



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**Αξιολόγηση κινδύνου έκθεσης του γενικού πληθυσμού σε
πολυκυκλικούς αρωματικούς υδρογονάνθρακες (PAHs)
μέσω προσδιορισμού της συγκέντρωσής τους σε τρόφιμα,
με βελτιστοποιημένη τεχνική GC-MS/MS**

**ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΑ ΓΡΗΓΟΡΙΟΥ
ΧΗΜΙΚΟΣ**

**ΑΘΗΝΑ
Νοέμβριος 2021**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Αξιολόγηση κινδύνου έκθεσης του γενικού πληθυσμού σε πολυκυκλικούς αρωματικούς υδρογονάνθρακες (PAHs) μέσω προσδιορισμού της συγκέντρωσής τους σε τρόφιμα, με βελτιστοποιημένη τεχνική GC-MS/MS

ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΑ ΓΡΗΓΟΡΙΟΥ

A.M.: 001525

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΕΡΕΥΝΗΤΗΣ:

Λεόντιος Λεοντιάδης, Ερευνητής Α' Βαθμίδας ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος»

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ:

Εμμανουήλ Δασενάκης, Καθηγητής ΕΚΠΑ

Λεόντιος Λεοντιάδης, Ερευνητής Α' Βαθμίδας ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος»

Ειρήνη Βασιλειάδου, Ερευνήτρια Β' Βαθμίδας ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος»

ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Εμμανουήλ Δασενάκης, Καθηγητής ΕΚΠΑ

Αναστάσιος Οικονόμου, Καθηγητής ΕΚΠΑ

Ευάγγελος Μπακέας, Καθηγητής ΕΚΠΑ

Νικόλαος Καλογερόπουλος, Καθηγητής Χαροκοπείου Πανεπιστημίου Αθηνών

Σωτήριος Καραβόλτσος, Επίκουρος Καθηγητής ΕΚΠΑ

Λεόντιος Λεοντιάδης, Ερευνητής Α' Βαθμίδας ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος»

Ειρήνη Βασιλειάδου, Ερευνήτρια Β' Βαθμίδας ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος»

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ 10/11/2021

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η εκτεταμένη απελευθέρωση και διασπορά των χημικών ρύπων στην ατμόσφαιρα, στα επιφανειακά, υπόγεια και θαλάσσια ύδατα, στο έδαφος και το υπέδαφος και η συσσώρευσή τους στους ζωντανούς οργανισμούς, έχει ως αποτέλεσμα την εισαγωγή τους στην τροφική αλυσίδα με την επακόλουθη παρατεταμένη έκθεση πολλών ειδών, μεταξύ των οποίων και ο άνθρωπος. Οι ρύποι αυτοί, όταν εισέρχονται στους οργανισμούς, ακόμη και σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις, ενδέχεται να εκφράσουν την τοξική τους δράση και να προκαλέσουν σημαντικές αρνητικές επιδράσεις στην υγεία, όπως αναπτυξιακά προβλήματα, βλάβες στο αναπαραγωγικό, ανοσοποιητικό και ενδοκρινικό σύστημα, καρκινογένεση κ.α.

Οι Πολυκυκλικοί Αρωματικοί Υδρογονάνθρακες-ΠΑΥ (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons-PAHs) είναι μια ομάδα οργανικών ενώσεων, εκ των οποίων ορισμένοι θεωρούνται ως τοξικοί και επιβλαβείς ρύποι και αποτελούν «απειλή» για την υγεία του ανθρώπου και των υπόλοιπων ζωντανών οργανισμών. Από το σύνολό τους, 16 ΠΑΥ συγκαταλέγονται ως ρύποι προτεραιότητας από την Environmental Protection Agency (EPA) των ΗΠΑ, ενώ σύμφωνα με την European Food Safety Authority (EFSA) και τις υπόλοιπες ευρωπαϊκές αρχές 15 από αυτούς παρουσιάζουν μεταλλαξιογόνο, τοξική και καρκινογόνο δράση και ένας ακόμη, το βενζο[g,h,i]περυλένιο μεταλλαξιογόνο και τοξική (15+1 ΠΑΥ).

Η παρουσία στα τρόφιμα και η διατροφική έκθεση σε ΠΑΥ έχουν αξιολογηθεί από διάφορους Οργανισμούς. Η Ευρωπαϊκή Ένωση συστήνει τη συνεχή παρακολούθηση των επιπέδων των 15+1 ΠΑΥ στα τρόφιμα, ενώ έχει προταθεί η χρήση του αθροίσματος 4 ΠΑΥ (βενζ[a]ανθρακένιο, χρυσένιο, βενζο[a]πυρένιο, βενζο[b]φλουορανθένιο), ως δείκτη παρουσίας των καρκινογόνων ΠΑΥ στα τρόφιμα. Για την προστασία της ανθρώπινης υγείας, η Ε.Ε. έχει θεσπίσει μέγιστα επιτρεπτά όρια παρουσίας του βενζο[a]πυρενίου, του πλέον επικίνδυνου ΠΑΥ και του αθροίσματος των 4 ΠΑΥ σε ορισμένες κατηγορίες τροφίμων, ενώ υπάρχει μεγάλος αριθμός μελετών για τη διατροφική έκθεση σε ΠΑΥ του πληθυσμού διαφόρων χωρών.

Στο πλαίσιο αυτό, η παρούσα Διδακτορική Διατριβή έχει ως στόχο την παρακολούθηση των επιπέδων των ΠΑΥ στα τρόφιμα, ώστε να εκτιμηθεί η συνολική πρόσληψη μέσω της κατανάλωσης τροφής και να αξιολογηθεί ο πιθανός κίνδυνος έκθεσης σε αυτή την ομάδα ρύπων για τον ελληνικό πληθυσμό.

Για το σκοπό αυτό, αναπτύχθηκε και επικυρώθηκε κατάλληλη εξειδικευμένη και ευαίσθητη αναλυτική μέθοδος ισοτοπικής αραίωσης με χρήση επισημασμένων εσωτερικών προτύπων, σε συνδυασμό με βελτιστοποιημένη τεχνική Αέριας Χρωματογραφίας-Φασματομετρίας Μαζών σε σειρά (Gas Chromatography-Tandem Mass Spectrometry- GC-MS/MS), για τη μέτρηση των συγκεντρώσεων των ΠΑΥ σε επίπεδο υποβάθρου. Η μέθοδος πληροί τις απαιτήσεις των σχετικών Ευρωπαϊκών Κανονισμών και είναι κατάλληλη για την παρακολούθηση των επιπέδων των ΠΑΥ στα τρόφιμα, ακόμη και σε ίχνη, κάτι που κρίνεται απαραίτητο για την προστασία της δημόσιας υγείας. Στο σύνολό τους προσδιορίστηκαν 26 ΠΑΥ, συμπεριλαμβανομένων των 15+1 ΠΑΥ της Ε.Ε., των 16 ΠΑΥ της ΕΡΑ καθώς και το βενζο[ε]πυρένιο και το περυλένιο.

Η μέθοδος αρχικά εφαρμόστηκε σε 51 δείγματα δίθυρων μαλακίων, τα οποία μπορούν να θεωρηθούν ως περιβαλλοντικοί δείκτες. Τα δείγματα προήλθαν από την Περιφέρεια Κεντρικής Μακεδονίας και συγκεκριμένα από υδατοκαλλιέργειες του Θερμαϊκού και Στρυμονικού κόλπου, συλλεγμένα σε τρεις δειγματοληπτικές περιόδους. Ανιχνεύθηκαν ΠΑΥ σε όλα τα δείγματα μυδιών, με τους ΠΑΥ μικρού μοριακού βάρους να είναι οι κυρίαρχοι σε όλα τα δείγματα. Οι μέσες συγκεντρώσεις του συνολού των 26 ΠΑΥ στα μύδια κυμαίνονταν από 1,37 έως 25,59 $\mu\text{g kg}^{-1}$ νωπού βάρους, ενώ κανένα από τα δείγματα που αναλύθηκαν δεν υπερέβη το θεσμοθετημένο όριο της Ε.Ε. για τα επίπεδα των ΠΑΥ στα δίθυρα μαλάκια. Τα μύδια που συλλέχθηκαν κατά τη χειμερινή περίοδο είχαν τα υψηλότερα επίπεδα συγκέντρωσης για το άθροισμα των ΠΑΥ, ενώ δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά στα επίπεδα των συγκεντρώσεων μεταξύ των τοποθεσιών δειγματοληψίας.

Στη συνέχεια, προσδιορίστηκαν τα επίπεδα των ΠΑΥ σε δείγματα γευμάτων, που συλλέχθηκαν με τη βοήθεια εθελοντών και σύμφωνα με τη μέθοδο εκτίμησης διατροφικής έκθεσης της Εις Διπλούν Δίαιτας (Duplicate diet/portion study). Η συγκεκριμένη μέθοδος επιλέχθηκε έναντι άλλων, μιας και η διερεύνηση των επιπέδων των ρύπων γίνεται στο τελικό γεύμα που καταναλώνει κάποιος, λαμβάνοντας υπόψη την επιβάρυνση σε ΠΑΥ από το μαγείρεμα και τις τεχνικές συντήρησης. Το άθροισμα των συγκεντρώσεων και των 26 ΠΑΥ που προσδιορίστηκαν στα δείγματα είχε εύρος τιμών μεταξύ 4,43 και 15,11 $\mu\text{g kg}^{-1}$, ενώ η συγκέντρωση του βενζο[α]πυρενίου και το άθροισμα των συγκεντρώσεων των 4 ΠΑΥ, σε όλα τα δείγματα, δεν ξεπέρασαν κανένα από τα μέγιστα επιτρεπτά επίπεδα παρουσίας οποιασδήποτε ομάδας τροφίμων. Από το

είδος της παρουσίας των ΠΑΥ στα τρόφιμα, φάνηκε πως το προφίλ συγκεντρώσεων ΠΑΥ σχετίζεται άμεσα με το είδος της διατροφής των συμμετεχόντων.

Για τον γενικό πληθυσμό της Ελλάδας, η μέση ανώτερη ημερήσια πρόσληψη σε 26 ΠΑΥ υπολογίστηκε στα 7,16 $\mu\text{g ημέρα}^{-1}$ και η έκθεση στα 101,47 ng kg^{-1} σωματικού βάρους ημέρα^{-1} , σε 4 ΠΑΥ στα 0,25 $\mu\text{g ημ}^{-1}$ και 3,46 ng kg^{-1} σ.β. ημ^{-1} και σε βενζο[α]πυρένιο στα 0,05 $\mu\text{g ημ}^{-1}$ και 0,63 ng kg^{-1} σ.β. ημ^{-1} αντιστοίχως. Η ημερήσια έκθεση για τους άνδρες συμμετέχοντες ήταν υψηλότερη από αυτήν των γυναικών, ενώ η συνολική έκθεση σχετίστηκε άμεσα με το είδος και την ποσότητα της τροφής που καταναλώνει κάποιος.

Επιπρόσθετα, η διατροφική έκθεση του ελληνικού πληθυσμού υπολογίστηκε με βάση τα υπάρχοντα διατροφικά δεδομένα κατανάλωσης της χώρα μας και τις συγκεντρώσεις της Έκθεσης της EFSA του 2008, για τους ΠΑΥ στα ευρωπαϊκά τρόφιμα. Η μέση ανώτερη ημερήσια έκθεση εκτιμήθηκε στα 18,83 ng kg^{-1} σ.β. ημ^{-1} για το σύνολο των 4 ΠΑΥ και στα 3,51 ng kg^{-1} σ.β. ημ^{-1} για το βενζο[α]πυρένιο, με τις αντίστοιχες τιμές που προέκυψαν από τη μέθοδο της Εισ Διπλούν Δίαιτας να κυμαίνονται σε σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα.

Η μέθοδος Εισ Διπλούν Δίαιτας φάνηκε να είναι καταλληλότερη για την εκτίμηση της διατροφικής έκθεσης σε ΠΑΥ, παρά την ενδεχόμενη μικρή υποεκτίμηση στο αποτέλεσμα. Αντίθετα, η μέθοδος που βασίστηκε στα δεδομένα κατανάλωσης και συγκεντρώσεων είχε ως αποτέλεσμα υψηλές τιμές επιπέδων και υπερεκτίμηση της έκθεσης.

Τα περιθώρια ασφαλούς έκθεσης (Margins of Exposure-MOE) που υπολογίστηκαν δεν έδειξαν να υπάρχει κίνδυνος για τον γενικό ελληνικό πληθυσμό από τη διατροφική έκθεση σε ΠΑΥ. Μάλιστα, σε πολλές περιπτώσεις φάνηκε να είναι μικρότερη από τις αντίστοιχες άλλων χωρών, γεγονός που αποδίδεται στην περιορισμένη περιβαλλοντική ρύπανση, το είδος των τροφίμων που καταναλώνονται, τις πρακτικές μαγειρέματος, αλλά και στην αναλυτική μεθοδολογία η οποία χρησιμοποιήθηκε.

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ: πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες, διατροφική έκθεση, δίθυρα μαλάκια, φασματομετρία μαζών

ABSTRACT

The extensive release and distribution of chemical pollutants in the atmospheric air, in seawater, surface and underground water and soil along with their accumulation in the living organisms, results in their trophic transfer through the food chain along with the consequent prolonged exposure of many species, including humans. After entering the body, these pollutants may express their toxic action and cause significant adverse effects on health, such as developmental problems, damages to the reproductive, immune and endocrine systems, induction of carcinogenesis etc.

Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) are a large group of organic compounds. Some of them have proved to be toxic, harmful pollutants and are considered as a "threat" to humans and other living organisms. Sixteen of them are designated as High Priority Pollutants by the US-Environmental Protection Agency (EPA), while the European Food Safety Authority (EFSA) and the other European authorities have identified 15 PAHs as mutagenic, toxic and carcinogenic and benzo[g,h,i]perylene as mutagenic and toxic (15+1 PAH).

Their presence in food items and the dietary exposure to PAH is evaluated by various Organizations. The European Union recommends the continuous monitoring of levels of 15+1 PAHs in food, while the use of the sum of 4 PAHs (benz[a]anthracene, chrysene, benzo[a]pyrene, benzo[b]fluoranthene) is proposed as an indicator of the presence of carcinogenic PAHs in food. The EU has established maximum limits for the presence of benzo[a]pyrene, the most dangerous PAH and the sum of 4 PAHs in certain food categories, for the protection of public health. A large number of studies has been conducted in various countries, in order to estimate the exposure of general population on PAHs, through food consumption.

In this context, the present Doctoral Thesis aims at the monitoring of PAHs' concentration levels in food, in order to estimate the overall intake through food consumption for assessing the potential exposure risk of the Greek population.

For this purpose, a highly selective and sensitive analytical method of isotopic dilution using labeled internal standards, in combination with the use of an optimized Gas Chromatography-Tandem Mass Spectrometry (GC-MS/MS) technique was developed and validated, for the determination of PAHs at the background level. The method is in compliance with the requirements of the relevant European Commission Regulations

and was found suitable for the monitoring of PAHs levels in food, even in trace concentrations, a necessary action for the protection of public health. Twenty six PAHs were determined, including the EU 15+1 PAHs, the EPA 16 PAHs, as well as benzo[e]pyrene and perylene.

The method was initially applied to 51 samples of bivalve molluscs, which are considered as environmental indicators. Sampling of the molluscs was conducted in Central Macedonia Region, from aquacultures in the Thermaikos and Strymonikos Gulf, in three sampling periods. PAHs were detected in all mussel samples, the Low Molecular Weight PAHs being the predominant in all samples. The average concentrations for the total of 26 PAHs ranged from 1.37 to 25.59 $\mu\text{g kg}^{-1}$ wet weight, while none of the samples exceeded the established EU limit for PAHs levels in bivalve molluscs. Mussels from winter sampling period had the highest average concentration levels for the sum of PAHs, while no significant difference in the concentration levels was observed between the three sampling sites.

Subsequently, concentration levels of PAHs were determined in dietary food samples, collected with the help of volunteers and according to the Duplicate diet/portion study protocol method. This method was selected, since the determination of the pollutants is conducted in the final meal that someone consumes, taking into account the burden of PAHs contributed by cooking and maintenance techniques. The sum of the 26 PAHs in the analyzed samples ranged from 4.43 to 15.11 $\mu\text{g kg}^{-1}$, while levels of benzo[a]pyrene and the sum of 4 PAHs did not exceed the maximum limits established for all food groups, in any of the samples. The diagnostic ratios and distribution patterns of PAHs in the samples, showed that PAHs' profile in dietary food samples is directly related to the type of participants' diet.

For the general population of Greece, the mean upper daily intake of 26 PAHs was estimated at 7.16 $\mu\text{g day}^{-1}$ and the exposure at 101.47 ng kg^{-1} body weight day^{-1} , of the 4 PAHs at 0.25 $\mu\text{g d}^{-1}$ and 3.46 ng kg^{-1} b.w. d^{-1} and of benzo[a]pyrene at 0.05 $\mu\text{g d}^{-1}$ and 0.63 ng kg^{-1} b.w. d^{-1} , respectively. The daily dietary exposure for male participants was higher than that of women, while the exposure was directly related to the type and amount of food consumed.

Additionally, the dietary exposure of the Greek population was calculated based on the national nutritional consumption data and the concentrations of PAHs in various

European food items, reported in the EFSA's Report of 2008. In this approach, the mean upper daily exposure was estimated at 18,83 ng kg⁻¹ b.w. d⁻¹ for the sum of 4 PAHs and at 3.51 ng kg⁻¹ b.w. d⁻¹ for benzo[a]pyrene, with the corresponding values obtained from the Duplicate Diet approach fluctuating at lower levels.

The Duplicate Diet method was found suitable for the estimation of dietary exposure to PAHs, despite the possible slight underestimation of the result. On the contrary, the method based on consumption and concentration data, resulted in high level values and overestimation of the exposure.

The calculated Margins of Exposure (MOE) did not indicate a possible risk to PAHs from food consumption, for the general Greek population. The calculated dietary exposure seemed to be in lower levels compared to those determined for the population of other countries, a fact that is attributed to the limited environmental pollution, the type of food that is consumed, the cooking practices, but also to the sensitive and selective analytical methodology that was used.

KEYWORDS: polycyclic aromatic hydrocarbons, dietary exposure, bivalve molluscs, tandem mass spectrometry

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Για την πραγματοποίηση και ολοκλήρωση της παρούσας Δ.Δ. θα ήθελα αρχικά να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα κ.Λ.Λεοντιάδη, για την καθοδήγηση, την εμπειρία και τις γνώσεις που μου πρόσφερε, καθώς και για την ευκαιρία που μου έδωσε να εργαστώ επί σειρά ετών στο Εργαστήριο Φασματομετρίας Μάζας και Ανάλυσης Διοξινών, διαμορφώνοντάς με επιστημονικά, επαγγελματικά αλλά και σε προσωπικό επίπεδο.

Στη συνέχεια, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ.Ε.Δασενάκη για τη βοήθειά του, από το Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα έως τώρα, ο οποίος είναι συγκινητικά πάντα δίπλα στο πλευρό των φοιτητών. Ένα μεγάλο ευχαριστώ και στο τρίτο μέλος της συμβουλευτικής επιτροπής, την κ.Ε.Βασιλειάδου, για τη στήριξη, τη βοήθειά της, τη συνεργασία τόσων ετών και όλες εκείνες τις στιγμές που έχουμε περάσει μαζί στο Εργαστήριο, τις οποίες θα κουβαλώ για πάντα.

Τις ευχαριστίες μου και στον κ.Α.Οικονόμου και κ.Ε.Μπακέα για την παρουσία, τα σχόλια και τις παρατηρήσεις τους κατά την παρουσίαση της Δ.Δ. Ευχαριστώ θερμά και τον κ.Ν.Καλογερόπουλο για τα εφόδια, τις συμβουλές και τη συνεχή εμπιστοσύνη που δείχνει στο πρόσωπό μου. Φυσικά, ένα πολύ μεγάλο ευχαριστώ και στον κ.Σ.Καραβόλτσο, που με εμπιστεύτηκε, μου «άνοιξε» ακαδημαϊκούς δρόμους, και φρόντισε ώστε να εξελιχθώ σε όλους τους τομείς της ζωής μου.

Πολύτιμη ήταν η βοήθεια της κ.Δ.Κωστοπούλου, η οποία με τον επαγγελματισμό, την επιστημονική της ματιά, την καλοσύνη και τη δοτικότητα της, μας κάνει όλους καθημερινά λίγο καλύτερους, από αυτό που είμαστε. Πάντα πρόθυμη, ευγενική και καταρτισμένη, η κ.Α.Σακελλάρη έκανε τη διαδρομή του Διδακτορικού πιο εύκολη τόσο σε πρακτικό όσο και σε ψυχολογικό επίπεδο, για αυτό και την ευχαριστώ από καρδιάς για την άφογη συνεργασία. Ευχαριστώ επίσης και τις κυρίες Κ.Κεδίκογλου και Ι.Δασενάκη, που με ενθάρρυναν συνεχώς σε αυτή την προσπάθεια και που έκαναν την καθημερινότητα πιο ευχάριστη και διαφορετική, καθώς και τον κ.Κ.Κουκουλάκη για την κοινή πορεία και το μοίρασμα των σκέψεων και των συναισθημάτων, που τόσο είχα ανάγκη.

Επιπρόσθετα, ευχαριστώ τους κυρίους Β.Τζαμτζή και Δ.Χρυσυφίδη από το Εργαστήριο Τροφίμων του Γενικού Χημείου του Κράτους για τις γνώσεις που μοιράστηκαν μαζί μου και την επικοινωνιακή μας συνεργασία.

Τις θερμότερες ευχαριστίες μου και σε όλους τους εθελοντές που συμμετείχαν στη μελέτη, για την ουσιαστική και σημαντική τους συμβολή, ώστε να ολοκληρωθεί αυτό το εγχείρημα.

Τέλος, σε έναν πιο προσωπικό τόνο, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου, για τη βοήθεια στη διαδρομή αυτή. Τον σύντροφό μου Άγγελο, για την υπομονή και τη φροντίδα του όλα αυτά τα χρόνια. Τον αδερφό μου Δημήτρη, του οποίου η ύπαρξή και τα λόγια με γέμιζαν αισιοδοξία όταν απογοητευόμουν. Και φυσικά τους γονείς μου Παύλο και Μάρια, για την πολύπλευρη και αδιάλειπτη στήριξη, μα κυρίως για την αγάπη τους. Σε εκείνους αφιερώνω τη Διατριβή αυτή.

