‌های برگشتی بطری نوشابه،

^۱ - Somatic mutation

به محیط را نداشته و غیرقابل تجزیه زیستی می‌باشند و در نهایت منجر به آلودگی بیشتر محیط زیست می‌گردند، پیشنهاد می‌شود که از ظروف شیشه‌ای یا فلزی به جای ظروف یکبار مصرف پلاستیکی استفاده شود.

تشکر و قدردانی:

بدینوسیله از راهنمایی‌های ارزنده سرکار خانم دکتر هما عاصم‌پور (استاد دانشکده پلیمر دانشگاه امیرکبیر) در تنظیم مطالب مربوط به پلی اتیلن سپاسگزاری و قدردانی می‌شود.

References:

- 1- Krik K. What are free radical and how can they hurt us. J Biomed 2001; 905-15 .
- 2- Maron DM, Ames BN. Revised methods for the salmonella mutagenicity test. J Mutat Res 1983; 113: 173-215 .
- ۳- میرنظامی ضیابری، سیدحسین. اصول بسته‌بندی مواد غذایی، نشر علوم کشاورزی، ۱۳۷۸، ص ۱۱۷-۱۰۷.
- 4- Brody AL, Marsh KS. Encyclopedia of Packaging Technology; 1997: 745-758 .
- ۵- کاتالوگ شرکت روابط عمومی سهامی پتروشیمی بندر امام، ۱۳۸۰.
- 6- Zeiger E, Shloy JA, Bakaleetal G. Prediction of Salmonella mutagenicity. J Mutagenesis 1996;11: [Abstract].
- 7- Kranendonk M, Cammon deur JN, et al. Characterization of enzyme activities and cofactors involved in bioactivation and bioinactivation of chemical carcinogens in the tester

شدیدتر می‌باشد.

۴- بهتر است به جای استفاده از کیسه‌های پلاستیکی از پاکت‌های کاغذی جهت حمل و نگهداری مواد غذایی استفاده شود. و نیز جهت نگهداری بهتر مواد غذایی در یخچال و یا فریزر بهتر آن است که از کیسه‌های پارچه‌ای استفاده شود. زیرا کیسه‌های پارچه‌ای دارای منافذ ریزی هستند که امکان هوادهی آسانتری را به مواد غذایی خصوصاً نگهداری سبزیجات و میوه‌جات می‌دهند، و آنها را برای مدت زمان طولانی‌تری حفظ می‌نمایند.

۵- از آنجائیکه ظروف یکبار مصرف غذایی قابلیت بازگشت

strains E.coli K12 MX100 and Salmonella typhimurium LT2 TA100. J Mutagenesis 1997; 12, [Abstract].

8- Gee P, Maron DM, Ames BN. Detection and classification of mutagens:A set of base specific Salmonella tester strains. J Proc Natl Acad Sci 1994; 91: 11606-10 .

9- Ames BN. Methods for detecting carcinogens and mutagens with the Salmonella/mammalian microsome mutagenicity test. J Mutat.Res 1976; 31: 347-9.

10- Statement on the mutagenicity of PET; Statement-com/02/S1, 2001. Available at: <http://www.Doh.gov.uk>.

۱۱- دکتر تاج بخش، حسن. باکتریولوژی عمومی، انتشارات دانشگاه تهران، ۱۳۶۸، ص ۳۷۰-۳.

۱۲- آلن جی کامرون - برایان رافاکس. مترجم کوهی شمالی، داریوش. دانش غذا، تغذیه، سلامتی، انتشارات فارابی، ۱۳۷۶، ص ۵۴۰.