*Στην αρχή των αξόνων μου,
τους γονείς μου...*

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ	26
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	27
ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	29
1. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΠΟΛΥΚΥΚΛΙΚΟΙ ΑΡΩΜΑΤΙΚΟΙ ΥΔΡΟΓΟΝΑΝΘΡΑΚΕΣ	29
1.1 Οι Πολυκυκλικοί Αρωματικοί Υδρογονάνθρακες (ΠΑΥ) ως Ανθεκτικοί Οργανικοί Ρύποι	29
1.1.1 Μοριακές Δομές και φυσικοχημικές Ιδιότητες.....	31
1.1.2 Προέλευση, πηγές εκπομπής και κατανομή στο περιβάλλον.....	37
1.1.3 Οδοί ανθρώπινης έκθεσης	40
1.1.4 Απορρόφηση, κατανομή και απέκκριση.....	42
1.1.5 Μηχανισμός τοξικής δράσης.....	44
1.1.6 Επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία.....	48
1.2 Η παρουσία των ΠΑΥ στα τρόφιμα.....	50
1.2.1 Επίπεδα ΠΑΥ ανά κατηγορίες τροφίμων	51
1.2.2 Ανασκόπηση νομοθεσίας.....	62
2. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΕΚΘΕΣΗΣ ΣΕ ΧΗΜΙΚΟΥΣ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΟΥΣ ΡΥΠΟΥΣ ΜΕΣΩ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ	66
2.1 Η έννοια του εκθεσιώματος (exposome) και η μέτρησή του.....	66
2.2 Δεδομένα σχετικά με την εκτίμηση της πρόσληψης χημικών ρύπων μέσω της διατροφής, επιμέρους παράμετροι, εργαλεία και μέθοδοι διατροφικών μελετών	68
2.2.1 Μέθοδοι συλλογής δεδομένων κατανάλωσης τροφίμων.....	70
2.2.2 Μέθοδοι διατροφικής αξιολόγησης.....	74
2.3 Βιβλιογραφική ανασκόπηση έκθεσης του πληθυσμού σε ΠΑΥ μέσω της διατροφής.....	75
3. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ	78
3.1 Προσδιορισμός πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων σε τρόφιμα....	78

3.2	Προκατεργασία δειγμάτων.....	79
3.2.1	Τεχνικές εκχύλισης.....	79
3.2.2	Τεχνικές καθαρισμού.....	79
3.3	Τεχνικές ποσοτικοποίησης	80
3.4	Η μέθοδος της ισοτοπικής αραίωσης με χρήση επισημασμένων εσωτερικών προτύπων.....	81
3.5	Ποσοτικός προσδιορισμός ΠΑΥ με Αέρια Χρωματογραφία συζευγμένη με Φασματομετρία Μαζών σε σειρά- Gas Chromatography coupled with Tandem Mass Spectrometry (GC- MS/MS).....	83
3.6	Επικύρωση Μεθόδων.....	83
4.	ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΣΚΟΠΙΜΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΣΤΟΧΟΙ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ	86
	ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	88
5.	ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΠΑΥ ΣΕ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ & ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΕΚΤΙΜΗΣΗΣ ΕΚΘΕΣΗΣ.....	88
5.1	Αντιδραστήρια και υλικά	88
5.2	Όργανα, συσκευές και υαλικά.....	89
5.3	Παρασκευή πρότυπων διαλυμάτων	91
5.4	Δειγματοληψία- Συλλογή δειγμάτων	94
5.4.1	Δίθυρα μαλάκια υδατοκαλλιέργειας από την Περιφέρεια Κεντρικής Μακεδονίας.....	94
5.4.2	Τρόφιμα συλλεγμένα με τη μέθοδο της Εισ Διπλούν Δίαιτας.....	95
5.5	Πρωτόκολλο εργασίας προσδιορισμού ΠΑΥ	96
5.5.1	Εκχύλιση δίθυρων μαλακίων.....	97
5.5.2	Εκχύλιση λίπους στα τρόφιμα	97
5.5.3	Εκχύλιση του αναλύτη από το λίπος.....	98
5.5.4	Χρωματογραφικός καθαρισμός.....	98
5.5.5	Προσδιορισμός ΠΑΥ με χρήση της τεχνικής GC- MS/MS	99

5.6 Υπολογιστικές μέθοδοι εκτίμησης της έκθεσης και αξιολόγησης του κινδύνου από την έκθεση.....	102
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	107
6. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΜΕΘΟΔΟΥ ΓΙΑ ΤΟΝ ΠΟΣΟΤΙΚΟ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΠΑΥ ΣΕ ΤΡΟΦΙΜΑ.....	107
6.1 Επιλογή παραμέτρων, πρωτοκόλλου και τεχνικών αναλυτικής μεθόδου.....	107
6.1.1 Βελτιστοποίηση παραμέτρων που αφορούν στην εκχύλιση.....	107
6.1.2 Βελτιστοποίηση παραμέτρων που αφορούν στον χρωματογραφικό καθαρισμό	112
6.1.3 Βελτιστοποίηση παραμέτρων που αφορούν στην αέρια χρωματογραφία	113
6.1.4 Βελτιστοποίηση παραμέτρων των φασματομετρικών τεχνικών	114
6.2 Επικύρωση μεθόδων.....	115
7. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΜΕΘΟΔΟΥ ΣΕ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΜΥΔΙΩΝ	129
7.1 Επίπεδα συγκεντρώσεων ΠΑΥ στα μύδια	129
7.2 Προφίλ κατανομής ΠΑΥ στα μύδια	138
7.3 Μοριακοί διαγνωστικοί λόγοι προέλευσης	139
8. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8: ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗΣ ΕΚΘΕΣΗΣ ΤΟΥ ΓΕΝΙΚΟΥ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ ΣΕ ΠΑΥ ΚΑΙ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΕΚΘΕΣΗΣ	145
8.1 Επίπεδα συγκεντρώσεων ΠΑΥ στα τρόφιμα που συλλέχθηκαν με τη Μέθοδο της Εις Διπλούν Δίαιτας	145
8.2 Προφίλ συγκεντρώσεων των ΠΑΥ στα διατροφικά δείγματα και συσχέτιση με το είδος της διατροφής	152
8.3 Υπολογισμός των επιπέδων συνολικής ημερήσιας διατροφικής πρόσληψης ΠΑΥ των συμμετεχόντων	157
8.4 Υπολογισμός διατροφικής έκθεσης σε ΠΑΥ, με βάση τα δεδομένα διατροφικής κατανάλωσης και δεδομένα συγκεντρώσεων.....	168
8.5 Συγκριτική αποτίμηση των δύο μεθόδων.....	174

8.6	Αξιολόγηση κινδύνου διατροφικής έκθεσης του γενικού πληθυσμού σε ΠΑΥ - Περιθώρια ασφαλούς έκθεσης	175
8.7	Σύγκριση των επιπέδων έκθεσης του Ελληνικού πληθυσμού σε ΠΑΥ με εκείνα άλλων χωρών	178
9.	ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ.....	185
9.1	Ανάπτυξη μεθόδου για τον ποσοτικό προσδιορισμό των ΠΑΥ	185
9.2	Επίπεδα ΠΑΥ στα μύδια.....	186
9.3	Διατροφική έκθεση του γενικού πληθυσμού σε ΠΑΥ και εκτίμηση κινδύνου...	187
9.4	Μελλοντικοί στόχοι- προτάσεις	189
	ΠΙΝΑΚΑΣ ΟΡΟΛΟΓΙΑΣ	191
	ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ – ΑΡΚΤΙΚΟΛΕΞΑ – ΑΚΡΩΝΥΜΙΑ	192
	ΑΝΑΦΟΡΕΣ	193

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1: Πορεία μεταβολισμού ΠΑΥ στον οργανισμό	44
Σχήμα 2: Μεταβολική ενεργοποίηση του βενζο[α]πυρενίου προς ισομερείς εποξειδικές διυδροδιόλες.....	45
Σχήμα 3: Μεταβολική ενεργοποίηση του βενζο[α]πυρενίου προς κατιοντική ρίζα.....	46
Σχήμα 4: Σχηματισμός ΠΑΥ-ο-κινόνης.....	47
Σχήμα 5: Η πορεία εργασίας για τον προσδιορισμό ΠΑΥ σε τρόφιμα.....	96
Σχήμα 6: (α),(β),(γ),(δ),(ε),(στ) Χρωματογραφήματα ΠΑΥ τυφλού δείγματος με επισημασμένα πρότυπα (0.1 ng mL ⁻¹).....	118
Σχήμα 7: Ανακτήσεις (%R) ισοτοπικά επισημασμένων ΠΑΥ για συγκέντρωση 10 ng g ⁻¹	121
Σχήμα 8: (α),(β),(γ),(δ),(ε),(στ) Χρωματογραφήματα ΠΑΥ δείγματος διεργαστηριακής δοκιμής από το EURL-PAH	128
Σχήμα 9: (α) Εποχιακή διακύμανση μέσω ανώτερων συγκεντρώσεων συνόλου 26 ΠΑΥ, (β) Χωρική διακύμανση μέσω ανώτερων συγκεντρώσεων συνόλου 26 ΠΑΥ...	136
Σχήμα 10: Προφίλ κατανομής των ΠΑΥ ανά τοποθεσία και εποχή δειγματοληψίας ...	139
Σχήμα 11: Συμβολή κάθε ΠΑΥ στη συνολική διατροφική πρόσληψη.....	153
Σχήμα 12: Ποσοστιαία συμμετοχή LMW και HMW ΠΑΥ στα δείγματα διατροφής	153
Σχήμα 13: % προφίλ κατανομής των ΠΑΥ ανά συμμετέχοντα.....	154
Σχήμα 14: Ημερήσια διατροφική έκθεση στους 26 ΠΑΥ ανά φύλο και συμμετέχοντα.	162
Σχήμα 15: Ημερήσια διατροφική έκθεση στους 16 ΠΑΥ ανά φύλο και συμμετέχοντα.	163
Σχήμα 16: Ημερήσια διατροφική έκθεση στους 15+1 ΠΑΥ ανά φύλο και συμμετέχοντα	164
Σχήμα 17: Ημερήσια διατροφική έκθεση στους 8 ΠΑΥ ανά φύλο και συμμετέχοντα...	165
Σχήμα 18: Ημερήσια διατροφική έκθεση στους 4 ΠΑΥ ανά φύλο και συμμετέχοντα...	166
Σχήμα 19: Διατροφική έκθεση ανά φύλο στους ΠΑΥ του ορίου	167

Σχήμα 20: Συμβολή κατηγοριών τροφίμων στη συνολική έκθεση του γενικού πληθυσμού	173
Σχήμα 21: Συγκριτικά επίπεδα διατροφικής πρόσληψης ΠΑΥ ενηλίκων ανά χώρα	183

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: Μοριακές Δομές ΠΑΥ	33
Πίνακας 2: Φυσικοχημικές ιδιότητες ΠΑΥ	36
Πίνακας 3: Μέγιστα επιτρεπόμενα επίπεδα ΠΑΥ σε τρόφιμα	65
Πίνακας 4: Μέση κατανάλωση και μέσες (upperbound) συγκεντρώσεις ΠΑΥ ανά κατηγορία τροφίμων	76
Πίνακας 5: Διαλύματα βαθμονόμησης για τη μέτρηση των ΠΑΥ	93
Πίνακας 6: Αεριοχρωματογραφικές παράμετροι	100
Πίνακας 7: Ιοντικές μεταπτώσεις και ενέργειες διάσπασης	100
Πίνακας 8: Αλκαλικά διαλύματα σαπωνοποίησης	108
Πίνακας 9: Διαλύτες υγρής- υγρής εκχύλισης	110
Πίνακας 10: Όρια ανίχνευσης (LOD) και όρια ποσοτικοποίησης (LOQ) ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	120
Πίνακας 11: Παράμετροι πιστότητας και ορθότητας	123
Πίνακας 12: Συγκέντρωση που υπολογίστηκε ($\mu\text{m kg}^{-1}$), τιμή στόχος ($\mu\text{m kg}^{-1}$) και z score σε δείγματα διεργαστηριακών δοκιμών	125
Πίνακας 13: Κωδικοί δείγματος και αριθμός σταθμών/δειγμάτων ανά περιοχή δειγματοληψίας	129
Πίνακας 14: Συγκεντρώσεις ΠΑΥ σε μύδια ($\mu\text{g kg}^{-1}$ νωπού βάρους)	130
Πίνακας 15: Μέσες ανώτερες συγκεντρώσεις (Mean) και τα σύνολά τους για κάθε άθροισμα ΠΑΥ, διάμεσος των συγκεντρώσεων (Median) και εύρος τιμών (Range), ανά σημείο δειγματοληψίας ($\mu\text{g kg}^{-1}$ νωπού βάρους)	132
Πίνακας 16: Μέσες ανώτερες συγκεντρώσεις (M.A.Συγκ.) BaP και $\Sigma_{\text{ΠΑΥ}}$, συνολική μέση ανώτερη εποχιακή συγκέντρωση (M.Εποχ.Συγκ.) και εύρος τιμών, ανά εποχή ($\mu\text{g kg}^{-1}$ ν.β.)	134
Πίνακας 17: Μοριακοί Διαγνωστικοί Λόγοι Προέλευσης ΠΑΥ	140
Πίνακας 18: Συγκεντρώσεις ΠΑΥ σε μύδια ($\mu\text{g kg}^{-1}$ νωπού βάρους)	142
Πίνακας 19: Κωδικοί διατροφικών δειγμάτων της μελέτης	146

Πίνακας 20: Μέσες συγκεντρώσεις ΠΑΥ στα εβδομαδιαία δείγματα τροφίμων ($\mu\text{g kg}^{-1}$ προϊόντος).....	148
Πίνακας 21: Μέσες ανώτερες συγκεντρώσεις ΠΑΥ, διάμεσες τιμές και εύρος τιμών συγκεντρώσεων ($\mu\text{g kg}^{-1}$ προϊόντος)	149
Πίνακας 22: Μέσες ανώτερες και κατώτερες συγκεντρώσεις ΠΑΥ (LB, UB), διάμεσες τιμές και εύρος τιμών συγκεντρώσεων ($\mu\text{g kg}^{-1}$ προϊόντος).....	150
Πίνακας 23: Ημερήσια και εβδομαδιαία κατανάλωση τροφίμων συμμετεχόντων.....	158
Πίνακας 24: Ημερήσια διατροφική πρόσληψη ΠΑΥ.....	159
Πίνακας 25: Ημερήσια διατροφική έκθεση σε ΠΑΥ ανα kg σωματικού βάρους	160
Πίνακας 26: Δεδομένα κατανάλωσης τροφίμων και συγκεντρώσεων ΠΑΥ ανά κατηγορία.....	170
Πίνακας 27: Μέση ανώτερη και κατώτερη ημερήσια διατροφική έκθεση σε ΠΑΥ, ανά κατηγορίες τροφίμων, με βάση τα δεδομένα διατροφικής κατανάλωσης	172
Πίνακας 28: Συνολική μέση ανώτερη και κατώτερη ημερήσια διατροφική έκθεση σε ΠΑΥ με βάση τα δεδομένα διατροφικής κατανάλωσης	172
Πίνακας 29: Εκτιμώμενη έκθεση με βάση τις δύο μεθόδους (ng kg^{-1} σ.β. ημ^{-1})	174
Πίνακας 30: Περιθώρια ασφαλούς έκθεσης (MOE) σε ΠΑΥ μέσω της διατροφής	176
Πίνακας 31: Δημοσιευμένες μελέτες για την διατροφική πρόσληψη ΠΑΥ σε διάφορες χώρες	179
Πίνακας 32: Πίνακας ορολογίας με τις αντιστοιχίσεις των ελληνικών και ξενόγλωσσων όρων.....	191

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1: Απελευθέρωση και διασπορά των ΠΑΥ στο περιβάλλον.....	39
Εικόνα 2: Πηγές παρουσίας ΠΑΥ στα τρόφιμα.....	51
Εικόνα 3: Η έννοια του exosome	67
Εικόνα 4: Σημεία δειγματοληψίας μυδιών-σταθμοί υδατοκαλλιέργειας	94
Εικόνα 5: Ημερήσια δόση που αντιστοιχεί στην απόκριση αναφοράς	105
Εικόνα 6: Συλλογή και επεξεργασία ημερησίων διατροφικών δειγμάτων	147

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η Γενική Συνέλευση Ειδικής Σύνθεσης του Τμήματος Χημείας του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών εισηγήθηκε την εκπόνηση της παρούσας Διδακτορικής Διατριβής στον Τομέα Χημείας Περιβάλλοντος στις 13/06/2016 και όρισε τα μέλη της Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής, η οποία αποτελείτο από τους: Εμμανουήλ Δασενάκη (Καθηγητής, ΕΚΠΑ), Λεόντιο Λεοντιάδη (Ερευνητής Α' Βαθμίδας - ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος»), Ειρήνη Βασιλειάδου (Ερευνήτρια Β' Βαθμίδας - ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος»).

Το πειραματικό μέρος πραγματοποιήθηκε εξ' ολοκλήρου στο Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. «Δημόκριτος», στο εργαστήριο Φασματομετρίας Μάζας και Ανάλυσης Διοξινών με επικεφαλής και επιβλέποντα ερευνητή της Διατριβής τον Δρ. Λεόντιο Λεοντιάδη.

Η παρούσα διατριβή χρηματοδοτήθηκε από το πρόγραμμα με τίτλο: «Ανάπτυξη των ερευνητικών δραστηριοτήτων του Ινστιτούτου Πυρηνικών και Ραδιολογικών Επιστημών και Τεχνολογίας, Ενέργειας και Ασφάλειας στο πλαίσιο της Εθνικής Στρατηγικής Έρευνας και Τεχνολογίας για την έξυπνη εξειδίκευση» (κωδικός MIS 5002559) - ΚΡΗΠΙΣ. Το αντικείμενο μελέτης ήταν η «Ανάπτυξη μεθόδων, προσδιορισμός των επιπέδων και αξιολόγηση του κινδύνου έκθεσης του πληθυσμού σε ανθεκτικούς οργανικούς ρύπους».

Αποτελέσματα της Διατριβής έχουν δημοσιευθεί με στοιχεία δημοσίευσης:

Grigoriou K., Costopoulou D., Vassileiadou I., Chrysafidis D., Tzamtzis V., Bakeas E., Leondiadis L., Monitoring of polycyclic aromatic hydrocarbons levels in mussels (*Mytilus galloprovincialis*) from aquaculture farms in Central Macedonia Region, Greece, using gas chromatography- tandem mass spectrometry method. *Molecules* 2021, 26(19): 5953.

Επιπλέον, προς υποβολή για δημοσίευση σε επιστημονικό περιοδικό είναι το άρθρο: Grigoriou K., Costopoulou D., Vassileiadou I., Karavoltsos S., Sakellari K., Bakeas E., Leondiadis L., PAHs and metals dietary intake in inhabitants of Athens, Greece, based on a Duplicate Portion Study (*for submission*).

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι Πολυκυκλικοί Αρωματικοί Υδρογονάνθρακες αποτελούν μία μεγάλη ομάδα περιβαλλοντικών οργανικών ρύπων, που σχηματίζονται ως προϊόντα ατελούς καύσης των οργανικών ενώσεων από φυσικές και ανθρωπογενείς πηγές και διασπείρονται ευρέως στο περιβάλλον. Διεθνείς και ευρωπαϊκοί φορείς όπως ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας και ο Ευρωπαϊκός Οργανισμός Περιβάλλοντος τους συμπεριλαμβάνουν στην κατηγορία των Ανθεκτικών Οργανικών Ρύπων, κύριο χαρακτηριστικό των οποίων είναι η πρόκληση βλαβερών επιδράσεων στα βιολογικά συστήματα. Έχουν ανιχνευθεί στην τροφική αλυσίδα και η κύρια οδός έκθεσης του ανθρώπου είναι η κατανάλωση τροφής. Από το σύνολο των Πολυκυκλικών Αρωματικών Υδρογονανθράκων δεκαπέντε παρουσιάζουν αποδεδειγμένη μεταλλαξιογόνο, τοξική και καρκινογόνο δράση, σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων, ενώ η Ευρωπαϊκή Επιτροπή έχει θεσπίσει μέγιστα επιτρεπτά όρια παρουσίας τεσσάρων Πολυκυκλικών Αρωματικών Υδρογονανθράκων (βενζ[α]ανθρακένιο, χρυσένιο, βενζο[α]πυρένιο, βενζο[β]φλουορανθένιο) σε ορισμένες κατηγορίες τροφίμων.

Η επιβάρυνση των τροφίμων σε Πολυκυκλικούς Αρωματικούς Υδρογονάνθρακες οφείλεται στην περιβαλλοντική ρύπανση και εξαρτάται από το είδος του τροφίμου, τις συνθήκες επεξεργασίας και συντήρησης των τροφίμων και τον τρόπο μαγειρέματος. Με βάση τις υπάρχουσες επιστημονικές μελέτες, η παρουσία τους στα τρόφιμα είναι συνήθως σε μείγματα και σε χαμηλές συγκεντρώσεις, που σπάνια υπερβαίνουν τα ανώτατα θεσπισμένα όρια. Ωστόσο, η χαμηλή τιμή των θεσπισμένων ορίων, η εκτίμηση πως η έκθεση σε ΠΑΥ για έναν μη καπνιστή προέρχεται κατά 70% και άνω από τη διατροφή, όσο και η μεταλλαξιογόνος, τοξική και καρκινογόνος δράση που παρουσιάζουν, καθιστούν απαραίτητη τη συνεχή παρακολούθηση των επιπέδων των συγκεντρώσεών τους στα τρόφιμα, για την προστασία των καταναλωτών.

Καθώς η επιστημονική κοινότητα τα τελευταία χρόνια στρέφει το ενδιαφέρον της στη μελέτη της συσχέτισης της συνολικής έκθεσης (exposome) του

ανθρώπου σε ενδογενείς και εξωγενείς παράγοντες από τη σύλληψη έως το θάνατό του, η εκτίμηση της ατομικής έκθεσης σε περιβαλλοντικούς στρεσογόνους παράγοντες θεωρείται επιβεβλημένη. Αν και σε χαμηλά επίπεδα συγκεντρώσεων, οι ημερήσιες δόσεις διαφόρων Ανθεκτικών Οργανικών Ρύπων, συμπεριλαμβανομένων και των Πολυκυκλικών Αρωματικών Υδρογονανθράκων, είναι πιθανό να δρουν αθροιστικά και συνεργεστικά προκαλώντας ιδιαίτερα βλαβερές επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία, κατά το ρητό «η δόση κάνει το δηλητήριο».

Ως εκ τούτου, απαιτούνται κατάλληλες αναλυτικές τεχνικές, ικανές να ανιχνεύσουν και να ποσοτικοποιήσουν περιβαλλοντικούς ρύπους, των οποίων η παρουσία είναι σε ίχνη. Ειδικότερα για την περίπτωση των τροφίμων, που αποτελούν σύνθετο και πολύπλοκο υπόστρωμα (matrix), απαιτείται υψηλή ευαισθησία και εξειδίκευση για μέτρηση συγκεντρώσεων στο υπόβαθρο (background). Μία τέτοια τεχνική είναι η Αέρια Χρωματογραφία συζευγμένη με Φασματομετρία Μαζών σε σειρά.

Χρησιμοποιώντας αξιόπιστα αποτελέσματα επικυρωμένων αναλύσεων, σε συνδυασμό με ενδεδειγμένες μεθόδους εκτίμησης διατροφικής έκθεσης είναι δυνατό να υπολογισθεί η ημερήσια πρόσληψη ρύπων και συγκεκριμένα Πολυκυκλικών Αρωματικών Υδρογονανθράκων και να εκτιμηθεί ο κίνδυνος έκθεσης μέσω της διατροφής.

Η παρούσα Διδακτορική Διατριβή είναι η πρώτη μελέτη, απ' όσο γνωρίζουμε, που έχει ως αντικείμενο την αξιολόγηση του κινδύνου έκθεσης του ελληνικού πληθυσμού, μέσω πρόσληψης τροφής, σε Πολυκυκλικούς Αρωματικούς Υδρογονάνθρακες, στα πλαίσια της οποίας επιχειρείται για πρώτη φορά στην Ελλάδα η εφαρμογή της Μεθόδου Εις Διπλούν Δίαιτας (Duplicate Diet Study-D.D.S) ως μεθόδου εκτίμησης διατροφικής έκθεσης.

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΠΟΛΥΚΥΚΛΙΚΟΙ ΑΡΩΜΑΤΙΚΟΙ ΥΔΡΟΓΟΝΑΝΘΡΑΚΕΣ

1.1 Οι Πολυκυκλικό Αρωματικό Υδρογονάνθρακες (ΠΑΥ) ως Ανθεκτικοί Οργανικοί Ρύποι

Τα πολυαρένια, γνωστότερα ως Πολυκυκλικό Αρωματικό Υδρογονάνθρακες (ΠΑΥ) (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons- PAHs), είναι μια ομάδα οργανικών ενώσεων (περί τις 10.000) που αποτελούνται από δύο ή περισσότερους αρωματικούς δακτυλίους ενωμένους μεταξύ τους. Οι δακτύλιοι δεν περιέχουν ετεροάτομα και δε φέρουν υποκαταστάτες, αποτελούνται μόνο από άτομα άνθρακα και υδρογόνου. Ως μη πολικές ενώσεις παρουσιάζουν μικρή διαλυτότητα στο νερό και είναι λιπόφιλες^{1, 2}.

Σχηματίζονται κατά την ατελή καύση ή την πυρόλυση της οργανικής ύλης από διάφορες φυσικές αλλά κυρίως ανθρωπογενείς δραστηριότητες, όπως πχ. οι βιομηχανικές διεργασίες, οι κινητήρες εσωτερικής καύσης κ.α.³ Μετά την εκπομπή τους βρίσκονται σε αφθονία στον αέρα και προσδεδεμένοι στη σωματιδιακή ύλη, διασπείρονται σε όλο περιβάλλον μέσω του οποίου εισέρχονται στην τροφική αλυσίδα και προκαλούν βλαβερές επιδράσεις στην υγεία των ζωντανών οργανισμών, όπως όλοι οι Ανθεκτικοί Οργανικοί Ρύποι (Persistent Organic Pollutants - POPs)⁴.

Για να χαρακτηριστεί μια χημική ένωση ως ανθεκτικός οργανικός ρύπος πρέπει να παρουσιάζει τα εξής χαρακτηριστικά:

Να παραμένει άθικτη για μεγάλα χρονικά διαστήματα, επιδεικνύοντας αντοχή στη χημική διάσπαση και στη φωτο- διάσπαση

Να διασπείρεται ευρέως στο περιβάλλον, ως αποτέλεσμα διαφόρων φυσικών διεργασιών και να μεταφέρεται σε μεγάλες αποστάσεις

Να συσσωρεύεται στο λιπώδη ιστό των ζωντανών οργανισμών και να ανιχνεύεται σε υψηλότερες συγκεντρώσεις στα ανώτερα επίπεδα της τροφικής αλυσίδας

Να προκαλεί βλαβερές επιδράσεις στην υγεία ανθρώπων και ζώων⁵.

Οι πολυχλωριωμένες διβένζο-π-διοξίνες και τα φουράνια (PCDD/Fs), τα πολυχλωριωμένα διφαινύλια (PCBs), ορισμένα φυτοφάρμακα (πχ. Aldrin, DDT), υπερφθοριωμένες ενώσεις (PFAs) καθώς και ορισμένοι από τους πολυκυκλικούς αρωματικούς υδρογονάνθρακες συγκαταλέγονται στα πιο γνωστά POPs.

Το έτος 1998 συντάχθηκε το πρωτόκολλο του Άαρχους για τους Ανθεκτικούς Οργανικούς Ρύπους, στα πλαίσια της υλοποίησης των στόχων που τέθηκαν το 1979 στη σύμβαση της Γενεύης για την αντιμετώπιση της διαμεθοριακής ρύπανσης της ατμόσφαιρας σε μεγάλη απόσταση, υπό την αιγίδα της Οικονομικής Επιτροπής των Ηνωμένων Εθνών για την Ευρώπη⁶. Σύμφωνα με το πρωτόκολλο, οι συμβαλλόμενες χώρες- μέλη όφειλαν να μειώσουν τις συνολικές ετήσιες εκπομπές των ΠΑΥ λαμβάνοντας κατάλληλα αποτελεσματικά μέτρα⁷. Πέραν από τους ΠΑΥ, στη λίστα μείωσης της χρήσης ή ακόμη και απαγόρευσης παραγωγής συμπεριλαμβάνονταν άλλες 15 ομάδες ενώσεων POPs. Το 2001, το Συμβούλιο του Προγράμματος για το Περιβάλλον του Οργανισμού Ηνωμένων Εθνών (UNEP) προχώρησε στην ψήφιση της Συνθήκης της Στοκχόλμης, η οποία έχει ως σκοπό την προστασία της ανθρώπινης υγείας και του περιβάλλοντος από τις επιζήμιες επιπτώσεις των POPs. Η σύμβαση απαιτεί από τα συμβαλλόμενα μέλη να περιορίσουν και εν τέλει να εξαλείψουν, την εκούσια ή ακούσια παραγωγή, χρήση, εμπορική συναλλαγή και απελευθέρωση ορισμένων POPs, μεταξύ των οποίων ορισμένα φυτοφάρμακα, βιομηχανικά χημικά και παραπροϊόντα βιομηχανικών διεργασιών ή καύσεων κ.α. Τέθηκε σε ισχύ το Μάιο του 2004 και έχει υπογραφεί από 152 χώρες μεταξύ των οποίων και η Ελλάδα. Αρχικά, η λίστα της Συνθήκης περιλάμβανε δώδεκα POPs, γνωστά και ως «η βρώμικη δωδεκάδα», ενώ νέες ενώσεις προστέθηκαν στη λίστα το 2010⁸.

Αν και η διεθνής Συνθήκη της Στοκχόλμης για την προστασία της υγείας από τα POPs, δεν αναφέρει τους ΠΑΥ σαν ενώσεις επικίνδυνες για την ανθρώπινη υγεία, διεθνείς και ευρωπαϊκοί φορείς τους συγκαταλέγουν στους POPs. Μεταξύ αυτών:

Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (WHO), σε συνεργασία με άλλα προγράμματα των Ηνωμένων Εθνών (UN), μέσω:

- του Διεθνούς Προγράμματος για τη Χημική Ασφάλεια (IPCS)
- της Μικτής Επιτροπής Εμπειρογνομόνων FAO/WHO για τα Πρόσθετα των Τροφίμων (JECFA)
- της Διεθνούς Υπηρεσίας για την Έρευνα του Καρκίνου (IARC)

Η Ευρωπαϊκή Επιτροπή (Ε.Ε.), μέσω

- της Ευρωπαϊκής Αρχής για την Ασφάλεια των Τροφίμων (EFSA)
- της Επιστημονικής Επιτροπής για τα Τρόφιμα (SCF)

Η Υπηρεσία Προστασίας του Περιβάλλοντος (EPA) των ΗΠΑ

Η Υπηρεσία για τις Τοξικές Ουσίες του Υπουργείου Υγείας (ATSDR) των ΗΠΑ.

Η εκτεταμένη ρύπανση του περιβάλλοντος και των ζωντανών οργανισμών σε ΠΑΥ επιβαρύνει τα τρόφιμα και έχει ως αποτέλεσμα την παρατεταμένη έκθεση πολλών ειδών, συμπεριλαμβανομένου του ανθρώπου, στον οργανισμό του οποίου αποθηκεύονται στον λιπώδη ιστό, οδηγώντας σε μεταλλαξιγόνες, τοξικές και καρκινογόνες επιδράσεις⁹.

1.1.1 Μοριακές Δομές και φυσικοχημικές Ιδιότητες




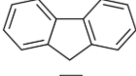

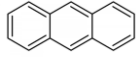
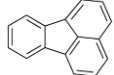

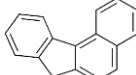
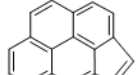
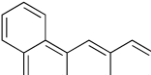
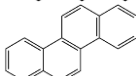
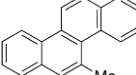
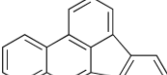
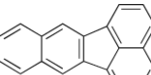
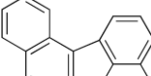
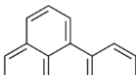
Για την ονοματολογία και την περιγραφή των μοριακών δομών των ΠΑΥ χρησιμοποιείται ένα σύνολο κανόνων του συστήματος που έχει υιοθετήσει η Διεθνής Ένωση Καθαρής και Εφαρμοσμένης Χημείας (International Union of Pure and Applied Chemistry - IUPAC)¹⁰, εκτός από το ναφθαλένιο, φαινανθρένιο και ανθρακένιο που διαθέτουν δικό τους ξεχωριστό σύστημα. Ωστόσο, αρκετοί ΠΑΥ είναι γνωστοί με την εμπειρική τους ονομασία, η οποία δηλώνει είτε την προέλευση τους (π.χ. πυρένιο), είτε το χρώμα τους (π.χ. χρυσένιο), ή το σχήμα τους (π.χ. κορωνένιο)¹¹. Οι συνηθέστεροι ΠΑΥ που απασχολούν τους επιστήμονες και έχουν μελετηθεί εκτενώς αποτελούνται από τετραμελείς, πενταμελείς και εξαμελείς βενζοϊκούς δακτυλίους, όπως π.χ. το βενζο[α]πυρένιο με πέντε αρωματικούς δακτυλίους, το οποίο είναι ο πλέον επικίνδυνος και καρκινογόνος ΠΑΥ. Η παρουσία ενός πενταμελούς δακτυλίου μεταξύ των εξαμελών είναι συνηθισμένη, ενώ σπανιότερα συναντάμε στα μόριά τους και τετραμελείς δακτυλίους, αν και δεν επιδεικνύουν την ίδια

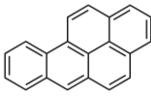
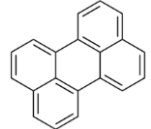
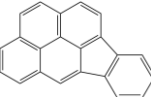
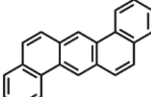
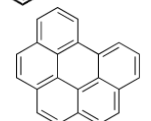
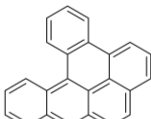
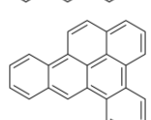
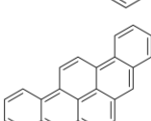
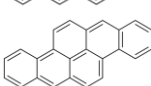
σταθερότητα σαν μόρια σε σύγκριση με εκείνα που αποτελούνται αποκλειστικά από εξαμελείς δακτυλίους.

Στον Πίνακα 1 δίνονται οι ονομασίες στην ελληνική και αγγλική γλώσσα, οι συντομογραφίες, τα μοριακά βάρη, οι μοριακοί και οι συντακτικοί τύποι των γνωστότερων και πλέον βλαβερών ΠΑΥ για την υγεία, καθώς και η κατηγοριοποίηση τους από την IARC σύμφωνα με την καρκινογόνο δράση που επιδεικνύουν¹². Δεκαέξι από αυτούς, χαρακτηρίζονται ως ρύποι άμεσης προτεραιότητας από την EFSA και τις υπόλοιπες ευρωπαϊκές αρχές, δεδομένου ότι 15 αυτούς παρουσιάζουν μεταλλαξιγόνο, τοξική και καρκινογόνο δράση και ένας ακόμη, το βενζο[g,h,i]περυλένιο μεταλλαξιγόνο και τοξική. Οι οκτώ από αυτούς είναι κοινοί με τους ΠΑΥ προτεραιότητας της αμερικανικής EPA, η οποία επικεντρώνεται στους ΠΑΥ με τη συχνότερη παρουσία και τις υψηλότερες συγκεντρώσεις στα διάφορα υποστρώματα και όχι στην τοξική δράση που επιδεικνύουν.

Στη συνέχεια της Διδακτορικής Διατριβής, θα χρησιμοποιούνται είτε η ελληνική ονομασία των ΠΑΥ ή η αγγλική συντομογραφία τους.

Πίνακας 1: Μοριακές Δομές ΠΑΥ

Όνομασία	Συντ.	Μοριακό Βάρος (g/mol)	Μοριακός Τύπος	Συντακτικός Τύπος	EFSA-EU	EPA-US	IARC ¹
Ναφθαλένιο/ Naphthalene	Na	128.063	C ₁₀ H ₈			×	2B
Ακεναφθυλένιο/ Acenaphthylene	AcI	152.063	C ₁₂ H ₈			×	M.A.
Ακεναφθένιο/ Acenaphthene	Ac	154.212	C ₁₂ H ₁₀			×	3
Φλουορένιο/ Fluorene	Fl	166.223	C ₁₃ H ₁₀			×	3
Φαινανθρένιο/ Phenanthrene	Phe	178.234	C ₁₄ H ₁₀			×	3
Ανθρακένιο/ Anthracene	An	178.234	C ₁₄ H ₁₀			×	3
Φλουορανθένιο/ Fluoranthene	Fa	202.256	C ₁₆ H ₁₀			×	3
Πυρένιο/ Pyrene	Py	202.256	C ₁₆ H ₁₀			×	3
Βενζο[<i>c</i>]φλουορένιο/ Benzo[<i>c</i>]fluorene	BcFl	216.283	C ₁₇ H ₁₀		×		3
Κύκλοπέντα[<i>cd</i>]πυρένιο/ Cyclopenta[<i>cd</i>] pyrene	Cpp	226.278	C ₁₈ H ₁₀		×		3
Βένζο[<i>a</i>]ανθρακένιο/ Benz[<i>a</i>]anthracene	BaA	228.294	C ₁₈ H ₁₀		×	×	2B
Χρυσένιο/ Chrysene	Chr	28 2	C ₁₈ H ₁₀		×	×	2B
5- μεθυλχρυσένιο/ 5- methylchrysene	5MeChr	242.314	C ₁₉ H ₁₄		×		2B
Βενζο[<i>b</i>]φλουορανθένιο/ Benzo[<i>b</i>] fluoranthene	BbFa	252.316	C ₂₀ H ₁₂		×	×	2B
Βενζο[<i>k</i>]φλουορανθένιο/ Benzo[<i>k</i>] fluoranthene	BkFa	252.316	C ₂₀ H ₁₂		×	×	2B
Βενζο[<i>j</i>]φλουορανθένιο/ Benzo[<i>j</i>] fluoranthene	BjFa	252.316	C ₂₀ H ₁₂		×		2B
Βενζο[<i>e</i>]πυρένιο/ Benzo[<i>e</i>]pyrene	BeP	252.316	C ₂₀ H ₁₂				M.A.

Βενζο[α]πυρένιο/ Benzo[a]pyrene	BaP	252.316	C ₂₀ H ₁₂		×	×	1
Περυλένιο/ Perylene	Per	252.316	C ₂₀ H ₁₂				M.A.
Ίνδενο[1,2,3-cd]πυρένιο/ Indeno[1,2,3-cd]pyrene	IP	276.338	C ₂₂ H ₁₂		×	×	2B
Διβενζ[α,η]ανθρακένιο/ Dibenz[a,h]anthracene	DBahA	278.354	C ₂₂ H ₁₄		×	×	2A
Βενζο[γ,η,ι]περυλένιο/ Benzo[g,h,i]perylene	BghiP	276.338	C ₂₂ H ₁₂		×	×	3
Διβενζο[α,ι]πυρένιο/ Dibenzo[a,i]pyrene	DBaIP	302.368	C ₂₄ H ₁₄		×		2A
Διβενζο[α,ε]πυρένιο/ Dibenzo[a,e]pyrene	DBaeP	302.368	C ₂₄ H ₁₄		×		3
Διβενζο[α,ι]πυρένιο/ Dibenzo[a,i]pyrene	DBaiP	302.368	C ₂₄ H ₁₄		×		2B
Διβενζο[α,η]πυρένιο/ Dibenzo[a,h]pyrene	DBahP	302.368	C ₂₄ H ₁₄		×		2B

¹ Κατάταξη των ΠΑΥ κατά IARC στις εξής ομάδες: Ομάδα 1= καρκινογόνα για τον άνθρωπο, Ομάδα 2A= πιθανώς καρκινογόνα, Ομάδα 2B= εν δυνάμει καρκινογόνα, Ομάδα 3= μη καρκινογόνα, M.A.= μη αξιολογηθέντα

Οι ΠΑΥ σε θερμοκρασία περιβάλλοντος βρίσκονται σε στερεή, κρυσταλλική μορφή, κίτρινου χρώματος ή άχρωμοι. Είναι λιγότερο πτητικοί από τους άκυκλους υδρογονάνθρακες και τα σημεία ζέσεώς τους είναι πολύ υψηλότερα από των κανονικών αλκανίων με τον ίδιο αριθμό ατόμων άνθρακα. Είναι μη πολικές ενώσεις, λιπόφιλες, παρουσιάζουν μικρή διαλυτότητα στο νερό και μεγαλύτερη στους οργανικούς διαλύτες¹³.

Αν και αρωματικές ενώσεις, ο βαθμός αρωματικότητας δεν είναι ο ίδιος για όλους τους δακτυλίους από τους οποίους αποτελείται ένας ΠΑΥ. Σύμφωνα με τον κανόνα του Clar, ο οποίος είναι γνωστός και ως κανόνας της αρωματικής εξάδας, οι επικρατέστερες καταστάσεις συντονισμού είναι εκείνες με τις πλέον

απομακρυσμένες αρωματικές π-εξάδες. Ως αρωματικές π-εξάδες ορίζονται έξι π-ηλεκτρόνια εντοπισμένα αποκλειστικά σε ένα βενζοϊκό δακτύλιο, ο οποίος διαχωρίζεται από άλλους γειτονικούς δακτυλίους με σ-δεσμό (με έναν απλό δεσμό C-C). Ωστόσο, στους ΠΑΥ δεν υπάρχει δακτύλιος με πλήρη αρωματικότητα (τύπου βενζολίου), όπως και δακτύλιοι πλήρως απαλλαγμένοι από αρωματικότητα¹⁴. Χημικά ταξινομούνται στις σχετικά αδρανείς ενώσεις, λόγω της στερεοχημείας τους και της έλλειψης πολικών υποκαταστατών στα μόριά τους και σε αντίθεση με τις άκυκλες ακόρεστες ενώσεις, δίνουν προϊόντα ηλεκτρονιόφιλης υποκατάστασης και όχι προσθήκης¹⁵.

Στον Πίνακα 2 δίνονται ορισμένες φυσικοχημικές ιδιότητες των ΠΑΥ¹⁶.

Πίνακας 2: Φυσικοχημικές ιδιότητες ΠΑΥ

ΠΑΥ	Σημείο Βρασμού (°C)	Σημείο Τήξης (°C)	Τάση ατμών (mm Hg στους 25°C)	Συντελεστής κατανομής η-οκτανόλης-νερού (log K _{ow})	Διαλυτότητα στο νερό στους 25 °C ^d (mg/L)
Na	217.9	80.2	0.085	3.30	31
AcI	280	89.4	0.0048	3.93	3.93
Ac	277.5	93	0.0022	3.92	3.90
Fl	294	114.76	6.0 x 10 ⁻⁴	4.18	1.69
Phe	338.4	99	1.21 x 10 ⁻⁴	4.46	1.10
An	341.3	216	6.56 x 10 ⁻⁶	4.45	0.0434
Fa	384	110.2	9.22 x 10 ⁻⁶	5.16	0.20- 0.26
Py	394	150.62	4.56 x 10 ⁻⁶	4.88	0.135
BcFl	-	-	-	-	-
Cpp	-	-	-	-	-
BaA	437.6	155- 157	2.1 x 10 ⁻⁷	5.76	0.0094
Chr	448	255	6.23 x 10 ⁻⁹	5.73	0.002
5MeChr	-	117.5	5.45 x 10 ⁻⁷	6.07	0.062
BbFa	-	168.4	5 x 10 ⁻⁷	5.78	0.0015
BkFa	480	217	9.65 x 10 ⁻¹⁰	6.11	0.0008
BjFa	-	165.4	2.7 x 10 ⁻⁸	6.11	-
BeP	492	178- 179	5.7 x 10 ⁻⁹	6.44	0.0063
BaP	496	179	5.49 x 10 ⁻⁹	6.13	0.0016
Per	350- 400	273- 274	5 x 10 ⁻¹⁰	6.30	0.0004
IP	536	164	1.25 x 10 ⁻¹⁰	6.70	0.0007
DBahA	524	269	9.55 x 10 ⁻¹⁰	6.50	0.0025
BghiP	550	278.3	1 x 10 ⁻¹⁰	6.63	0.0003
DBaI	630.6	164.5	4.18 x 10 ⁻¹⁰	7.71	0.0036
DBaeP	-	244.4	5.2 x 10 ⁻¹¹	7.28	0.0002
DBaI	-	283.6	1.8 x 10 ⁻¹¹	7.28	7.4 x 10 ⁻⁵
DBahP	-	318	6.4 x 10 ⁻¹²	7.28	3.5 x 10 ⁻⁵

1.1.2 Προέλευση, πηγές εκπομπής και κατανομή στο περιβάλλον

Η αφθονία της παρουσίας τους και η ευρεία κατανομή των ΠΑΥ στο περιβάλλον οφείλεται στο σχηματισμό τους κατά την πραγματοποίηση σχεδόν όλων των ατελών οργανικών καύσεων. Ανάλογα με τη διεργασία κατά την οποία παράγονται μπορούν να διαχωριστούν σε τρεις κατηγορίες:

α) Σε εκείνους που σχηματίζονται κατά την *πυρόλυση* μιας οργανικής ένωσης όταν αυτή εκτίθεται σε υψηλές θερμοκρασίες (350-1200°C) χωρίς την παρουσία ή με μικρή παρουσία οξυγόνου. Η επεξεργασία του λιθάνθρακα, η κλασματική απόσταξη για την παραγωγή πίσσας ή η θερμική κατεργασία του πετρελαίου για την παραγωγή υδρογονανθράκων μικρότερου μοριακού βάρους είναι μερικά παραδείγματα πυρολυτικών διεργασιών που πραγματοποιούνται σκόπιμα και έχουν ως αποτέλεσμα την παραγωγή μορίων ΠΑΥ. Μη σκόπιμες πυρολυτικές διεργασίες, όπως η ατελής καύση των καυσίμων των αυτοκινήτων, των μηχανών, των δημόσιων μέσων μεταφοράς κτλ., η καύση των δασών και η καύση ξύλου ή άλλων υλικών για παραγωγή θέρμανσης σε εσωτερικούς χώρους μπορούν και αυτές να οδηγήσουν στον σχηματισμό ΠΑΥ¹⁷.

β) Σε εκείνους που σχηματίζονται κατά την ωρίμανση του αργού πετρελαίου, ή άλλων παρόμοιων *πετροχημικών* διεργασιών, και διασπείρονται στο περιβάλλον λόγω της εκτεταμένης χρήσης του πετρελαίου και των παραγώγων του. Σημαντικό ποσοστό τέτοιων ΠΑΥ προέρχεται από πετρελαιοκηλίδες, διαρροές δεξαμενόπλοιων και από άλλα ατυχήματα που σχετίζονται με τη μεταφορά καυσίμων³.

γ) Στους ΠΑΥ *βιολογικής* προέλευσης, οι οποίοι σχηματίζονται από διάφορα φυτά ή μικροοργανισμούς με κυριότερους τα βακτήρια, κατά την αποικοδόμηση της φυτικής ύλης¹⁸.

Οι πηγές εκπομπής τους είναι δύο, φυσικές και ανθρωπογενείς. Φυσικές πηγές εκπομπής τους είναι οι πυρκαγιές των δασών, η ηφαιστειακή δραστηριότητα, η βακτηριακή σύνθεση, διαρροές πετρελαίου, η διάβρωση ιζηματογενών πετρωμάτων και η αποσύνθεση της φυτικής ύλης^{19, 20}. Όσον αφορά στις ανθρωπογενείς πηγές εκπομπής αυτές μπορούν να διακριθούν σε

βιομηχανικές εκπομπές, οι οποίες περιλαμβάνουν τις διεργασίες εξόρυξης και επεξεργασίας του πετρελαίου και των κλασματικών προϊόντων του, τη βιομηχανία παραγωγής και τη χρήση πίσσας και ασφάλτου, τις βιομηχανίες ελαστικών, άνθρακα, αλουμινίου και χύτευσης μετάλλων²¹, σε *εκπομπές καύσης* στις οποίες συμπεριλαμβάνονται τόσο η καύση των στερεών απορριμμάτων (φυσική, τυχαία ή ελεγχόμενη), οι διεργασίες αποτέφρωσης όσο και οι εκπομπές αγροτικής καύσης κλαδιών κτλ.²², σε *κινητές εκπομπές* από τα μέσα μεταφοράς τα οποία χρησιμοποιούν ως καύσιμα πετρέλαιο ή παράγωγά του²³, σε *οικιακές εκπομπές* κατά το μαγείρεμα και τη καύση ξυλείας για θέρμανση και σε *μικρότερης κλίμακας εκπομπές* όπως το κάπνισμα. Στον καπνό του τσιγάρου έχουν βρεθεί περίπου χίλιοι ΠΑΥ μαζί με αζωτούχα και ετεροκυκλικά παράγωγά τους.

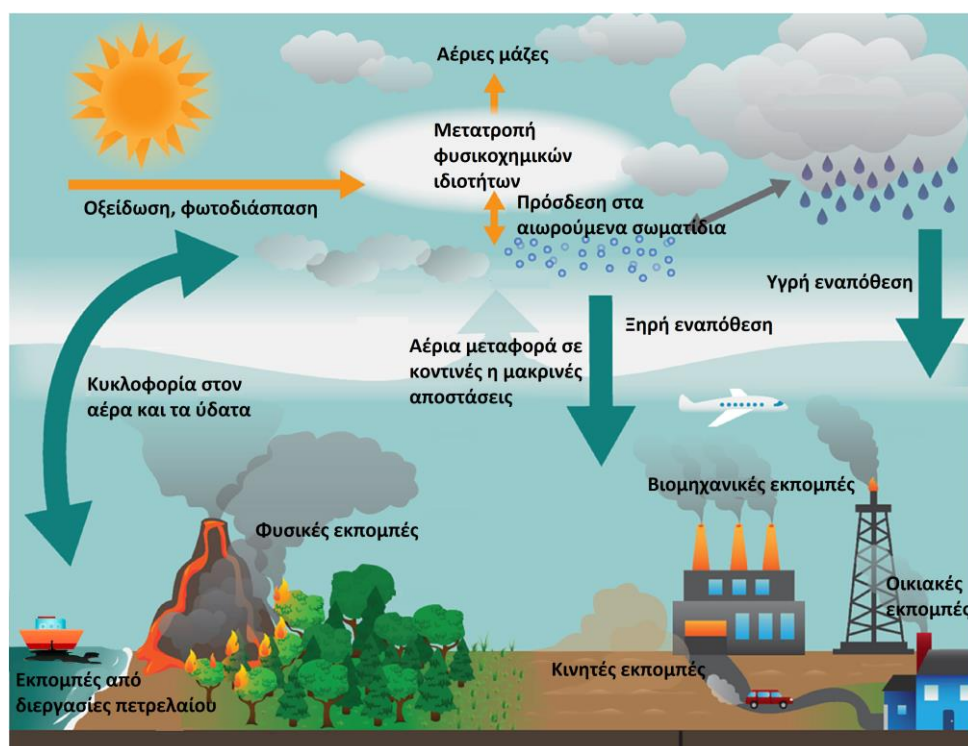
Η ατελής καύση, είτε ανθρωπογενούς ή φυσικής προέλευσης, θεωρείται ως ο κυριότερος παράγοντας εκπομπής ΠΑΥ στο περιβάλλον¹⁹, ενώ εκτιμάται πως οι ποσότητες των ΠΑΥ, που εκπέμπονται στην ατμόσφαιρα από φυσικές πηγές, είναι μικρότερες από αυτές που εκπέμπονται από ανθρωπογενείς πηγές²⁴.

Ο αριθμός των δακτυλίων που διαθέτουν οι ΠΑΥ που εκλύονται φανερώνει και την πιθανή πηγή προέλευσή τους. Το κλάσμα των ΠΑΥ μικρού μοριακού βάρους (Low Molecular Weight-LMW) αποτελείται από ενώσεις με δύο ή και τρεις αρωματικούς δακτυλίους, ενώ οι ΠΑΥ μεγάλου μοριακού βάρους (High Molecular Weight-HMW) περιέχουν στο μόριό τους τέσσερις, πέντε ή και έξι δακτυλίους. Στους ΠΑΥ μικρού μοριακού βάρους συγκαταλέγονται οι ενώσεις ναφθαλένιο, ακεναφθυλένιο, ακεναφθένιο, φλουορένιο, φαινανθρένιο και ανθρακένιο, ενώ στους ΠΑΥ μεγάλου μοριακού βάρους τα φλουορανθένιο, πυρένιο, βενζο[c]φλουορένιο, κυκλοπέντα[cd]πυρένιο, βένζ[a]ανθρακένιο, χρυσένιο, 5- μεθυλχρυσένιο, βενζο[b]φλουορανθένιο, βενζο[k]φλουορανθένιο, βενζο[j]φλουορανθένιο, βενζο[e]πυρένιο, βενζο[a]πυρένιο, περυλένιο, ίνδενο[1,2,3-cd]πυρένιο, διβενζ[a,h]ανθρακένιο, βενζο[g,h,i]περυλένιο, διβενζο[a,l]πυρένιο, διβενζο[a,e]πυρένιο, διβενζο[a,i]πυρένιο και διβενζο[a,h]πυρένιο.

Για παράδειγμα, τα βενζινοκίνητα οχήματα εκλύουν ΠΑΥ με τέσσερις ή και πέντε δακτυλίους, ενώ τα οχήματα ντίζελ με τρεις και τέσσερις δακτυλίους^{21,25}, οι ΠΑΥ με πενταμελείς δακτυλίους στο μόριό τους μαρτυρούν προέλευση από *πετροχημικές* και όχι *πυρολυτικές* διαδικασίες²⁶

Η πηγή προέλευσης των ΠΑΥ μπορεί να διερευνηθεί και μέσω των λόγων των συγκεντρώσεων των επιμέρους ΠΑΥ σε διάφορα υποστρώματα. Για παράδειγμα, ο λόγος των συγκεντρώσεων φαινανθρένιο/ανθρακένιο < 10 και φλουορένιο/πυρένιο < 1 στα θαλάσσια ιζήματα, το επιφανειακό νερό της θάλασσας και τα δίθυρα μαλάκια υποδεικνύει προέλευση από *πυρολυτικές* διεργασίες²⁷.

Μετά την απελευθέρωσή τους από τις διάφορες πηγές εκπομπής, οι ΠΑΥ, όπως και οι υπόλοιποι POPs, διασπείρονται στο περιβάλλον μέσω του αέρα, μεταφέρονται σε μικρές ή μεγάλες αποστάσεις ή υπόκεινται σε ξηρή ή υγρή εναπόθεση, όπως φαίνεται στην Εικόνα 1²⁸.



Εικόνα 1: Απελευθέρωση και διασπορά των ΠΑΥ στο περιβάλλον

Οι ΠΑΥ στην ατμόσφαιρα κατανέμονται μεταξύ αέριας και σωματιδιακής φάσης. Γενικά, οι ΠΑΥ με δύο ή τρεις δακτυλίους βρίσκονται κυρίως στην

αέρια φάση, με τέσσερις δακτυλίους μπορεί να βρίσκονται τόσο στην αέρια όσο και στη σωματιδιακή φάση, ενώ οι ΠΑΥ με πέντε δακτυλίους και άνω συναντώνται κυρίως προσδεδεμένοι στα αιωρούμενα σωματίδια²⁹. Οι ΠΑΥ που κατανέμονται στην αέρια φάση υπόκεινται ευκολότερα, αν και σχετικά αργά, σε αποικοδόμηση, φωτο-διάσπαση και χημική διασπάση σε σύγκριση με εκείνους που είναι προσροφημένοι στα σωματίδια, ενώ και στις δύο περιπτώσεις είναι δυνατό να αντιδράσουν με άλλες χημικές ενώσεις παράγοντας προϊόντα που είναι εξίσου τοξικά, όπως νίτρο και όξο- παράγωγα¹³.

Η ξηρή εναπόθεση ατμών και σωματιδίων από την ατμόσφαιρα στο έδαφος και τα νερά και η υγρή εναπόθεση, μέσω κατακρήμνισης των σωματιδίων από τη βροχή, έχει ως αποτέλεσμα την επιβάρυνση του εδάφους, της βλάστησης και του υδροφόρου ορίζοντα με ΠΑΥ. Επιπρόσθετα, η παρουσία των ΠΑΥ στον τελευταίο μπορεί να οφείλεται σε διαρροές πετρελαίου, στα υγρά απόβλητα από διάφορες βιομηχανικές δραστηριότητες, στα αστικά λύματα, στην αποσύνθεση των οργανισμών και στην αποικοδόμηση της φυτικής ύλης, όπως αναφέρθηκε προηγουμένως^{30,31}.

Η εκτεταμένη διασπορά τους στο περιβάλλον έχει ως αποτέλεσμα την παρουσία τους στους ζωντανούς οργανισμούς. Ως λιπόφιλες ενώσεις έχουν την ιδιότητα να βιοσυσσωρεύονται στους λιπώδεις ιστούς των ζωντανών οργανισμών και κατά συνέπεια βρίσκονται σε ολοένα αυξανόμενη συγκέντρωση καθώς ανεβαίνουμε στην τροφική αλυσίδα, κορυφή της οποίας είναι ο άνθρωπος, φαινόμενο που ονομάζεται βιομεγέθυνση³².

1.1.3 Οδοί ανθρώπινης έκθεσης

Οι ΠΑΥ εισέρχονται στον ανθρώπινο οργανισμό μέσω της κατάποσης, της εισπνοής και της δερματικής επαφής. Σε ορισμένες περιπτώσεις ενδέχεται η έκθεση να περιλαμβάνει περισσότερες από μία οδούς ταυτόχρονα, επηρεάζοντας τη συνολική απορροφούμενη δόση. Επιπλέον, τα έμβρυα εκτίθενται προγεννητικά ήδη από τη σύλληψη μέσω του πλακούντα και του αίματος του ομφαλίου λώρου, ενώ το μητρικό γάλα αποτελεί τον βασικότερο

παράγοντα έκθεσης για τα θηλάζοντα βρέφη, όχι μόνο για τους ΠΑΥ, αλλά για όλα τα POPs.

Υπάρχουν σημαντικές διαφοροποιήσεις στις συγκεντρώσεις των ΠΑΥ στον αέρα, οι οποίες εξαρτώνται από τις εκάστοτε πηγές εκπομπών. Οι περιοχές με αυξημένη βιομηχανική δραστηριότητα και τα μεγάλα αστικά κέντρα, στα οποία γίνεται εκτεταμένη χρήση μέσων μεταφοράς, παρουσιάζουν υψηλότερες συγκεντρώσεις ΠΑΥ στον ατμοσφαιρικό αέρα σε σύγκριση με τις αγροτικές περιοχές, στις οποίες οι εστίες ρύπανσης είναι περιορισμένες³³. Η έκθεση μέσω εισπνοής ατμοσφαιρικού αέρα έχει υπολογισθεί στα 0,16 μg ανά ημέρα, με εύρος τα 0,02-3 μg³⁴. Από την άλλη, ο αέρας εσωτερικών χώρων, ο οποίος επιβαρύνεται με ΠΑΥ κατά το μαγείρεμα ή τη λειτουργία θερμαντικών πηγών καύσης, αποτελεί και αυτός με τη σειρά του πιθανή οδό έκθεσης, παρουσιάζοντας ωστόσο μικρότερες συγκεντρώσεις, απουσία καπνού τσιγάρου, συγκριτικά με τον ατμοσφαιρικό.

Η επαγγελματική έκθεση σε ΠΑΥ αφορά ως επί το πλείστον εργαζόμενους σε βιομηχανίες επεξεργασίας πετρελαίου, παραγωγής πίσσας και ασφάλτου, βιομηχανίες ελαστικών, άνθρακα, αλουμινίου και χύτευσης μετάλλων κ.α. που υπόκεινται καθημερινά σε έκθεση τόσο με την εισπνοή, όσο και μέσω δερματικής επαφής³⁵.

Ο καπνός του τσιγάρου θεωρείται ως μια από τις σημαντικότερες οδούς έκθεσης για τους καπνιστές και τους παθητικούς καπνιστές. Η πρόσληψη του βενζο[a]πυρενίου με το κάπνισμα ενός τσιγάρου είναι πιθανό να φθάσει έως και τα 20-40 ng, ενώ το κάπνισμα ενός πακέτου τσιγάρων τη μέρα μπορεί να αποφέρει πρόσληψη βενζο[a]πυρενίου της τάξεως των 0,4 μg την ημέρα^{35,36} και έως και 5 μg την ημέρα για το σύνολο των καρκινογόνων ΠΑΥ.

Το πόσιμο νερό και η χρήση δερμοκαλλυντικών προϊόντων, δε φαίνεται να αποτελούν αξιοσημείωτες πηγές έκθεσης.

Κύρια πηγή έκθεσης του γενικού πληθυσμού σε ΠΑΥ αποτελεί η διατροφή. Υπολογίζεται πως το 70% και άνω της έκθεσης για έναν μη καπνιστή προέρχεται από τη πρόσληψη τροφής³⁷. Η παρουσία των ΠΑΥ στα τρόφιμα εξαρτάται από:

- Το είδος του τροφίμου
- Τον τρόπο αποθήκευσης, συντήρησης και μαγειρέματος του τροφίμου
- Την περιοχή προέλευσης του τροφίμου

Πηγές υψηλής έκθεσης αποτελούν τα λιπαρά τρόφιμα, τα καπνιστά τρόφιμα, τα τρόφιμα που έχουν μαγειρευτεί στα κάρβουνα και τα τρόφιμα που προέρχονται από περιβαλλοντικά επιβαρυμένες περιοχές^{38,39,40}. Η βιοδιαθεσιμότητα των ΠΑΥ που προσλαμβάνονται μέσω της διατροφής κυμαίνεται μεταξύ 30 - 90% και αυξάνεται με την αύξηση του λιποφιλικού χαρακτήρα των ΠΑΥ.

1.1.4 Απορρόφηση, κατανομή και απέκκριση

Η απορρόφηση των ΠΑΥ εξαρτάται από την οδό έκθεσης σε αυτούς. Οι ΠΑΥ που εισέρχονται μέσω της εισπνοής απορροφώνται από τον ανθρώπινο οργανισμό και επικάθονται στους πνεύμονες. Η κατανομή τους μεταξύ της αέριας και σωματιδιακής φάσης καθορίζει σε σημαντικό βαθμό τις επιπτώσεις των ΠΑΥ στην υγεία, μιας και οι εκείνοι που προσδένονται στα σωματίδια PM^{2.5} τα οποία εισέρχονται ευκολότερα στους πνεύμονες κατά την εισπνοή, είναι πιθανό να εκδηλώσουν την επιβλαβή δράση τους ταχύτερα και για μεγάλη χρονική περίοδο. Η έκταση της απορρόφησης μέσω εισπνοής στα ζώα δεν είναι απολύτως γνωστή, αν και φαίνεται πως πραγματοποιείται σε μικρότερο βαθμό, με το μέγεθος των αιωρούμενων σωματιδίων να παίζει και εδώ τον ίδιο ρόλο^{1,41}.

Η δερματική απορρόφηση των ΠΑΥ πραγματοποιείται ταχέως, αν και σε μικρό ποσοστό τόσο στους ανθρώπους όσο και στα ζώα, και αφορά κυρίως στους ΠΑΥ με μικρά μοριακά βάρη και έως τέσσερις δακτυλίους στο μόριό τους. Σε μελέτη που έχει πραγματοποιηθεί σε εργάτες εργοστασίου εξόρυξης λιγνίτη, ανιχνεύτηκε στο αίμα τους ποσότητα φαινανθρενίου, ανθρακενίου, πυρενίου και φλουορανθενίου επί δύο συνεχόμενες ημέρες σε χρονική περίοδο 8 ωρών⁴².

Η απορρόφηση μέσω της κατάποσης αυξάνεται με την αύξηση του λιπόφιλου χαρακτήρα των ΠΑΥ, ή με την παρουσία ελαίων και λιπών στη γαστρεντερική

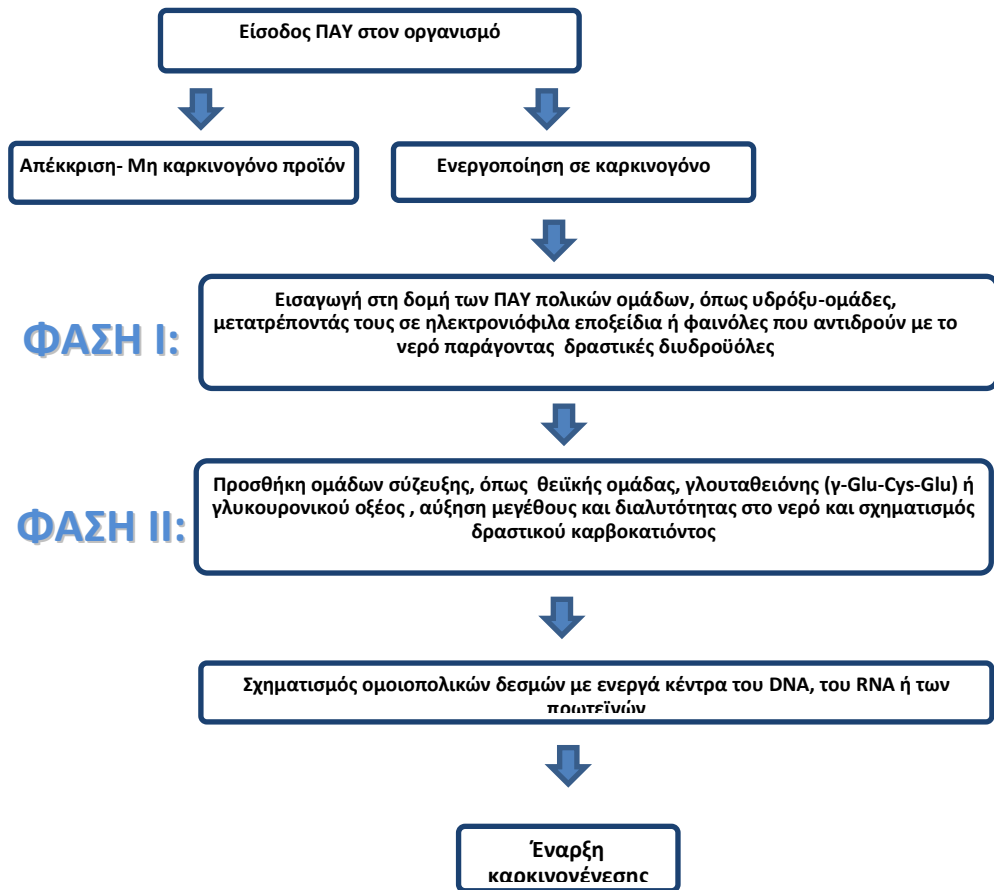
οδό. Μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί σε ποντίκια έδειξαν υψηλή απορρόφηση χρυσενίου, βενζο[α]πυρενίου, διβενζ[α,η]ανθρακενίου και πυρενίου μετά από δόσεις που χορηγήθηκαν ενδογαστρικά. Τα υψηλότερα επίπεδα του βενζο[α]πυρενίου βρέθηκαν στη θωρακική λέμφο περίπου 3-4 ώρες μετά τη χορήγηση. Θεωρήθηκε ότι το βενζο[α]πυρένιο, μετά την κατάποσή του απορροφάται από το βλεννογόνο υμένα και στη συνέχεια διαχέεται μέσω του εσωτερικού εντερικού επιθηλίου, ενώ η εντερική του απορρόφηση αυξάνεται με την παρουσία της χολής^{43,44}.

Η κατανομή τους στον οργανισμό εξαρτάται από την οδό χορήγησής τους και την παρουσία ή απουσία επαγωγών ή αναστολέων του μεταβολισμού των υδρογονανθράκων μέσα στον οργανισμό. Οι έρευνες έχουν δείξει ότι μετά την απορρόφησή τους κατανέμονται ταχέως σχεδόν σε όλους τους ιστούς και τα όργανα. Όπως και άλλοι οργανικοί λιπόφιλοι ρύποι μεταφέρονται μέσω της εξωτερικής και της εσωτερικής μεμβράνης των λιποπρωτεϊνών των κυττάρων των θηλαστικών και η βιολογική τους δράση επεκτείνεται σε κύτταρα και ιστούς που απέχουν από το σημείο πρόσληψής τους στον οργανισμό. Τα όργανα που είναι πλούσια σε λιπώδη ιστό λειτουργούν ως αποθήκες από τις οποίες οι ουσίες απελευθερώνονται με αργό ρυθμό ενεργοποιώντας σταδιακά τον μηχανισμό τοξικής τους δράσης. Ο γαστρεντερικός σωλήνας περιέχει υψηλά επίπεδα ΠΑΥ και μεταβολιτών τους, ακόμα και όταν αυτοί χορηγούνται από άλλες οδούς, ως αποτέλεσμα της κάθαρσης μέσω του βλεννογόνου ή της ηπατοχολικής απέκκρισης^{45,46}.

Όσον αφορά στην απέκκρισή τους, οι μεταβολίτες των ΠΑΥ απεκκρίνονται στα ούρα, τη χολή και τα κόπρανα. Οι μεταβολίτες των ΠΑΥ που βρίσκονται στη χολή είναι συζευγμένοι με γλυκουρονικό οξύ, το οποίο υδρολύεται από τη γαστρεντερική μικροχλωρίδα με αποτέλεσμα να απενεργοποιούνται και να αναστέλλεται η τοξική τους δράση. Σύμφωνα με μελέτες σε πειραματόζωα, οι μεταβολίτες των ΠΑΥ με δύο ή τρεις δακτυλίους εκκρίνονται κυρίως στα ούρα, ενώ οι μεταβολίτες υψηλού μοριακού βάρους εκκρίνονται στα κόπρανα⁴⁶.

1.1.5 Μηχανισμός τοξικής δράσης

Ο μηχανισμός με τον οποίο οι ΠΑΥ ασκούν την τοξική τους δράση περιλαμβάνει τη μεταβολική τους ενεργοποίηση σε ενεργά ενδιάμεσα προϊόντα σε δύο φάσεις, ώστε να προκύψουν πολικά, βιοχημικά δραστικά, ηλεκτρονιόφιλα είδη ικανά να αλληλεπιδράσουν με κυτταρικά μακρομόρια όπως νουκλεϊνικά οξέα και πρωτεΐνες¹, όπως φαίνεται στο Σχήμα 1.



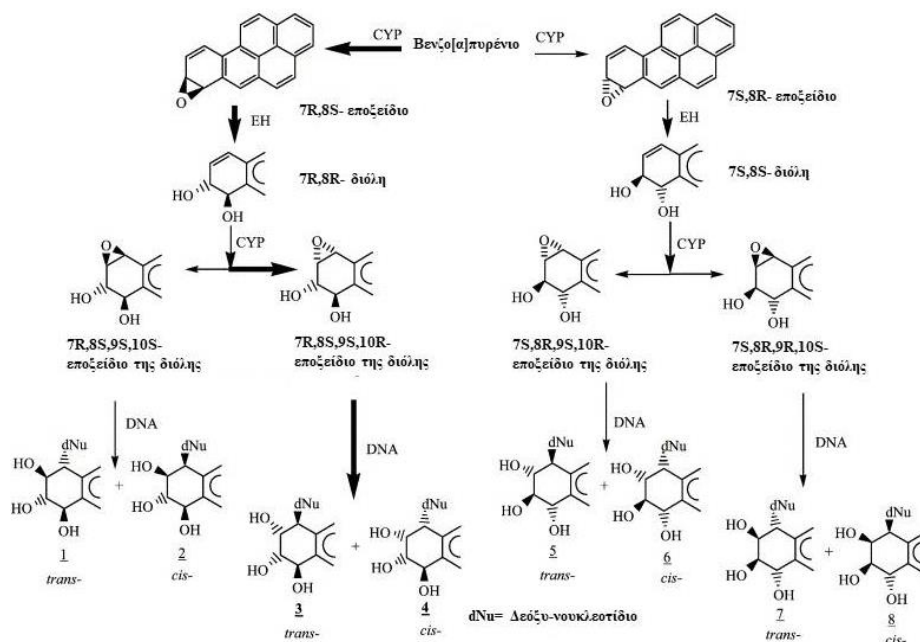
Σχήμα 1: Πορεία μεταβολισμού ΠΑΥ στον οργανισμό

Μελέτες *in vitro* που πραγματοποιήθηκαν έδειξαν πως το ήπαρ είναι το κύριο όργανο μεταβολισμού των ΠΑΥ. Ωστόσο, άλλα όργανα ενδέχεται να παίζουν σημαντικότερο ρόλο ανάλογα με την περιοχή εισόδου των ΠΑΥ στον οργανισμό. Στην περίπτωση πρόσληψης τους από το στόμα, η μικροχλωρίδα του εντέρου και τα ένζυμα του πεπτικού συστήματος της ομάδας του κυτοχρώματος P450 μπορούν να συμβάλλουν στο μεταβολισμό τους⁴⁷.

Σχετικά με τη μεταβολική ενεργοποίηση των ΠΑΥ και την έναρξη της καρκινογόνου δράσης τους, έχουν προταθεί τρεις κύριες πορείες και μία τέταρτη δευτερεύουσα:

α) Μηχανισμός σχηματισμού εποξειδικής διυδροδιόλης περιοχής του κόλπου (Bay region dihydrodiol epoxides pathway)

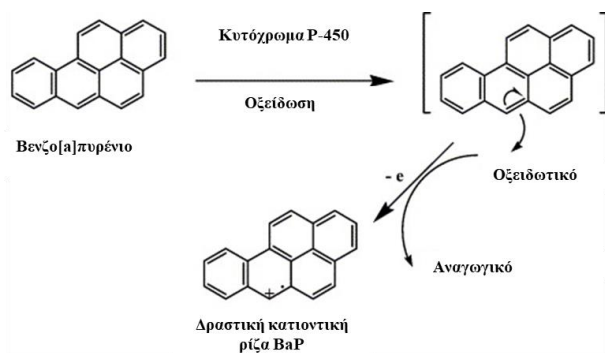
Ο μηχανισμός αυτός περιλαμβάνει τρεις αντιδράσεις που καταλύονται από ένζυμα. Αρχικά, λαμβάνει χώρα οξειδωση ενός διπλού δεσμού που καταλύεται από τα ένζυμα P450 (CYPs) σε ασταθή οξειδία αρενίων. Στη συνέχεια, τα οξειδία υδρολύονται από υδρολάσες εποξειδίων (EH) σε *trans* διυδροδιόλες και τέλος, γίνεται μια δεύτερη οξειδωση στον διπλό δεσμό πλησίον της διυδροδιόλης, παρουσία και πάλι του καταλύτη ενζύμου P450 (CYPs), προς εποξείδιο της διόλης. Ο μηχανισμός αυτός οδηγεί στο σχηματισμό ηλεκτρονιόφιλων εποξειδίων περιοχής του κόλπου, που αν τους το επιτρέπει η στερεοϊσομερείά τους, προσδένονται στο DNA δίνοντας μεταλλάξεις και τελικά καρκίνο. Στο Σχήμα 2 που ακολουθεί διακρίνεται η μεταβολική ενεργοποίηση του βενζο[α]πυρενίου προς ισομερείς εποξειδικές διυδροδιόλες που προσδένονται στο DNA^{1,48,49}.



Σχήμα 2: Μεταβολική ενεργοποίηση του βενζο[α]πυρενίου προς ισομερείς εποξειδικές διυδροδιόλες

β) Μηχανισμός σχηματισμού κατιοντικής ρίζας (Radical cation pathway)

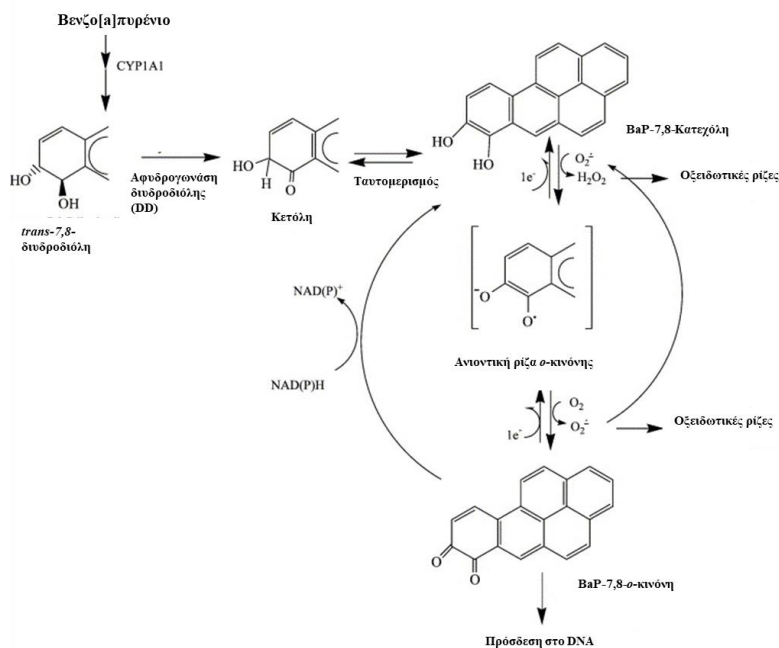
Ο σχηματισμός της κατιοντικής ρίζας πραγματοποιείται με αποβολή ενός π ηλεκτρονίου από το μόριο, μέσω οξειδωσης παρουσία του ενζύμου P450, όπως φαίνεται στο Σχήμα 3. Οι δραστικές κατιοντικές ρίζες που παράγονται είναι ηλεκτρονιόφιλες και προσβάλλουν το DNA οδηγώντας σε αποπουρίνωση⁵⁰.



Σχήμα 3: Μεταβολική ενεργοποίηση του βενζο[α]πυρενίου προς κατιοντική ρίζα

γ) Μηχανισμός σχηματισμού ΠΑΥ-ο-κινόνης (Activation through PAH-o-quinone)

Ο σχηματισμός της *ortho*-κινόνης πραγματοποιείται με την αφυδρογόνωση των μεταβολιτών της διυδροδιόλης παρουσία του ενζύμου αφυδρογονάση της διυδροδιόλης (dihydrodiol dehydrogenase, DD) προς μία κετόλη, η οποία ταυτομερίζεται και σχηματίζει μία κατεχόλη, που στη συνέχεια οξειδώνεται σε ο-κινόνη. Η ο-κινόνη μπορεί είτε να γίνει αποδέκτης της 1,4-Michael προσθήκης προς σχηματισμό DNA παραγώγων ή να αναχθεί από τη ρίζα NAD(P)H προς παραγωγή δραστικών οξυγονούχων ριζών (Σχήμα 4)⁵¹.



Σχήμα 4: Σχηματισμός ΠΑΥ-ο-κινόνης

δ) Μηχανισμός σχηματισμού εστέρων του θειϊκού οξέος (Formation of sulfuric acid ester)

Αν και θεωρείται δευτερεύουσα μεταβολική ενεργοποίηση, η υδροξυλίωση μέθυλ-υποκατεστημένων ΠΑΥ προς βενζυλεστέρες που μπορούν να φέρουν θειϊκές ομάδες, είναι δυνατό να προκαλέσουν καρκίνο⁵².

Μία ακόμα θεωρία για τον μηχανισμό έκφρασης της τοξικής δράσης των ΠΑΥ είναι η πρόσδεσή τους στον αρυλ-υδρογονανθρακικό υποδοχέα AhR, που έχει ως αποτέλεσμα τη σηματοδότησή του. Αρκετές από τις επιδράσεις των ΠΑΥ, όπως η επαγωγή ενζύμων, η ανοσοκαταστολή και η τερατογένεση πιστεύεται ότι προκαλούνται από την ενεργοποίηση του υποδοχέα AhR και την επακόλουθη διαταραχή της κυτταρικής ομοίωσης.

Ο AhR βρίσκεται στο κυτταρόπλασμα με τη μορφή συμπλέγματος με δύο συνοδούς πρωτεΐνες, ως μεταγραφικός παράγοντας διαφόρων ενζύμων, συμπεριλαμβανομένων και εκείνων που συμμετέχουν στο μεταβολισμό ξενοβιοτικών ουσιών, όπως το κυτόχρωμα P450. Είναι γνωστότερος ως υποδοχέας διοξινών, μιας και η 2,3,7,8-τετραχλώροδιβενζο-*π*-διοξίνη (TCDD) και οι υπόλοιπες διοξίνες προσδένονται σε αυτόν, σηματοδοτώντας τον ώστε να δράσει σαν πυρηνικός μεταγραφικός παράγοντας⁵³.

Η τοξικότητα που προκαλείται από τη σηματοδότηση του AhR εξαρτάται από το είδος του AhR αγωνιστή. Η πρόσδεση των ΠΑΥ στον AhR δεν ευνοείται στερεοχημικά και φυσικοχημικά όσο αυτή των διοξινών, παρόλα αυτά όταν πραγματοποιείται έχει ως αποτέλεσμα την έκφραση του γονιδίου Bax με επακόλουθη απόπτωση στα ωκύταρα⁵⁴. Λεπτομέρειες για τον συγκεκριμένο μηχανισμό έκφρασης της τοξικότητας των ΠΑΥ μέσω του AhR υποδοχέα απαιτούν περαιτέρω μελέτη.

1.1.6 Επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία

Οι επιπτώσεις των ΠΑΥ στην ανθρώπινη υγεία έχουν μελετηθεί κυρίως για μείγματα αυτών, αφού στην πράξη είναι πολύ δύσκολο να υπάρξει έκθεση σε μεμονωμένους ΠΑΥ. Εξαίρεση αποτελεί το ναφθαλένιο, το οποίο χρησιμοποιήθηκε ως εντομοαπωθητικό και αντισκωριακό (ναφθαλίνη), και για το οποίο έχουν αναφερθεί περιπτώσεις οξείας δηλητηρίασης, αιμολυτική αναιμία, έλκη κερατοειδούς, καταρράκτης κτλ¹².

Η τοξικότητα μιας ένωσης αναφέρεται στην ικανότητά της να προκαλεί βλάβες στους ζωντανούς οργανισμούς και να επάγει καρκινογόνες και μεταλλαξιγόνες δράσεις ή φαινόμενα τερατογένεσης. Η έκθεση των πειραματόζων σε ΠΑΥ συνδέεται με την εμφάνιση τοξικών δράσεων στο αναπαραγωγικό σύστημα, στο καρδιαγγειακό σύστημα, το συκώτι, τον μυελό των οστών και την εμφάνιση καρκίνου.

Οι επιδράσεις των ΠΑΥ στην ανθρώπινη υγεία εξαρτώνται από το χρόνο, την οδό έκθεσης σε αυτούς, την ποσότητα στην οποία έχει κάποιος εκτεθεί και την τοξικότητα που παρουσιάζει κάθε ΠΑΥ. Οι βραχυπρόθεσμες επιδράσεις στην υγεία περιλαμβάνουν ερεθισμό των ματιών, ναυτία, εμετό, διάρροια και σύγχυση, σύμφωνα με μελέτες που διενεργήθηκαν σε εργαζομένους για την επαγγελματική έκθεση σε ΠΑΥ⁵⁵. Επιπρόσθετα, ορισμένοι ΠΑΥ όπως το βενζο[α]πυρένιο, το ανθρακένιο και το ναφθαλένιο και τα μείγματά τους μπορούν να προκαλέσουν ερεθισμό του δέρματος και αλλεργικές αντιδράσεις, ύστερα από σύντομο χρόνο έκθεσης σε αυτούς. Στις χρόνιες επιδράσεις συγκαταλέγονται η κερατοεπιπεφυκίτιδα, η ανοσοτοξικότητα, η εμφάνιση καταρράκτη, χρόνιες φλεγμονές στο δέρμα, η ηπατοτοξικότητα και η ήπια

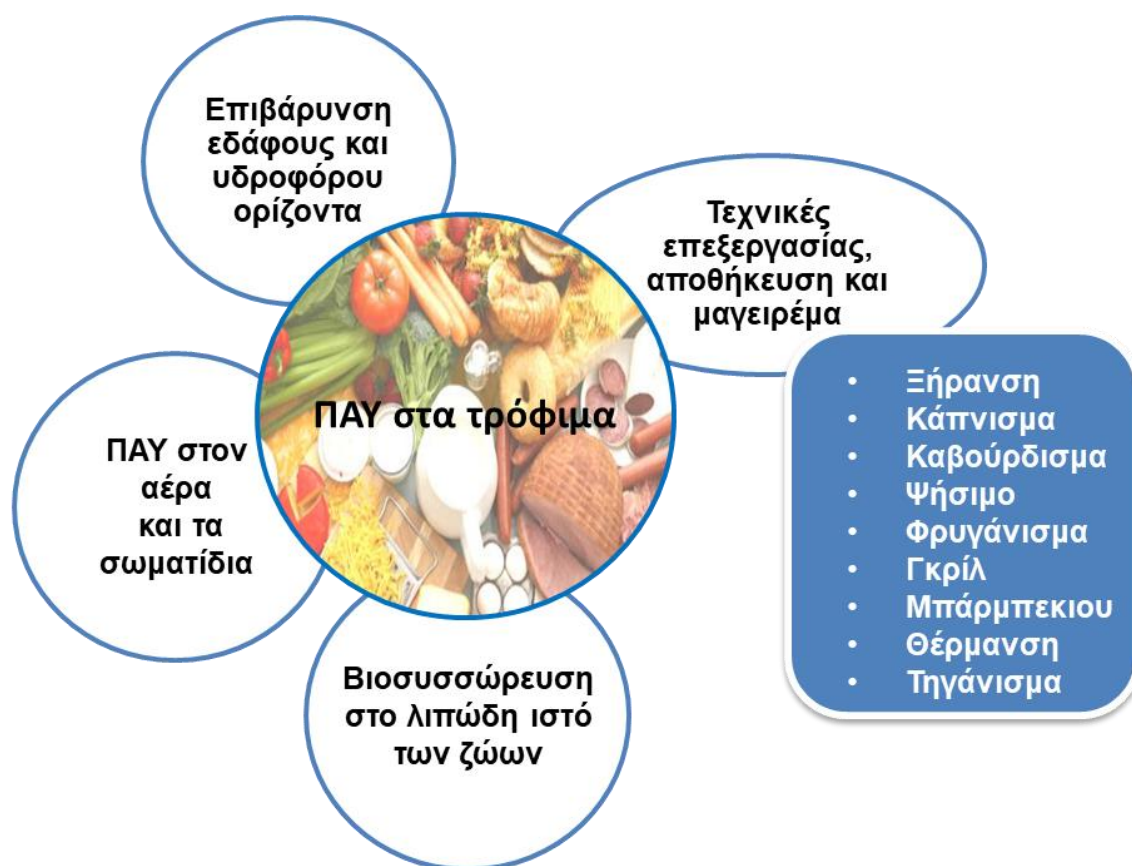
νεφροτοξικότητα, ο βήχας και η ασθματική βρογχίτιδα, η αναιμία και η λευκοπενία καθώς και η εμφάνιση καρκίνου^{56,57}. Ο IARC έχει κατηγοριοποιήσει τους ΠΑΥ με βάση την καρκινογόνο δράση που επιδεικνύουν σε τρεις ομάδες Ομάδα 1= καρκινογόνα για τον άνθρωπο, Ομάδα 2A= πιθανώς καρκινογόνα, Ομάδα 2B= εν δυνάμει καρκινογόνα, Ομάδα 3= μη καρκινογόνα και M.A.= μη αξιολογηθέντα (Πίνακας 1). Το βενζο[α]πυρένιο κατηγοριοποιείται ως καρκινογόνο και το διβενζ[α,η]ανθρακένιο ως πιθανά καρκινογόνο. Οι περισσότεροι ΠΑΥ που χαρακτηρίζονται από την EPA και την EFSA ως ρύποι άμεσης προτεραιότητας, ανήκουν στην Ομάδα 2B= εν δυνάμει καρκινογόνοι, μιας και δεν υπάρχουν επαρκή στοιχεία για την πρόκληση καρκίνου στον ανθρώπινο οργανισμό. Ωστόσο, αρκετές μελέτες καταδεικνύουν τις ενώσεις της Ομάδας 2B ως καρκινογόνες για τα ζώα. Σύμφωνα με τη μελέτη του Grimmer G. το 1988, αποδόθηκε στους ΠΑΥ μεγάλου μοριακού βάρους το 83% της καρκινογόνου δράσης του καπνού των τσιγάρων⁵⁸. Η πρώτη ιστορική αναφορά επαγγελματικού καρκίνου ο οποίος σχετίζεται με την έκθεση σε ΠΑΥ έγινε από τον P. Pott το 1775 και αφορούσε την εμφάνιση καρκίνου του οσχέου σε καπνοδοχοκαθαριστές⁵⁹. Από τότε πολλές επιδημιολογικές μελέτες έδειξαν ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ επαγγελματικής έκθεσης σε ΠΑΥ και εμφάνισης διαφόρων μορφών καρκίνου. Η εμφάνιση του καρκίνου αποδίδεται κυρίως στο βενζο[α]πυρένιο, ενώ υπάρχει θετική σχέση δόσης-αποτελέσματος, δηλαδή ο σχετικός κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου αυξάνεται όσο αυξάνονται τα χρόνια της έκθεσης σε ΠΑΥ. Μελέτες βιοπαρακολούθησης επιβεβαιώνουν την ευρεία έκθεση των ανθρώπων σε όλο τον κόσμο, καθώς έχουν ανιχνευτεί σε ορό αίματος και σε μητρικό γάλα ακόμα και σε ανθρώπους που δεν έχουν υποστεί έκθεση λόγω επαγγελματικής δραστηριότητας. Σύμφωνα με τους Al-Saleh et al. (2013), ορισμένοι ΠΑΥ έχουν ανιχνευθεί στον πλακούντα εγκύων και υπάρχουν ενδείξεις ότι δύναται να επηρεάσουν παράγοντες που καθορίζουν την έκβαση της γέννησης⁶⁰, ενώ το πυρένιο μπορεί να προκαλέσει κυτταροτοξικότητα και αύξηση της έκφρασης προφλεγμονωδών πρωτεϊνών σε ανθρώπινα βρογχικά επιθηλιακά κύτταρα⁶¹.

Για την εκτίμηση της επικινδυνότητας των μειγμάτων ΠΑΥ και του βαθμού τοξικότητας καθενός στον ατμοσφαιρικό αέρα έχει προταθεί η χρήση Παραγόντων Τοξικής Ισοδυναμίας (Toxic Equivalent Factors-TEF), αντίστοιχους με εκείνους που χρησιμοποιούνται στην ομάδα των διοξινών⁶². Για να υπολογιστεί το συνολικό TEQ, σε κάθε έναν από τους ΠΑΥ έχει αποδοθεί ένας παράγοντας τοξικής ισοδυναμίας (TEF). Στην πιο τοξική ένωση που είναι το BaP έχει αποδοθεί TEF=1, ενώ στα άλλα ομοειδή έχει αποδοθεί TEF ανάλογα με την τοξικότητα που εκτιμάται ότι έχουν σε σχέση με το BaP. Η συγκέντρωση κάθε ένωσης πολλαπλασιασμένη με το αντίστοιχο TEF δίνει το TEQ, ενώ το συνολικό TEQ προκύπτει από το άθροισμα όλων των TEQ, υποθέτοντας ότι οι ΠΑΥ δρουν αθροιστικά^{9,63,64}. Ωστόσο, η χρήση των TEQ δεν είναι ευρέως αποδεκτή, ενώ το CONTAM Panel της Ε.Ε. κατέληξε ότι η χρήση των TEF για ΠΑΥ στην περίπτωση των τροφίμων δεν είναι επιστημονικά έγκυρη, λόγω του διαφορετικού μηχανισμού έκφρασης της τοξικής δράσης κάθε ΠΑΥ, αλλά και της έλλειψης δεδομένων για την καρκινογόνο δράση που επιδεικνύουν μεμονωμένα και όχι σε μείγματα⁶⁵.

1.2 Η παρουσία των ΠΑΥ στα τρόφιμα

Η παρουσία των ΠΑΥ στα τρόφιμα οφείλεται είτε στην περιβαλλοντική επιβάρυνση, μέσω της οποίας οι ρύποι περνούν στην τροφική αλυσίδα, ή στις τεχνικές εξεργασίας και μαγειρέματος του τροφίμου. Οι ποσότητες ΠΑΥ στα ωμά- μη επεξεργασμένα- τρόφιμα εξαρτώνται από τα επίπεδα ρύπανσης στην περιοχή προέλευσής τους. Τα επίπεδα ΠΑΥ που υπάρχουν στα μη επεξεργασμένα τρόφιμα, από αγροτικές περιοχές απομακρυσμένες από αστικά κέντρα είναι στα όρια του υποβάθρου και προέρχονται από τη μεταφορά αιωρούμενων σωματιδίων. Στα μη επεξεργασμένα τρόφιμα συγκαταλέγονται τα φρούτα, τα λαχανικά, οι φυτικοί καρποί κ.α. Από την άλλη, τα τρόφιμα ζωικής προέλευσης όπως το κρέας, τα γαλακτοκομικά και τα ψάρια ενδέχεται να παρουσιάζουν υψηλές συγκεντρώσεις ΠΑΥ όχι μόνο εξαιτίας της περιβαλλοντικής επιβάρυνσης, αλλά κυρίως λόγω των θερμικών διαδικασιών στις οποίες υπόκεινται, του καπνίσματος και λοιπών πρακτικών⁶⁶. Η επεξεργασία των τροφίμων (όπως είναι το ψήσιμο και το

κάπνισμα) και το μαγείρεμα σε υψηλές θερμοκρασίες (ψήσιμο, τηγάνισμα) είναι οι κυριότερες πηγές ΠΑΥ.



Εικόνα 2: Πηγές παρουσίας ΠΑΥ στα τρόφιμα

1.2.1 Επίπεδα ΠΑΥ ανά κατηγορίες τροφίμων

Τα τρέχοντα δεδομένα σχετικά με την παρουσία των ΠΑΥ στα τρόφιμα και τις ομάδες τροφίμων είναι αρκετά ετερογενή. Από το είδος του τροφίμου, τους ΠΑΥ που εξετάζονται, την αναλυτική μέθοδο ποσοτικοποίησης που χρησιμοποιείται, την έκφραση των αποτελεσμάτων, η κάθε μελέτη που διεξάγεται επηρεάζεται από πολλές παραμέτρους με αποτέλεσμα την εξαγωγή πληθώρας δεδομένων και τιμών που είναι δύσκολο να συγκριθούν μεταξύ τους. Επιπλέον, οι γενικές προτιμήσεις του πληθυσμού για τα τρόφιμα και οι διατροφικές συνήθειες είναι περίπλοκες και πολύ διαφορετικές ανά περιοχή, κάτι που συμβάλλει με τη σειρά του στην ετερογένεια αυτή. Ακολουθεί ανασκόπηση των δημοσιευμένων μελετών, σχετικά με την

παρουσία των ΠΑΥ σε διάφορες κατηγορίες τροφίμων και των πιθανών πηγών προέλευσής τους σε αυτές.

Φρούτα και λαχανικά

Τα επίπεδα των ΠΑΥ στα φρούτα και τα λαχανικά εξαρτώνται από τον τόπο καλλιέργειας και συγκομιδής τους. Φρούτα και λαχανικά που καλλιεργούνται σε εδάφη κοντά σε αυτοκινητόδρομους ή βιομηχανικές περιοχές παρουσιάζουν υψηλές συγκεντρώσεις ΠΑΥ, λόγω εναπόθεσης αιωρούμενων σωματιδίων στο φύλλωμα, τους βλαστούς και τους καρπούς τους⁶⁷, ενώ οι μη ελεγχόμενες καύσεις, όπως δασικές πυρκαγιές και καύση κλαδιών σε αγροτικές περιοχές είναι ο κύριος λόγος επιβάρυνσης των τροφίμων αυτών. Τα φυλλώδη λαχανικά και τα φρούτα είναι περισσότερο επιβαρυνμένα σε σχέση με τους βολβούς, λόγω της μεγάλης και κηρώδους επιφάνειάς τους αντίστοιχα, που ευνοεί την εναπόθεση αιωρούμενων σωματιδίων. Σύμφωνα με μελέτη του Rojo το 2003, βρέθηκαν οι παρακάτω μέσες συγκεντρώσεις για το σύνολο 10 ΠΑΥ: 13,53 $\mu\text{g kg}^{-1}$ σε μαρούλια, 9,50 $\mu\text{g kg}^{-1}$ σε ντομάτες, 8,86 $\mu\text{g kg}^{-1}$ σε λάχανα, 4,05 $\mu\text{g kg}^{-1}$ σε μήλα, 3,77 $\mu\text{g kg}^{-1}$ στα σταφύλια και 3.87 $\mu\text{g kg}^{-1}$ σε ροδάκινα. Το βενζο[α]πυρένιο βρέθηκε στο 89% των δειγμάτων που αναλύθηκαν, ενώ δεν ανιχνεύθηκε χρυσένιο⁶⁸. Από την άλλη μεριά, τα βολβώδη λαχανικά επιβαρύνονται από το μολυσμένο έδαφος ή τα ύδατα⁶⁹. Οι Ashraf et al. (2013), βρήκαν στις πατάτες συγκεντρώσεις της τάξεως του 13 $\mu\text{g kg}^{-1}$, με το βενζο[α]πυρένιο να είναι ο κυρίαρχος ΠΑΥ με μέση συγκέντρωση τα 3,14 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ⁷⁰. Από τα φρούτα, το μήλο φαίνεται να είναι το πιο επιβαρυνμένο κυρίως με ΠΑΥ μικρού μοριακού βάρους, όπως ακεναφθυλένιο, φλουορένιο και πυρένιο⁷¹. Τα αποξηραμένα φρούτα, όπως οι αποξηραμένες μπανάνες, τα οποία υπόκεινται σε θερμικές κατεργασίες για τη ξήρανσή τους, είναι πιθανό να περιέχουν σημαντικές ποσότητες ΠΑΥ. Όσον αφορά στην επίδραση που έχει το μαγείρεμα στο τελικό περιεχόμενο των φρούτων και λαχανικών σε ΠΑΥ, το βράσιμο φαίνεται πως μειώνει την συγκέντρωση, π.χ. στη μελέτη των Abou- Arab et al., (2014) το ποσοστό των ΠΑΥ μετά το βράσιμο μειώθηκε κατά 88% στις πατάτες και 81% στο σπανάκι, ενώ οι τεχνικές ψησίματος δύναται να αυξήσουν την τελική συγκέντρωση⁷². Σύμφωνα με τους Perelló et al. (2009), το τηγάνισμα είχε ως αποτέλεσμα την

αύξηση του συνόλου της συγκέντρωσης των 16 ΠΑΥ της EPA στις πατάτες από $2,01 \mu\text{g kg}^{-1}$ σε $28,69 \mu\text{g kg}^{-1}$ ⁷³, ενώ στη μελέτη των Akrambang et al. (2015) το σύνολο της συγκέντρωσης 8 ΠΑΥ στο καλαμπόκι πριν και μετά το ψήσιμο ήταν στα $0,6 \mu\text{g kg}^{-1}$ και $6,9 \mu\text{g kg}^{-1}$ αντίστοιχα⁷⁴.

Δημητριακά και προϊόντα τους

Τα δημητριακά θεωρούνται η κύρια πηγή διατροφικής έκθεσης του ανθρώπου σε ΠΑΥ, σύμφωνα με τα ευρήματα της EFSA, δεδομένης της υψηλής κατανάλωσης τους⁷⁵. Το ψωμί που αποτελεί διατροφική βάση στα περισσότερα διατροφικά μοντέλα επιβαρύνεται σε ΠΑΥ τόσο μέσω της πρώτης ύλη παρασκευής του, όσο και κατά τη διαδικασία ψησίματός του. ΠΑΥ μικρού μοριακού βάρους όπως φαινανθρένιο, ανθρακένιο, φλουαρανθένιο και πυρένιο έχουν ανιχνευθεί και αποτελούν το 90% του συνόλου των ΠΑΥ σε πολλούς τύπους άλευρων, όπως αλεύρι ολικής, σίκαλης, ρυζιού κ.α. ΠΑΥ μεγαλύτερου μοριακού βάρους όπως χρυσένιο, βενζο[b]φλουορανθένιο και βενζο[k]φλουορανθένιο έχουν επίσης ανιχνευθεί. Ενδιαφέρον παρουσιάζει το βενζο[a]πυρένιο, το οποίο εντοπίζεται κυρίως στην κόρα του ψωμιού και ύστερα από ψήσιμο στους 260°C , σαν αποτέλεσμα πυρολυτικών διεργασιών. Στη μελέτη των Ciecierska et al. (2013), σε σύνολο 19 ΠΑΥ, η μέση συγκέντρωση στα διάφορα είδη ψωμιού έφτανε έως και τα $13 \mu\text{g kg}^{-1}$, ενώ σύμφωνα με τους Kobayashi et al. (2008), σιτάρια ολικής αλέσεως στην περιοχή της Καλιφόρνια ήταν επιβαρυνμένα με ΠΑΥ με δύο ή τέσσερις δακτυλίους^{76,77}. Το ψήσιμο και το φρυγάνισμα έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της συγκέντρωσης των ΠΑΥ στο τελικό προϊόν των δημητριακών από δύο έως έξι φορές, ιδιαίτερα σε περιπτώσεις που χρησιμοποιείται ξυλόφουρνος ή απευθείας έκθεση σε φωτιά, ενώ η χρήση ηλεκτρικών συσκευών φαίνεται να μην επιδρά τόσο στην τελική επιβάρυνση^{78,79}. Η ξήρανση και αφυδάτωση των δημητριακών και των καρπών ενδέχεται να αυξάνουν τα επίπεδα των ΠΑΥ, λόγω πυρολυτικών διεργασιών που λαμβάνουν χώρα και έχουν ως αποτέλεσμα τη δημιουργία ΠΑΥ, αλλά και την έναρξη πυροσυνθετικών διεργασιών κάτω από τις οποίες ΠΑΥ με δυο ή τρεις δακτυλίους σχηματίζουν άλλους μεγαλύτερου μοριακού βάρους⁸⁰.

Κρέατα και προϊόντα με βάση το κρέας

Τα μη επεξεργασμένα κρέατα και προϊόντα κρεάτων επιβαρύνονται σε ΠΑΥ λόγω της περιβαλλοντικής ρύπανσης και του φαινομένου της βιοσυσσώρευσης και βιομεγέθυνσης, αν και η παρουσία των ενώσεων σε αυτά δεν είναι σημαντική, μιας και τα ζώα διαθέτουν υψηλή μεταβολική ικανότητα. Κρέατα τα οποία είναι λιπαρά ενδέχεται να είναι πιο επιβαρυνμένα συγκριτικά με άλλα που διαθέτουν μικρότερο ποσοστό λίπους. Εκτός όμως από την επιβάρυνση των τροφίμων από περιβαλλοντικές πηγές, οι ΠΑΥ μπορούν να σχηματιστούν άμεσα στα τρόφιμα ως αποτέλεσμα διαφόρων διαδικασιών επεξεργασίας και θέρμανσης. Η επεξεργασία των τροφίμων (ξήρανση, κάπνισμα) και το μαγείρεμα τους σε υψηλές θερμοκρασίες (ψήσιμο, μπάρμπεκιου, τηγάνισμα) ενδέχεται να αυξάνει σημαντικά τα επίπεδα των ΠΑΥ σε αυτά. Ο τρόπος μαγειρέματος, η θερμοκρασία μαγειρέματος, ο χρόνος, η ποσότητα και η ποιότητα της λιπαρής ύλης που χρησιμοποιείται για το μαγείρεμα είναι παράγοντες που επηρεάζουν το σχηματισμό ΠΑΥ^{81,82}. Κρέατα που έχουν μαγειρευτεί στα κάρβουνα έρχονται σε άμεση επαφή με τις φλόγες και πραγματοποιείται πυρόλυση των λιπαρών τους και δημιουργία ΠΑΥ. Ακόμα κι αν δεν βρίσκεται σε άμεση επαφή με τις φλόγες, το λίπος που στάζει στη φλόγα ή στα κάρβουνα πυρολύεται και οι ΠΑΥ που παράγονται μεταφέρονται στο κρέας. Η πυρόλυση της οργανικής ύλης όπως λίπος, πρωτεΐνες και υδατάνθρακες συμβαίνει σε θερμοκρασίες άνω των 200°C⁸³. Οι Farhadian et al. υπολόγισαν τη συγκέντρωση του βενζο[α]πυρενίου σε διάφορα κρέατα ψημένα στα κάρβουνα, με το μοσχάρι να έχει τα υψηλότερα επίπεδα της τάξεως του 12,5 μg kg⁻¹, ενώ πάνω από το όριο ανίχνευσης βρέθηκαν και ΠΑΥ μεγαλύτερου μοριακού βάρους, όπως το διβενζ[α,η]ανθρακένιο και το διβενζο[α,ε]πυρενίο⁸⁴. Σε αντίθεση, το ψήσιμο σε ηλεκτρική σχάρα ή η τοποθέτηση σκεύους μεταξύ πηγής φλόγας και κρέατος αποτελούν ασφαλείς πρακτικές ψησίματος. Το ψήσιμο στο φούρνο και το τηγάνισμα φαίνεται πως δεν επιβαρύνουν το τρόφιμο περαιτέρω, εκτός και αν στην περίπτωση του τηγανίσματος η λιπαρή ύλη που χρησιμοποιείται είναι ήδη η ίδια επιβαρυνμένη⁸⁵.

Το κάπνισμα των κρεάτων για λόγους συντήρησης αλλά και βελτίωσης των οργανοληπτικών τους χαρακτηριστικών είναι μια διαδικασία που

χρησιμοποιείται από την αρχαιότητα. Η ημιτελής καύση του ξύλου για τη δημιουργία καπνού έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία ΠΑΥ που επικάθονται στο κρέας. Ο καπνός δημιουργείται από τη θερμική πυρόλυση ξύλου, παρουσία ελάχιστων ποσοτήτων οξυγόνου. Η θερμοκρασία του καπνού παίζει σημαντικό ρόλο, μιας και σε θερμοκρασίες 400- 1000°C, η παραγωγή ΠΑΥ αυξάνεται γραμμικά. Αν και πλέον είναι μια βιομηχανοποιημένη διαδικασία που περιλαμβάνει σύγχρονους κλιβάνους και ελεγχόμενες παραμέτρους, παραδοσιακοί τρόποι καπνίσματος χρησιμοποιούνται ακόμη. Τα επίπεδα των ΠΑΥ στα καπνιστά κρέατα ποικίλουν και εξαρτώνται από τον τρόπο και τον χρόνο καπνίσματος. Μελέτη σε καπνιστά λουκάνικα έδειξε παρουσία 6 έως 12 ΠΑΥ από τους 16 ΠΑΥ προτεραιότητας της EFSA με τα επίπεδά τους να κυμαίνονται μεταξύ 3 και 52 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ενώ σε μελέτη για καπνιστά κρέατα με σύγχρονες μεθόδους καπνίσματος η συγκέντρωση του βενζο[α]πυρενίου δεν ξεπερνούσε το 0,1 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ^{86,87}.

Ιχθυηρά

Οι ΠΑΥ που βρίσκονται στα υδάτινα οικοσυστήματα απορροφώνται σχετικά εύκολα από τους υδρόβιους οργανισμούς και έτσι εισέρχονται στην τροφική αλυσίδα. Τα επίπεδα τους στους υδρόβιους οργανισμούς εξαρτώνται από τη μόλυνση του οικοτόπου τους και την ικανότητά τους να μεταβολίζουν τους ρύπους. Γενικά, τα ψάρια έχουν μεγαλύτερη μεταβολική ικανότητα των ρύπων από ότι τα μαλάκια⁸⁸. Σε ψάρια από μη επιβαρυμένες περιοχές ανιχνεύονται μικρές ποσότητες ναθφαλενίου, ακεναφθενίου, φλουορενίου και φαινανθρενίου της τάξεως του 0.1 $\mu\text{g kg}^{-1}$ έως 6-7 $\mu\text{g kg}^{-1}$, ενώ σε ψάρια από ρυπασμένες περιοχές οι συγκεντρώσεις αυξάνουν έως και 10 φορές⁸⁹. Αύξηση του ποσοστού λίπους του ψαριού συνεπάγεται και αύξηση των περιεχόμενων ΠΑΥ. Σε μελέτη που έγινε σε σαρδέλες και σκουμπρί Ατλαντικού βρέθηκαν αθροίσματα συγκεντρώσεων 18 ΠΑΥ μεταξύ 1,80 και 19,90 $\mu\text{g kg}^{-1}$ νωπού βάρους⁹⁰. Όπως και στα κρέατα έτσι και στα ψάρια η επιβάρυνση ενδέχεται να μην είναι μόνο περιβαλλοντική, αλλά να προέρχεται από διάφορες θερμικές κατεργασίες, όπως το κάπνισμα. Η άμεση έκθεση ψαριών στον καπνό οδηγεί σε υψηλότερα επίπεδα ΠΑΥ σε σύγκριση με τις έμμεσες μεθόδους καπνίσματος. Ιχθυηρά που καπνίστηκαν σε σύγχρονες

εγκαταστάσεις καπνίσματος με εξωτερική δημιουργία καπνού και διαδικασίες που απομακρύνουν ενώσεις με υψηλό σημείο ζέσεως, όπως είναι οι ΠΑΥ και σωματίδια που ενδεχομένως περιέχουν ΠΑΥ, βρέθηκε ότι έχουν μικρότερη περιεκτικότητα σε ΠΑΥ που μετρήθηκαν, σε σχέση με ιχθυηρά που καπνίστηκαν σε παραδοσιακές εγκαταστάσεις καπνίσματος, όπου ο καπνός παράγεται σε άμεση επαφή με το προϊόν. Σε ψάρια που έχουν καπνιστεί με παραδοσιακές τεχνικές καπνίσματος τα επίπεδα του βενζο[α]πυρενίου μπορούν να φτάσουν έως και τα $50 \mu\text{g kg}^{-1}$ νωπού βάρους⁹¹. Στο μη καπνιστό σολομό υπάρχουν ΠΑΥ μικρού μοριακού βάρους σε χαμηλές συγκεντρώσεις (από 0,06 έως 0,19 $\mu\text{g kg}^{-1}$). Ο σολομός που καπνίστηκε με τέσσερις διαφορετικές βιομηχανικές διαδικασίες ψυχρού καπνίσματος (καύση, θερμοστατούμενες πλάκες, τριβή και υγρός καπνός) εμπειρίχτε υψηλότερα επίπεδα ΠΑΥ μικρού μοριακού βάρους (από 1 έως 5 $\mu\text{g kg}^{-1}$)⁹². Άλλη μελέτη ανέφερε ελαφρώς υψηλότερα επίπεδα μεμονωμένων ΠΑΥ στον καπνιστό σολομό που κυμαίνονταν μεταξύ 5 και 60 $\mu\text{g kg}^{-1}$ με το φλουορανθένιο και το βενζο[g,h,i]περυλένιο να εμφανίζουν τα χαμηλότερα επίπεδα και το ναφθαλένιο και το πυρένιο τα υψηλότερα⁹³.

Θαλασσινά

Η παρουσία των ΠΑΥ στα θαλασσινά, όπως τα δίθυρα μαλάκια οφείλεται στη ρύπανση των υδάτινων οικοσυστημάτων, τα οποία σε αντίθεση με τα ψάρια φιλτράρουν μεγάλες ποσότητες νερού και χωρίς να διαθέτουν ικανότητα μεταβολισμού των ξενοβιοτικών τους συσσωρεύουν. Οι ΠΑΥ μικρού μοριακού βάρους συνήθως απαντώνται σε όλους τους θαλάσσιους οργανισμούς, μιας και οι μεγάλοι μοριακού βάρους τείνουν να προσδένονται στα ιζήματα και να επικάθονται στο βυθό, γεγονός που οδηγεί σε μειωμένη πρόσληψή τους από τους οργανισμούς. Τα επίπεδα τους σε αυτούς εξαρτώνται από διάφορους παράγοντες όπως τη ρύπανση στην περιοχή που απατώνται (για αυτό και χρησιμοποιούνται σαν ρυπαντικοί δείκτες), την περίοδο αναπαραγωγής, τη θερμοκρασία νερού και τα επίπεδα του οξυγόνου στο νερό⁹⁴. Η μέση συγκέντρωση βενζο[α]πυρενίου στα δίθυρα μαλάκια είναι συνήθως κάτω από $2 \mu\text{g kg}^{-1}$, ενώ στο σύνολο 16 ΠΑΥ της ΕΡΑ οι συγκεντρώσεις που έχουν βρεθεί ήταν μεταξύ 20,31 και 23,90 $\mu\text{g kg}^{-1}$ με

κυρίαρχους τους ΠΑΥ μικρού μοριακού βάρους. Μύδια από παράκτιες περιοχές αστικών περιοχών έχουν υψηλότερες συγκεντρώσεις συγκριτικά με μύδια που προέρχονται από υδατοκαλλιέργειες⁹⁵. Επιπρόσθετα, τα μύδια Ατλαντικού είναι περισσότερο επιβαρυμένα συγκριτικά με αυτά της Μεσογείου. Τα υπόλοιπα θαλασσινά κεφαλόποδα, καρκινοειδή κτλ. παρουσιάζουν διαφορές στις τιμές των συγκεντρώσεων μεταξύ τους, ωστόσο είναι χαμηλότερες σε σύγκριση με αυτές των μυδιών^{94,96}. Όσον αφορά στα ελληνικά μύδια, που αποτελούν και σημαντικό εξαγωγίμο προϊόν, οι Kasiotis et al., ανέλυσαν δείγματα από παράκτιες περιοχές της Ελλάδας, βρίσκοντας συγκεντρώσεις για το σύνολο των 16 ΠΑΥ της ΕΡΑ μεταξύ 5,7 και 518,1 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ξηρού βάρους⁹⁷. Μύδια που καλλιεργούνται στον Σαρωνικό, τον Παγασητικό, τον Κορινθιακό κόλπο και σε νησιά έχουν βρεθεί με σύνολο των 16 ΠΑΥ της ΕΡΑ από 1 έως 75 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ξηρού βάρους⁹⁸. Σε άλλη εκτενέστερη μελέτη του 2008 σε μύδια, επιφανειακό νερό και ιζήματα από τον κόλπο της Ελευσίνας και τη Σαλαμίνα βρέθηκε άθροισμα συγκεντρώσεων 16 ΠΑΥ από 219 έως 2453 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ξηρού βάρους, με κυρίαρχη την παρουσία ΠΑΥ μικρού μοριακού βάρους. Τα αποτελέσματα αυτά ήταν αναμενόμενα, δεδομένου ότι ο κόλπος της Ελευσίνας επηρεάζεται από την έντονη ναυτιλιακή δραστηριότητα, τις βιομηχανικές εκπομπές και τις εκπομπές καυσαερίων⁹⁹.

Γάλα, γαλακτοκομικά

Η επιβάρυνση του γάλακτος οφείλεται στην περιβαλλοντική επιβάρυνση αλλά και στις πρακτικές παστερίωσης, όπου αναπτύσσονται υψηλές θερμοκρασίες. Οι Naccari et al., 2011 εντόπισαν οχτώ από τους 16 ΠΑΥ της ΕΡΑ στα δείγματα, με το βενζο[α]πυρένιο να βρίσκεται σε όλα, αν και σε χαμηλές συγκεντρώσεις¹⁰⁰. Από τους 16 ΠΑΥ της ΕΡΑ το ανθρακένιο, φαινανθρένιο και πυρένιο ήταν σε σχετικά υψηλά επίπεδα, ενώ στο σύνολό τους οι ΠΑΥ στο μη παστεριωμένο γάλα βρέθηκαν στα 5,43 $\mu\text{g kg}^{-1}$ και στο παστεριωμένο στα 6,52 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Δεδομένου ότι οι ΠΑΥ είναι λιπόφιλες ενώσεις, η συγκέντρωσή τους στο γάλα εξαρτάται και από το ποσοστό λίπους. Έτσι, τα αποβουτυρωμένα ή χαμηλών λιπαρών γάλατα έχουν μικρότερα επίπεδα ΠΑΥ συγκριτικά με τα πλήρη λιπαρών¹⁰¹. Όσον αφορά στα τυριά, η επιβάρυνσή τους σε ΠΑΥ εξαρτάται τόσο από την επιβάρυνση της πρώτης ύλης, από το

ποσοστό λίπους του τυριού αλλά και από τυχόν πρακτικές καπνίσματος. Σε καπνιστά τυριά έχουν βρεθεί συγκεντρώσεις των 16 ΠΑΥ της EFSA από 2,3 έως 114 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ¹⁰². Στη μελέτη των Esposito et al. 2014 οι συγκεντρώσεις ΠΑΥ στη μη επεξεργασμένη μοτσαρέλα ήταν κοντά στο όριο ανίχνευσης, ενώ σε μοτσαρέλες καπνιστές με διάφορες μεθόδους τα επίπεδα του βενζο[α]πυρενίου κυμαίνονταν μεταξύ 0,8 και 417, 8 $\mu\text{g kg}^{-1}$, καταδεικνύοντας πως ο τρόπος καπνίσματος παίζει σημαντικό ρόλο στο τελικό περιεχόμενο σε ΠΑΥ¹⁰³.

Αυγά

Η παρουσία των POPs στα αυγά έχει διερευνηθεί εκτενώς, ιδιαίτερα ρύπων όπως οι διοξίνες, τα PCBs και PFAs. Σε σχέση με τους ΠΑΥ φαίνεται πως δεν έχουν σημαντική παρουσία σε αυτά, λόγω του πρότερου μεταβολισμού τους στα πουλερικά σε μεταβολικά προϊόντα τα οποία δεν μεταφέρονται στο αυγό^{104,105}.

Φυτικά έλαια και λίπη

Τα φυτικά έλαια είναι μία σημαντική πηγή ΠΑΥ στη διατροφή, είτε άμεσα όπως στην περίπτωση των φυτικών ελαίων και της μαργαρίνης που χρησιμοποιούνται στη μαγειρική, είτε έμμεσα με τη προσθήκη τους σε άλλα τρόφιμα. Η παρουσία ΠΑΥ σε φυτικά έλαια οφείλεται στις διαδικασίες έκθλιψης και ξήρανσης των καρπών, εκχύλισης των λιπιδίων (Moret 2000), αλλά και στις αέριες εκπομπές από ανθρωπογενείς πηγές, όπως κάψιμο των κλαδιών σε γειτονικά χωράφια, με τους ΠΑΥ που απελευθερώνονται να επικάθονται στους καρπούς από τους οποίους και απορροφώνται (Ramesh 2004). Σε μελέτη τους, οι Costoroulou et al., για τις επιπτώσεις που είχαν οι φονικές πυρκαγιές στον Νομό Ηλείας το καλοκαίρι του 2007, έδειξαν πως οι συγκεντρώσεις των διοξινών (PCDD/F), των πολυχλωριωμένων διφαινυλίων (PCB) και των ΠΑΥ ήταν σε κανονικά επίπεδα σε όλα τα τοπικά δείγματα ελιάς που αναλύθηκαν, λόγω της παρουσίας ισχυρών ανέμων που έπνεαν κατά τη διάρκεια της πυρκαγιάς, μεταφέροντας τους ρύπους στην ευρύτερη περιοχή¹⁰⁸. Επιπρόσθετα, τα ακατάλληλα δοχεία αποθήκευσης, όπως αυτά από ανακυκλωμένο πολυαιθυλένιο, είναι πιθανό να αυξήσουν τα τελικά

επίπεδα ΠΑΥ στα έλαια¹⁰⁹, ενώ φυσικοχημικές αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα κατά το χρόνο αποθήκευσης φαίνεται πως παίζουν ρόλο στην τελική σύσταση των ελαίων και στη συγκέντρωσή τους σε ΠΑΥ (πχ. οξείδωση λιπαρών οξέων, ισομερισμός). Οι Zhao et al. παρατήρησαν αύξηση των επιπέδων του συνόλου των ΠΑΥ σε 26 δείγματα φυτικών ελαίων από 33,11-36,77 $\mu\text{g kg}^{-1}$ σε 45,12– 58,04 $\mu\text{g kg}^{-1}$ μετά από 270 ημέρες αποθήκευσης σε θερμοκρασίες 25 ° C και 4 °C¹¹⁰. Οι συγκεντρώσεις στα μη επεξεργασμένα βρώσιμα έλαια ποικίλουν, ενώ το ραφινάρισμα (απόσμηση) μειώνει τη συγκέντρωση των ΠΑΥ χαμηλού μοριακού βάρους. Τα επίπεδα των ΠΑΥ μεγαλύτερου μοριακού βάρους ενδέχεται να μειωθούν μετά από επεξεργασία με ενεργό άνθρακα^{106,111}. Τα προφίλ των συγκεντρώσεων των ΠΑΥ στα έλαια και λίπη ποικίλουν. Γενικά, το παρθένο ελαιόλαδο έχει υψηλότερα επίπεδα ΠΑΥ σε σύγκριση με το απλό ελαιόλαδο και το πυρηνέλαιο. Ωστόσο, η συγκέντρωση του βενζο[α]πυρενίου σε όλες τις κατηγορίες ελαιολάδου είναι συνήθως κάτω από 2 $\mu\text{g kg}^{-1}$, ενώ το χρυσένιο είναι ο ΠΑΥ σε μεγαλύτερη αφθονία^{106,112}. Το 50% των ενώσεων ΠΑΥ που βρέθηκαν σε ηλιέλαιο άνηκαν στους 15 ΠΑΥ προτεραιότητας της EPA, άρα ΠΑΥ μικρότερου μοριακού βάρους, που φαίνεται πως κυριαρχούν και στο παπαρουνέλαιο και το ηλιέλαιο, με συγκεντρώσεις μεταξύ 23,41 έως 234,40 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ¹¹³. Οι Alves da Silva et al. 2018, ανέλυσαν 69 δείγματα ελαίων όπως έλαιο καρύδας, έλαιο κρόκου, λιναρόσπορου και νυχτολούλουδου βρίσκοντας παρουσία των βενζο[α]πυρενίου, χρυσενίου, βενζο[α]ανθρακενίου και βενζο[α]φλουορανθενίου στο 96% των δειγμάτων¹¹⁴. Στο βούτυρο, σύμφωνα με φινλανδική μελέτη, οι μέσες συγκεντρώσεις 26 ΠΑΥ ήταν 2,4 $\mu\text{g kg}^{-1}$, 4,0 $\mu\text{g kg}^{-1}$ σε μίγματα βουτύρου- φυτικού ελαιολάδου, 12 $\mu\text{g kg}^{-1}$ σε μαργαρίνη και 32 $\mu\text{g kg}^{-1}$ σε μαργαρίνη μετά από τηγάνισμα¹¹⁵, το οποίο και δείχνει τη σημαντική αύξηση στα επίπεδα των ΠΑΥ που προκαλείται κατά το τηγάνισμα¹¹⁶.

Πόσιμο νερό και αλκοολούχα ποτά

Ο κυρίαρχος ΠΑΥ στο πόσιμο νερό είναι το φλουορανθένιο, αν και η συνολική τους παρουσία είναι σε χαμηλές συγκεντρώσεις. Τα επίπεδα του συνόλου των ΠΑΥ στο πόσιμο νερό κυμαίνονται μεταξύ 0 έως 5 ng L^{-1} , ενώ σε περιπτώσεις

που το νερό έχει επιβαρυνθεί λόγω κάποιου ατυχήματος οι συγκεντρώσεις φτάνουν έως και 11 ng L^{-1} . Η παρουσία των ΠΑΥ στα αλκοολούχα ποτά οφείλεται είτε στην επιβαρυνμένη πρώτη ύλη, σε τυχόν επεξεργασία τους ή στον τρόπο αποθήκευσής τους, παραδείγματος χάρη, η παλαίωσή τους σε ξύλινα βαρέλια. Τα βαρέλια είναι πιθανό να περιέχουν ποσότητες ΠΑΥ, λόγω του ξύλου και της φωτιάς που χρησιμοποιείται για το κάπνισμα τους, επομένως αλκοολούχα ποτά όπως το ουίσκι δύνανται να επιβαρυνθούν κατά το χρόνο αποθήκευσής τους, αν και η επιβάρυνση αυτή φαίνεται να μην είναι σημαντική¹¹⁷. Σύμφωνα με μελέτες, οι ΠΑΥ στο κρασί ήταν κάτω του ορίου ανίχνευσης ή σε πολύ χαμηλά επίπεδα, ενώ σε αλκοολούχα ποτά όπως η μπύρα, το μπράντυ και το ουίσκι οι συγκεντρώσεις ήταν ελαφρώς αυξημένες, με την παρουσία ΠΑΥ μεγάλου μοριακού βάρους, όπως το διβένζο[α,η]ανθρακένιο και με μέγιστη συγκέντρωση συνόλου 15 ΠΑΥ τα 172 ng L^{-1} στο καπνιστό μπράντυ^{117,118}.

Καφές και τσάι

Το καβούρδισμα και η ξήρανση των κόκκων του καφέ και των φύλλων του τσαγιού αυξάνει το επίπεδο των ΠΑΥ¹¹⁹. Σύμφωνα με μελέτες, οι καβουρδισμένοι αλεσμένοι κόκκοι καφέ και τα αποξηραμένα φύλλα τσαγιού περιέχουν υψηλά επίπεδα αθροίσματος ΠΑΥ μεταξύ 100 και $200 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$. Ωστόσο, σύμφωνα με αρκετές μελέτες, οι ΠΑΥ στους κόκκους καφέ δεν καταλήγουν στο τελικό ρόφημα καφέ, μιας και δεν είναι υδατοδιαλυτοί¹²⁰.

Τα ροφήματα τσαγιού έχουν μελετηθεί εκτενώς για το περιεχόμενό τους σε ΠΑΥ. Αν και τα φύλλα τσαγιού περιέχουν πολύ υψηλά επίπεδα ΠΑΥ της τάξεως των 100 έως $2000 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$, λόγω ξήρανσης, η συγκέντρωσή τους στα τελικά ροφήματα είναι πολύ μικρότερη. Τα αποτελέσματα μεταξύ μελετών παρουσιάζουν μεγάλες διαφορές και φαίνεται πως εξαρτώνται από το είδος του τσαγιού, τον τόπο προέλευσης και ξήρανσης και τον τρόπο παρασκευής του ροφήματος. Ενδεικτικά αναφέρουμε πως για το μαύρο τσάι η συγκέντρωση των 4 δεικτών ΠΑΥ έχει υπολογισθεί από $1,4$ έως και $700 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$ ^{121,122,123}.

Κακάο

Γλυκά με βάση το κακάο, ροφήματα κακάο καθώς και βούτυρο κακάο αποτελούν πηγή έκθεσης σε ΠΑΥ. Οι καρποί του κακαόδέντρου υπόκεινται σε διάφορες θερμικές κατεργασίες προκειμένου να μπορούν να χρησιμοποιηθούν στη βιομηχανία τροφίμων, όπως ξήρανση, καβούρδισμα, αποφλοιώση και ζύμωση, οι οποίες είναι πιθανό να αυξήσουν το περιεχόμενό τους σε ΠΑΥ. Οι Ziegenhals et al. (2009) εξέτασαν διαφόρων ειδών σοκολάτες ως προς το περιεχόμενό τους σε ΠΑΥ και βρήκαν η συγκέντρωση του βενζο[α]πυρενίου να κυμαίνεται μεταξύ 0,07 και 0,63 $\mu\text{g kg}^{-1}$, ενώ σημαντική ήταν η παρουσία του βενζο[β]φλουαρανθενίου¹²⁴. Οι Raters και Matissek (2014), βρήκαν άθροισμα συγκεντρώσεων βενζο[α]πυρενίου, βενζο[β]φλουαρανθενίου, χρυσενίου και βενζο[α]ανθρακενίου 12,44 $\mu\text{g kg}^{-1}$ λίπους και συγκέντρωση 0,96 $\mu\text{g kg}^{-1}$ λίπους για το βενζο[α]πυρενίο¹²⁵. Σχετικά με το βούτυρο κακάο, οι ακατάλληλες πρακτικές ξήρανσης, οδηγούν συχνά σε αυξημένο περιεχόμενο σε ΠΑΥ, κάτι που δικαιολογεί και το σχετικά μεγάλο θεσμοθετημένο όριο της Ε.Ε παρουσίας των τεσσάρων δεικτών ΠΑΥ στα 30 $\mu\text{g kg}^{-1}$ λίπους.

Μητρικό γάλα

Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε στη Γερμανία το 1984 σε ανθρώπινο γάλα βρέθηκαν ΠΑΥ σε συγκεντρώσεις που κυμαίνονταν από 5 έως 15 ng kg^{-1} γάλακτος. Το βενζο[α]πυρενίο ανιχνεύτηκε σε συγκέντρωση 6,5 ng kg^{-1} ⁶⁶. Οι Zanieri et al. (2007) ανέλυσαν δείγματα μητρικού γάλακτος από γυναίκες καπνίστριες και μη καπνίστριες. Τα επίπεδα των ΠΑΥ στα δείγματα από τις γυναίκες που κάπνιζαν ήταν υψηλότερα με μέσες συγκεντρώσεις της τάξεως των 11 $\mu\text{g kg}^{-1}$ για το ναφθαλένιο, 0,10 $\mu\text{g kg}^{-1}$ για το ανθρακένιο και το βενζο[κ]φλουαρανθένιο και 0,70 $\mu\text{g kg}^{-1}$ για το βενζο[α]πυρενίο. Τα επίπεδα των ΠΑΥ στις γυναίκες που δεν κάπνιζαν ήταν χαμηλότερα, με το βενζο[α]πυρενίο να μην ανιχνεύεται σε κανένα από τα δείγματα¹²⁶.

Συμπληρώματα διατροφής

Όσον αφορά τα προϊόντα που χρησιμοποιούνται ως συμπληρώματα διατροφής, όπως τζίντζερ, σπιρουλίνα, πρόπολη, αλόη βέρα, λιναρόσπορο

κ.α., τα προφίλ των συγκεντρώσεων σε ΠΑΥ παρουσιάζουν διαφορές μεταξύ τους. Σε δείγματα που αναλύθηκαν σε μελέτη μεταξύ 2003 και 2007, το βενζο[α]πυρενίο είχε παρουσία στο 44% των δειγμάτων με μέση τιμή συγκεντρώσεων στα διάφορα προϊόντα τα 3,37 $\mu\text{g kg}^{-1}$ και το χρυσένιο ήταν ο ΠΑΥ με τις υψηλότερες μέσες τιμές συγκεντρώσεων¹²⁷. Ενδιαφέρον παρουσίασαν τα δείγματα πρόπολης, στα οποία η παρουσία του βενζο[α]πυρενίου κυμάνθηκε μεταξύ 0,7 και 1371 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Ανάλογα ευρήματα βρέθηκαν και σε μελέτη του 2015, με σημαντική παρουσία του χρυσενίου και του βενζο[α]πυρενίου σε συμπληρώματα διατροφής και το προφίλ συγκεντρώσεων των δειγμάτων πρόπολης να παρουσιάζει και εδώ ενδιαφέρον¹²⁸.

Βότανα και μπαχαρικά

Τα βότανα και τα μπαχαρικά επιβαρύνονται σε ΠΑΥ μέσω των διαφόρων διαδικασιών ξήρανσης, στις οποίες υπόκεινται για την εμπορική τους διάθεση¹²⁹. Με βάση τα δεδομένα που έχει συλλέξει η EFSA από διάφορες μελέτες, τα βότανα και τα μπαχαρικά είναι αρκετά επιβαρυμένα σε ΠΑΥ⁷⁵. Οι Rozentale et al. στη μελέτη τους το 2017, ανέλυσαν 150 δείγματα αυτής της κατηγορίας, όπως ρίγανη, βασιλικό, θυμάρι, μαύρο πιπέρι, πάπρικα, μοσχοκάρυδο κ.α. για την παρουσία τεσσάρων ΠΑΥ δεικτών της Ε.Ε. Ανιχνεύθηκαν ποσότητες ΠΑΥ στο 86% των δειγμάτων, με τις συγκεντρώσεις του βενζο[α]πυρενίου να φτάνουν έως και 6,60 $\mu\text{g kg}^{-1}$, ενώ η πάπρικα ήταν το μπαχαρικό με τις υψηλότερες συγκεντρώσεις του συνόλου των τεσσάρων ΠΑΥ¹³⁰.

1.2.2 Ανασκόπηση νομοθεσίας

Η παρουσία στα τρόφιμα και η τοξικότητα των ΠΑΥ έχει αξιολογηθεί από διάφορους Οργανισμούς σε όλο τον κόσμο, όπως η EPA, η EFSA, ο WHO κ.α. Σε ευρωπαϊκό επίπεδο, η τοξικότητα των ΠΑΥ στα τρόφιμα αξιολογήθηκε από την SCF, λαμβάνοντας υπόψη τις αξιολογήσεις που πραγματοποιήθηκαν από διεθνείς ομάδες εμπειρογνομώνων. Δόθηκε προτεραιότητα στην παρακολούθηση και τη μελέτη των ενώσεων που επιδεικνύουν ισχυρή τοξική

δράση, παρά σε εκείνες με τη συχνότερη παρουσία στα τρόφιμα, που όμως δεν φαίνεται να είναι το ίδιο ισχυρά τοξικές και καρκινογόνες.

Το 2002 η SCF συνέστησε την παρακολούθηση των 16 ΠΑΥ (12 εκ των οποίων θεωρούνταν ήδη από τον IARC ως καρκινογόνα ή πιθανά καρκινογόνα), βενζ[α]ανθρακένιο, χρυσένιο, κύκλοπεντα[cd]πυρένιο, βενζο[b]φλουορανθένιο, βενζο[k]φλουορανθένιο, βενζο[j]φλουορανθένιο, βενζο[a]πυρένιο, διβένζο[a,h]ανθρακένιο, βενζο[g,h,i]περυλένιο, ίνδενο[1,2,3-cd]πυρένιο, διβένζο[a,e]πυρένιο, διβένζο[a,h]πυρένιο, διβένζο[a,i]πυρένιο, διβένζο[a,l]πυρένιο, 5-μεθυλχρυσένιο, βενζο[c]φλουορένιο, που έδειξαν σαφή καρκινογόνο, γονοτοξική και μεταλλαξιγόνο δράση, με εξαίρεση το βενζο[g,h,i]περυλένιο του οποίου η καρκινογόνος δράση ακόμη δεν έχει επιβεβαιωθεί, σε πειράματα βιοδοκιμών που πραγματοποιήθηκαν σε πειραματόζωα⁶⁶. Η επιτροπή πρότεινε τη χρήση του βενζο[a]πυρενίου ως δείκτη παρουσίας των καρκινογόνων ΠΑΥ στα τρόφιμα και επισήμανε την αναγκαιότητα για συνεχή συλλογή δεδομένων και για τους 15 υπόλοιπους ΠΑΥ.

Μετά την πρόταση της SCF, η Ευρωπαϊκή Επιτροπή εξέδωσε σύσταση για περαιτέρω διερεύνηση των επιπέδων ΠΑΥ σε ορισμένα τρόφιμα. Η αξιολόγηση της EFSA του 2008, με δεδομένα που συγκεντρώθηκαν από τα κράτη μέλη της Ε.Ε., έδειξε ότι ορισμένοι ΠΑΥ όπως το χρυσένιο βρέθηκαν σε δείγματα τροφίμων τα οποία δεν περιείχαν βενζο[a]πυρένιο. Σε αυτές τις περιπτώσεις το βενζο[a]πυρένιο δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης επιβάρυνσης ΠΑΥ στα τρόφιμα. Επομένως, καταλληλότεροι δείκτες παρουσίας ΠΑΥ στα τρόφιμα είναι οι οκτώ ενώσεις (ΠΑΥ8) βενζ[α]ανθρακένιο, βενζο[b]φλουορανθένιο, βενζο[k]φλουορανθένιο, βενζο [ghi]περυλένιο, βενζο[a]πυρένιο, χρυσένιο, διβένζο[a,h]ανθρακένιο και ίνδενο [1,2,3-cd]πυρένιο. Ωστόσο, το σύστημα ΠΑΥ8 δεν υπερτερεί σημαντικά σε σύγκριση με ένα σύστημα των τεσσάρων ουσιών βενζ[α]ανθρακένιο, βενζο[b]φλουορανθένιο, βενζο[a]πυρένιο και χρυσένιο (ΠΑΥ4), το οποίο και χρησιμοποιείται για να εξακριβωθεί αν τα επίπεδα ΠΑΥ στα τρόφιμα διατηρούνται σε επίπεδα που δεν προκαλούν ανησυχία για την υγεία και ότι η ποσότητα των ΠΑΥ μπορεί, επίσης, να ελεγχθεί στα εν λόγω δείγματα στα

οποία δεν είναι ανιχνεύσιμο το βενζο[α]πυρένιο, στα οποία όμως είναι παρόντες άλλοι ΠΑΥ⁷⁵.

Με χρονολογική σειρά παρατίθενται οι Κανονισμοί της Ευρωπαϊκής Επιτροπής και οι τροποποιήσεις τους για την παρουσία των ΠΑΥ στα τρόφιμα και τα μέγιστα επιτρεπόμενα όρια, όπως διαμορφώνονται μέχρι σήμερα (Πίνακας 3):

- (ΕΚ) αριθμ. 208/2005, η Ευρωπαϊκή Επιτροπή ορίζει για πρώτη φορά μέγιστα επιτρεπόμενα επίπεδα για το βενζο[α]πυρένιο στα τρόφιμα¹³¹.
- (ΕΚ) αριθ. 1881/2006 , μείωση των ορίων σε ορισμένες κατηγορίες τροφίμων¹³².
- (ΕΚ) αριθ. 835/2011, διατήρηση ορίων για το βενζο[α]πυρένιο και ορισμός νέων μέγιστων επιτρεπόμενων επιπέδων για το άθροισμα των ΠΑΥ4, οι τιμές των οποίων προβλέφθηκε να μειωθούν το 2014/2015¹³³.
- (ΕΚ) αριθ. 1327/2014, κατά παρέκκλιση τριετής αύξηση των ορίων στα καπνιστά με παραδοσιακό τρόπο κρέατα και προϊόντα με βάση το κρέας και ψάρια και προϊόντα αλιείας, για τρία κράτη μέλη¹³⁴.
- (ΕΚ) αριθ. 1125/2015 και 1933/2015, καθορισμός μέγιστων επιτρεπτών επιπέδων βενζο[α]πυρενίου και ΠΑΥ4 στο αποξηραμένο κοπάνι (Katsuobushi) και στην καπνιστή ρέγκα Βαλτικής¹³⁵ και σε κακάο, τσιπς μπανάνας, συμπληρώματα διατροφής, αποξηραμένα βότανα και αποξηραμένα μπαχαρικά αντίστοιχα¹³⁶.

Όσον αφορά στο πόσιμο νερό, η οδηγία (ΕΚ) αριθμ. 98/ 83 του Συμβουλίου για την ποιότητα του νερού που προορίζεται για ανθρώπινη κατανάλωση καθόρισε ένα ανώτατο όριο για το βενζο[α]πυρένιο της τάξεως των 0,010 $\mu\text{g L}^{-1}$ και για το άθροισμα των βενζο[β]φλουορανθενίου, βενζο[κ]φλουορανθενίου, βενζο[ghi]περυλενίου και ίνδενο[1,2,3-cd]πυρενίου τα 0,10 $\mu\text{g L}^{-1}$ ¹³⁷.

Πίνακας 3: Μέγιστα επιτρεπόμενα επίπεδα ΠΑΥ σε τρόφιμα

Μέγιστα επιτρεπόμενα επίπεδα ($\mu\text{g kg}^{-1}$ νωπού προϊόντος):	Βενζο[α]πυρένιο	Άθροισμα βενζο[α]πυρενίου, βενζ[α]ανθρακενίου, βενζο[b]φλουορανθενίου και χρυσενίου (ΠΑΥ4)
Έλαια και λίπη (εξαιρουμένου του βουτύρου κακάο και του ελαίου κοκοφοίνικα)	2,0	10,0
Έλαιο κοκοφοίνικα που δεν προορίζεται για άμεση ανθρώπινη κατανάλωση ή για συστατικό τροφίμων	2,0	20,0
Καπνιστό κρέας ή καπνιστά προϊόντα με βάση το κρέας	2,0	12,0
Σάρκα καπνιστών ψαριών και καπνιστά προϊόντα αλιείας (εξαιρουμένων των δίθυρων μαλακίων)	2,0	12,0
Καπνιστές σαρδελόρεγγες και κονσερβοποιημένες καπνιστές σαρδελόρεγγες, δίθυρα μαλάκια (νωπά), κρέας που έχει υποβληθεί σε θερμική επεξεργασία και προϊόντα με βάση το κρέας που έχουν υποβληθεί σε θερμική επεξεργασία, αποξηραμένο κοπάκι και καπνιστή ρέγκα Βαλτικής	5,0	30,0
Δίθυρα μαλάκια (καπνιστά)	6,0	35,0
Μεταποιημένα τρόφιμα με βάση τα δημητριακά και παιδικές τροφές για βρέφη και μικρά παιδιά	1,0	1,0
Παρασκευάσματα και γάλα για πρώτη και δεύτερη βρεφική ηλικία	1,0	1,0
Διαιτητικά τρόφιμα για ειδικούς ιατρικούς σκοπούς που προορίζονται ειδικά για βρέφη	1,0	1,0
Κόκκοι κακάου και παράγωγα προϊόντα	5,0 $\mu\text{g kg}^{-1}$ λίπους	30 $\mu\text{g kg}^{-1}$ λίπους
Ίνες κακάου και προϊόντα τους	3,0 $\mu\text{g kg}^{-1}$ λίπους	15 $\mu\text{g kg}^{-1}$ λίπους
Τσίπς μπανάνας	2,0	20,0
Αποξηραμένα βότανα και συμπληρώματα διατροφής που περιέχουν βότανα και παρασκευάσματά τους	10,0	50,0
Αποξηραμένα μπαχαρικά με εξαίρεση το κάρδαμο	10,0	50,0

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΕΚΘΕΣΗΣ ΣΕ ΧΗΜΙΚΟΥΣ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΟΥΣ ΡΥΠΟΥΣ ΜΕΣΩ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

2.1 Η έννοια του εκθεσειώματος (exposome) και η μέτρησή του

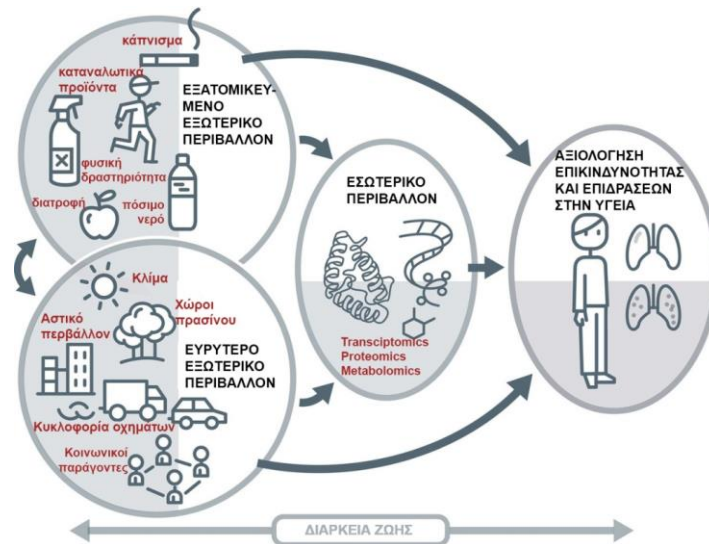
Μέχρι πρότινος την επιστημονική κοινότητα απασχολούσε το αντίκτυπο που έχει στην ανθρώπινη υγεία κάθε ρύπος μεμονωμένα, χωρίς να λαμβάνονται υπόψη τα φαινόμενα συνέργειας που λαμβάνουν χώρα μεταξύ των τοξικών ρύπων. Ωστόσο, τα τελευταία χρόνια το επιστημονικό ενδιαφέρον στρέφεται στη συνολική επίδραση στην υγεία του ανθρώπου του «κοκτέιλ» των περιβαλλοντικών ρύπων με τα οποία έρχεται σε επαφή σε όλη τη διάρκεια της ζωής του, μιας και με τη μεμονωμένη αξιολόγηση των ρύπων πιθανώς να υποτιμάται η τελική επιβάρυνση του ανθρώπινου οργανισμού. Αν και πρακτικά είναι πολύ δύσκολο να εκτιμηθεί επιτυχώς αυτή η επίδραση, γίνονται σημαντικές προσπάθειες για να μελετηθεί το αντίκτυπο που έχει στην υγεία η συνεργεστική δράση των περιβαλλοντικών ρύπων σε συνδυασμό με γενετικούς και εσωτερικούς παράγοντες καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής του ανθρώπου.

Σε αυτή τη συνολική και δια βίου έκθεση έχει αποδοθεί ο όρος «εκθεσειώμα» (exposome) που εισήγαγε ο Wild το 2005¹³⁸ για να περιγράψει το σύνολο της περιβαλλοντικής έκθεσης, συμπληρωματικής ως προς το σύνολο του γονιδιώματος του ανθρώπου, από την σύλληψη έως τον θάνατό του. Ο όρος αυτός αντιπροσωπεύει την αθροιστική εκτίμηση της έκθεσης καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής του ανθρώπου σε εσωτερικούς παράγοντες¹³⁹ και εξωτερικούς παράγοντες, λόγω της διατροφής, του τρόπου ζωής, των κοινωνικο-οικονομικών συνθηκών, της συμπεριφοράς, των περιβαλλοντικών ρύπων¹⁴⁰ (αέρα, νερού, τροφίμων, αιωρούμενων σωματιδίων, σκόνης) κ.α.

Το exposome (Εικόνα 3) περιλαμβάνει τρεις αλληλοεπικαλυπτόμενους τομείς:

- Το ευρύτερο εξωτερικό περιβάλλον: αγροτικό ή αστικό περιβάλλον διαμονής, κλιματικοί, κοινωνικο-οικονομικοί, ψυχολογικοί παράγοντες, εκπαίδευση και συμπεριφορά ατόμου.

- Το εξατομικευμένο εξωτερικό περιβάλλον: έκθεση σε περιβαλλοντικούς ρύπους όπως ο καπνός του τσιγάρου, ρύποι που σχετίζονται με τη διατροφή και την επαγγελματική ενασχόληση, ηχορύπανση κ.α.
- Εσωτερικό περιβάλλον: οξειδωτικό στρες, μεταβολικές οδοί, μικροβίωμα του οργανισμού κ.α.



Εικόνα 3: Η έννοια του exposome

Για την επιτυχή μέτρηση του exposome απαιτείται κατάλληλη επιλογή χρονικών παραθύρων μελέτης, λόγω αλλαγών στο προφίλ του exposome σε βάθος χρόνου, χρήση εργαλείων πρωτοποριακής τεχνολογίας, όπως ηλεκτρονικές πλατφόρμες, υπολογιστικά μοντέλα κ.α. και ανάπτυξη αναλυτικών μεθόδων αρκετά ευαίσθητων για τη μέτρηση βιοδεικτών (χημικών ρύπων ή προϊόντων βιοχημικής απόκρισης) στο πλαίσιο της βιοπαρακολούθησης και της επιδημιολογικής έρευνας.

Πιο αναλυτικά οι βιοδείκτες αντικατοπτρίζουν το φορτίο του οργανισμού σε συγκεκριμένο τοξικό ρύπο ανεξαρτήτως πηγών έκθεσης του οργανισμού και λαμβάνοντας υπόψη την μεταβλητότητα στη συμπεριφορά του ρύπου στον μεταβολισμό και την απέκκρισή του ανά οργανισμό. Για την επιλογή του κατάλληλου συνδυασμού βιοδείκτη και βιολογικού υποστρώματος στο οποίο θα ανιχνευθεί ο βιοδείκτης, πρέπει να λαμβάνεται υπόψη η κινητική συμπεριφορά αυτού στο συγκεκριμένο υπόστρωμα. Στην περίπτωση πολύ σταθερών ενώσεων, ως βιοδείκτες χρησιμοποιούνται οι συγκεντρώσεις των

αρχικών ενώσεων και όχι οι μεταβολίτες τους οι οποίες ενώσεις μετρώνται στο αίμα, τον ορό ή τα ούρα. Στην περίπτωση των χημικών ενώσεων με σχετικά γρήγορο μεταβολισμό, όπως οι ΠΑΥ, επιλέγονται ως βιοδείκτες ένας ή και παραπάνω μεταβολίτες, οι οποίοι προσδιορίζονται στα ούρα¹⁴¹.

Μέχρι σήμερα, δεν έχει καθιερωθεί επίσημα ένας βιολογικός δείκτης έκθεσης σε ΠΑΥ. Η επιλογή του καθίσταται δύσκολη, μιας και οι ΠΑΥ βρίσκονται πάντα με τη μορφή μείγματος, η σύσταση του οποίου παρουσιάζει μεγάλη ετερογένεια ανά περιβάλλον¹⁴². Οι υποψήφιοι βιολογικοί δείκτες, μεταβολικά προϊόντα των ΠΑΥ, που έχουν εξεταστεί μέχρι σήμερα στα ούρα είναι οι εξής:

- 3-υδροξυ-βενζο[a]πυρένιο
- 3-υδροξυ-βενζ[α]ανθρακένιο
- (1-, 2-, 3-, 4- και 9-) υδροξυ-φαινανθρένιο
- (1,2-, 3,4- και 9,10-) διυδροδιόλες του φαινανθρενίου
- 1-υδροξυ-ναφθαλένιο
- β-υδροξυ-ναφθαλένιο
- 2-αμινο-ναφθαλένιο (β-ναφθυλαμίνη)
- 1-υδροξυπυρένιο,

με τον τελευταίο να παρουσιάζει το μεγαλύτερο ενδιαφέρον¹⁴³.

2.2 Δεδομένα σχετικά με την εκτίμηση της πρόσληψης χημικών ρύπων μέσω της διατροφής, επιμέρους παράμετροι, εργαλεία και μέθοδοι διατροφικών μελετών

Η εκτίμηση της έκθεσης σε περιβαλλοντικούς ρύπους μέσω της διατροφής είναι απαραίτητη προϋπόθεση για την επιτυχή μέτρηση του exosome και παρουσιάζει ιδιαίτερες προκλήσεις στις μελέτες της διατροφικής επιδημιολογίας, μιας και αποτελεί παράγοντα εξατομικευμένης έκθεσης με πολλές αλληλοσυσχετιζόμενες παραμέτρους. Οι παλαιότερες προσπάθειες για την κατανόηση της συσχέτισης μεταξύ διατροφής και εμφάνισης διαφόρων ασθενειών επικεντρώνονταν στον ρόλο συγκεκριμένων θρεπτικών

συστατικών ή χημικών ρύπων, αλλά αργότερα έγινε εμφανές ότι σε πολλές περιπτώσεις υπήρχαν φαινόμενα συνέργειας μεταξύ αυτών¹⁴⁴. Εξάλλου, οι διατροφικές μας συνήθειες όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, συμμετέχουν και αυτές με τη σειρά τους στην αλληλεπίδραση των επικαλυπτόμενων τομέων του exposome.

Οι διατροφικές μελέτες που διεξάγονται σε διεθνές ή εθνικό επίπεδο απαιτούν ένα καλά οργανωμένο δίκτυο εργαστηρίων, επιστημόνων και τεχνολογιών αλλά και μεγάλο αριθμό υπό εξέταση πληθυσμού. Πρέπει να καλύπτουν τον γενικό πληθυσμό, καθώς και κρίσιμες ομάδες που είναι ευάλωτες ή αναμένονται να παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές στην έκθεση στους ρύπους συγκριτικά με τον γενικό πληθυσμό (π.χ. βρέφη, παιδιά, έγκυες γυναίκες ή ηλικιωμένοι). Οι διεθνείς μελέτες διατροφικής έκθεσης πρέπει να παρέχουν δεδομένα ίσης ή μεγαλύτερης εγκυρότητας και αξίας από τα δεδομένα που εξάγουν οι εθνικές μελέτες ή μελέτες μεγάλης κλίμακας (large-scale surveys), τα οποία παράλληλα να καλύπτουν επαρκώς τη διατροφική έκθεση χωρών για τις οποίες δεν υπάρχουν διαθέσιμα εθνικά δεδομένα¹⁴⁶.

Η αξιολόγηση της διατροφικής έκθεσης συνδυάζει δεδομένα κατανάλωσης τροφίμων με δεδομένα συγκέντρωσης των χημικών ουσιών στα τρόφιμα και το αποτέλεσμα μπορεί να συσχετισθεί περαιτέρω με την κατάσταση της υγείας. Τόσο για την περίπτωση της χρόνιας, όσο και για αυτή της οξείας έκθεσης σε χημικούς ρύπους η διατροφική έκθεση περιγράφεται από τη γενική εξίσωση:

$$\text{Διατροφική Έκθεση} = \frac{(\text{Μέση συγκέντρωση χημικής ένωσης στο τρόφιμο} * \text{Κατανάλωση τροφίμου})}{\text{Βάρος (kg) ατόμου}}$$

, ενώ το αποτέλεσμα εκφράζεται συνήθως είτε ως Ημερήσια Πρόσληψη- Daily Intake (D.I.) ή ως Εβδομαδιαία Πρόσληψη- Weekly Intake (W.I.).

Με βάση αυτό το αποτέλεσμα αξιολογείται η επικινδυνότητα της έκθεσης σε οργανικούς ρύπους, με διάφορες προσεγγίσεις που σχετίζονται με τον

εξεταζόμενο ρύππο και τις τοξικολογικές και επιδημιολογικές μελέτες που υπάρχουν για αυτόν. Στις προσεγγίσεις αυτές περιλαμβάνονται τα ανεκτά εβδομαδιαία ή ημερήσια όρια πρόσληψης των ρύπων (Tolerable Weekly/Daily Intake-TW/DI), η προσέγγιση της δόσης αναφοράς (Benchmark Dose-MD), η εφ' όρου ζωής μέση ημερήσια δόση (Lifetime Average Daily Dose-LADD) κ.α.

Η ακριβής και έγκυρη καταγραφή των διατροφικών συνηθειών και των δεδομένων κατανάλωσης τροφίμων δεν είναι εύκολη υπόθεση. Ακόμη και όταν επιλέγεται η καλύτερη δυνατή μέθοδος ή συνδυασμός μεθόδων, εισάγονται παράλληλα πηγές αβεβαιότητας και σφαλμάτων στον προσδιορισμό τα οποία και πρέπει να ληφθούν υπόψη για την ανάλυση και ερμηνεία των αποτελεσμάτων. Για να πραγματοποιηθεί μια σχετικά πετυχημένη διατροφική αξιολόγηση θα πρέπει ο στόχος της μελέτης να είναι εξ αρχής αποσαφηνισμένος, ώστε να επιλεχθούν τα κατάλληλα εργαλεία και το πρωτόκολλο εργασίας να εναρμονίζεται με τις οδηγίες και συστάσεις που έχουν θεσπίσει οι αρμόδιοι φορείς για την εκτίμηση των χημικών ρύπων στα τρόφιμα. Η προσέγγιση και οι μέθοδοι που επιλέγονται εξαρτώνται από μια πληθώρα παραμέτρων όπως, οι ομάδες των χημικών ενώσεων που εξετάζονται, η τοξικότητα που επιδεικνύουν, η πληθυσμιακή ομάδα που συμμετέχει στη μελέτη, οι πόροι, οι τεχνολογίες και οι αναλυτικές μέθοδοι που διατίθενται, το χρονικό πλαίσιο διεξαγωγής της μελέτης και άλλα που πρέπει να ληφθούν υπόψη προκειμένου τα αποτελέσματα να είναι αξιόπιστα και να μην υπάρξει υποεκτίμηση ή υπερεκτίμηση της έκθεσης¹⁴⁷.

2.2.1 Μέθοδοι συλλογής δεδομένων κατανάλωσης τροφίμων

Για να εκτιμηθεί η διατροφική πρόσληψη των χημικών ρύπων θα πρέπει να συλλεχθούν τα απαραίτητα δεδομένα κατανάλωσης τροφίμων. Υπάρχουν δύο πηγές- τρόποι, οι οποίοι δίνουν πρόσβαση σε αυτή την πληροφορία:

1. Δεδομένα διαθεσιμότητας τροφίμων σε εθνικό επίπεδο- κατά κεφαλή κατανάλωση (per capita consumption)

Η κατά κεφαλή κατανάλωση αναφέρεται στη διαθέσιμη ποσότητα τροφής/ ενέργειας/ θρεπτικών συστατικών ανά άτομο την ημέρα. Τα δεδομένα αυτά λαμβάνονται από το άθροισμα της παραγωγής τροφίμων και των εισαγωγών

αφαιρώντας από αυτό το άθροισμα των εξαγωγών και των τροφίμων που προορίζονται για κατανάλωση από τα ζώα και λαμβάνοντας υπόψη τυχόν απώλειες λόγω αποθήκευσης, μεταφοράς, διανομής κ.λπ. Αν και ο υπολογισμός αυτός είναι σχετικά εύκολος και πραγματοποιείται με τη χρήση στατιστικών μοντέλων τα δεδομένα που προκύπτουν δεν είναι συγκρίσιμα μεταξύ των χωρών, αναφέρονται στην ποσότητα των τροφίμων που είναι διαθέσιμα προς κατανάλωση και όχι απαραίτητα σε αυτή που καταναλώνεται πραγματικά και δεν συμπεριλαμβάνουν τις εξατομικευμένες διατροφικές συνήθειες.

Η προσέγγιση αυτή μπορεί να πραγματοποιηθεί και σε επίπεδο νοικοκυριού, με ένα μέλος του να καταγράφει τα τρόφιμα που αγοράζονται, προσφέρονται, καλλιεργούνται, γενικώς συλλέγονται στο σπίτι προς κατανάλωση για ένα συγκεκριμένο χρονικό διάστημα. Και σε αυτή την περίπτωση, η μέθοδος υστερεί ως προς την πληροφορία της τελικής κατανάλωσης των τροφίμων.

2. Δεδομένα κατανάλωσης τροφίμων σε εξατομικευμένο επίπεδο ή σε επίπεδο νοικοκυριού (individual and household level)

Οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για τον υπολογισμό της κατανάλωσης τροφίμων σε ατομικό επίπεδο ή σε ένα νοικοκυριό είναι πολλές και μπορούν να ταξινομηθούν με διάφορους τρόπους: σε προοπτικές και αναδρομικές μεθόδους, ποσοτικές και ποιοτικές, μέθοδοι συλλογής πραγματικών δειγμάτων τροφίμων και συλλογής ερωτηματολογίων. Η επιλογή της μεθόδου εξαρτάται από παράγοντες όπως η ηλικία των συμμετεχόντων, το μορφωτικό τους επίπεδο, κοινωνικο-οικονομικά χαρακτηριστικά και φυσικά τους πόρους που διατίθενται για τη διεξαγωγή της μελέτης. Πιο αναλυτικά, για τον υπολογισμό κατανάλωσης τροφίμων σε εξατομικευμένο επίπεδο ή σε επίπεδο νοικοκυριού χρησιμοποιούνται οι παρακάτω μέθοδοι¹⁴⁸:

α) Ημερολόγιο καταγραφής τροφίμων

Περιλαμβάνει τη λεπτομερή καταγραφή όλων των τροφίμων και ποτών που καταναλώνονται σε μία δεδομένη χρονική περίοδο (συνήθως 3 - 7 ημέρες), καθώς και λεπτομέρειες για τη συντήρηση των τροφίμων, το μαγείρεμα, το βάρος της καταναλισκόμενης μερίδας κ.α. Θεωρείται ως μέθοδος αναφοράς

(gold standard) και χρησιμοποιείται στον έλεγχο της εγκυρότητας άλλων μεθόδων.

β) Ανάκληση 24ώρου και 48ωρου

Στη μέθοδο αυτή ζητείται, μέσω συνέντευξης, από τους συμμετέχοντες να εκτιμήσουν την ποσότητα του κάθε τροφίμου που κατανάλωσαν τις προηγούμενες 24 ή 48 ώρες, καθώς και λεπτομέρειες για το μαγείρεμα κτλ. Για να είναι πιο αξιόπιστα τα δεδομένα, οι συνεντεύξεις είναι δυνατό να επαναληφθούν σε μεταγενέστερη χρονική περίοδο, αν και το τελικό αποτέλεσμα επηρεάζεται σημαντικά από την ικανότητα που έχουν οι συμμετέχοντες να ανακαλέσουν σωστά τις διατροφικές τους επιλογές.

γ) Διατροφικό ιστορικό

Αποτελεί τη διευρυμένη έννοια της ανάκλησης 24ώρου, μιας και ο συμμετέχων καλείται να ανακαλέσει πληροφορίες για τη διατροφή του για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, έως και ένα χρόνο, χωρίς ωστόσο να παρέχει λεπτομερείς πληροφορίες, αλλά το γενικό διατροφικό μοτίβο που ακολουθεί^{145,148,149}.

δ) Διατροφικό ερωτηματολόγιο συχνότητας (Food Frequency Questionnaires- FFQ)

Τα ερωτηματολόγια αυτά έχουν σχεδιαστεί ώστε να εξάγουν ποιοτικές, περιγραφικές πληροφορίες σχετικά με τις εξατομικευμένες διατροφικές συνήθειες. Περιλαμβάνουν μια αναλυτική λίστα με ομάδες τροφίμων, ποτά, συμπληρώματα διατροφής κ.λπ. η οποία συμπληρώνεται από τον συμμετέχοντα ως προς τις διατροφικές του επιλογές, τη συχνότητα με την οποία καταναλώνει κάθε είδος/ ομάδα τροφίμου και τις ποσότητες, για τουλάχιστον ένα μήνα. Οι μελέτες μεγάλης κλίμακας, π.χ. εθνικές και επιδημιολογικές μελέτες, κάνουν συστηματική χρήση των FFQ, ώστε να διερευνήσουν τη πιθανή συσχέτιση των διατροφικών συνηθειών με την εκδήλωση ασθενειών¹⁵⁰.

ε) Μέθοδος Εις Διπλούν Δίαιτας (Duplicate diet/portion study- DDS)

Η μέθοδος αυτή αποτελεί παράλληλα μέθοδο συλλογής δεδομένων κατανάλωσης τροφίμων αλλά και διατροφικής αξιολόγησης, όπως θα δούμε παρακάτω. Ζητείται από τον συμμετέχοντα του νοικοκυριού να προετοιμάσει μία επιπλέον ποσότητα- μερίδα τροφής (την ποσότητα εκείνη που θα καταναλώνεται από έναν ενήλικα σε μια μέρα) ακριβώς όπως καταναλώνεται, για όλα τα γεύματα και σνακ της ημέρας και για ορισμένο αριθμό ημερών. Το «αντίγραφο» αυτό των γευμάτων, αποθηκεύεται ώστε να αναλυθεί αργότερα στο εργαστήριο για την επιβάρυνσή του σε χημικούς ρύπους. Αν και η μέθοδος αυτή μπορεί να επιβαρύνει οικονομικά τους συμμετέχοντες και να μη συμπεριλαμβάνει το φαινόμενο της εποχικότητας στη διατροφή, παρουσιάζει μεγάλη ακρίβεια ως προς τα δεδομένα που εξάγονται μιας και εξετάζει την παρουσία των χημικών ρύπων στο τελικό προϊόν που καταναλώνεται, άρα δίνει σαφή εικόνα για το τι τελικά προσλαμβάνει ο οργανισμός μέσω της διατροφής. Ειδικότερα, για την περίπτωση των ΠΑΥ που οι τεχνικές συντήρησης και αποθήκευσης και το μαγείρεμα παίζουν καθοριστικό ρόλο στα τελικά επίπεδα των ρύπων στο τρόφιμο, φαίνεται πως η μέθοδος της εις διπλούν δίαιτας είναι αξιόπιστη για τον προσδιορισμό τους. Ωστόσο, χρησιμοποιώντας αυτή τη μέθοδο δεν μπορούμε να γνωρίζουμε με βεβαιότητα την πηγή επιβάρυνσης των τροφίμων και για να είναι αντιπροσωπευτικό το αποτέλεσμα πρέπει να περιλαμβάνει ικανοποιητικό αριθμό συμμετεχόντων.

Ανεξάρτητα της μεθόδου, τα δεδομένα κατανάλωσης τροφίμων που υπάρχουν για μια πληθυσμιακή ομάδα πρέπει να αντανakλούν τα συνήθη διατροφικά μοτίβα που ακολουθεί η ομάδα. Ιδανικά, η πληροφορία αυτή καθώς και τα δεδομένα κατανάλωσης θα πρέπει να προέρχονται από εθνικές μελέτες αρμόδιων φορέων, υπηρεσιών και οργανισμών, που συμπεριλαμβάνουν όλες τις πληθυσμιακές ομάδες και υποομάδες και τα αποτελέσματα τους προέρχονται ύστερα από χρόνια και εκτεταμένη έρευνα.

Πρόσφατα, η EFSA δημοσίευσε για πρώτη φορά επίσημα δεδομένα για την κατανάλωση τροφίμων μεταξύ εφήβων, ενηλίκων και ηλικιωμένων που διαμένουν μόνιμα στην Ελλάδα, με βάση τα στοιχεία ελληνικής εθνικής

έρευνας για τη διατροφή και την υγεία, που ονομάζεται ΥΔΡΙΑ, η οποία διεξήχθη από το Ελληνικό Ίδρυμα Υγείας και χρηματοδοτήθηκε από την EFSA¹⁵¹.

2.2.2 Μέθοδοι διατροφικής αξιολόγησης

Σύμφωνα με τον ΠΟΥ, τρεις είναι οι βασικές μέθοδοι διατροφικής αξιολόγησης οι οποίες, σε συνδυασμό με τα δεδομένα κατανάλωσης τροφίμων που περιγράφηκαν προηγουμένως, καθιστούν δυνατή την εκτίμηση της πρόσληψης των χημικών ρύπων μέσω της διατροφής¹⁴⁸:

1. Στοχευόμενες μελέτες τροφίμων

Η προσέγγιση αυτή περιλαμβάνει την ανίχνευση των επιπέδων των χημικών ρύπων σε ένα αντιπροσωπευτικό αριθμό δειγμάτων τροφίμων, νωπών ή μαγειρεμένων. Η ημερήσια πρόσληψη ενός ρύπου υπολογίζεται από τον πολλαπλασιασμό της μέσης συγκέντρωσης του με την τιμή της ημερήσιας κατανάλωσης του τροφίμου. Η μέθοδος αυτή είναι ιδιαίτερα χρήσιμη και για την παρακολούθηση των επιπέδων των ρύπων σε περιπτώσεις που υπάρχουν ανώτατα θεσπισμένα όρια παρουσίας αυτών στα τρόφιμα.

2. Μέθοδος Εις Διπλούν Δίαιτας (DDS)

Όπως περιγράφηκε προηγουμένως, η μέθοδος αυτή περιλαμβάνει τη συλλογή ημερήσιων γευμάτων πανομοιότυπων με αυτών που καταναλώνει ο συμμετέχοντας, για μια χρονική περίοδο (Κεφάλαιο 2.2.1). Επομένως, μετά τη συλλογή ακολουθεί η ανάλυση και ο υπολογισμός της συγκέντρωσης των ρύπων, με το αποτέλεσμα να ανάγεται και να εκφράζεται απευθείας σε ημερήσια πρόσληψη. Για ευκολία, είναι δυνατή η συλλογή μικρότερης και όχι ίδιας σε ποσότητα μερίδας με αυτή που καταναλώνει ο συμμετέχων, αν και σε αυτή την περίπτωση απαιτείται ζύγιση της κανονικής μερίδας από τον συμμετέχοντα, ώστε να γίνει η αναγωγή του αποτελέσματος.

3. Ολική διατροφική μελέτη (Total diet study - TDS)

Η πορεία εργασίας περιλαμβάνει την επιλογή τροφίμων με βάση τα στοιχεία κατανάλωσης μιας ομάδας συμμετεχόντων, την προετοιμασία τους και το μαγείρεμα όπως ακριβώς θα καταναλώνονταν από τους συμμετέχοντες και σε

αντίστοιχες ποσότητες. Στη συνέχεια, ακολουθεί η ανάλυση και η μέτρηση των μέσων συγκεντρώσεων των ρύπων, με το αποτέλεσμα και εδώ να εκφράζεται απευθείας σε ημερήσια πρόσληψη. Οι ολικές διατροφικές μελέτες χρησιμοποιούνται κυρίως από μεγάλους φορείς, οργανισμούς και ιδρύματα για τη διερεύνηση των επιπέδων των χημικών ρύπων. Έως σήμερα, πάνω από 50 χώρες έχουν πραγματοποιήσει τουλάχιστον μία ολική διατροφική μελέτη ώστε να προασπίσουν τη δημόσια υγεία^{152,153}.

Όπως είναι φυσικό, σε κάθε μελέτη μπορούν να χρησιμοποιούνται διάφοροι συνδυασμοί μεθόδων συλλογής δεδομένων κατανάλωσης τροφίμων και διατροφικής αξιολόγησης, ανάλογα με το σκοπό, το εύρος και τα μέσα που υπάρχουν. Επί του παρόντος δεν υπάρχουν Κοινοτικές απαιτήσεις από την Ευρωπαϊκή Επιτροπή σχετικά με τη συλλογή δεδομένων για την κατανάλωση τροφίμων σε ατομικό επίπεδο και τη διατροφική εκτίμηση. Παρ'όλα αυτά, οι εθνικές διατροφικές έρευνες που έχουν ήδη διεξαχθεί σε πολλές ευρωπαϊκές χώρες μπορούν να χρησιμοποιούνται είτε σαν πηγή δεδομένων κατανάλωσης τροφίμων ή σαν μοντέλα διατροφικής αξιολόγησης από έρευνες μικρότερης κλίμακας¹⁵⁴.

2.3 Βιβλιογραφική ανασκόπηση έκθεσης του πληθυσμού σε ΠΑΥ μέσω της διατροφής

Οι κατηγορίες τροφίμων που συμβάλλουν στην έκθεση του πληθυσμού σε ΠΑΥ μέσω της διατροφής καθορίζονται είτε από τα επίπεδα των ΠΑΥ σε αυτά ή από τις ποσότητες κατανάλωσης τους. Το 2008 η EFSA, βασιζόμενη στα στοιχεία και τις πληροφορίες που έδωσαν τα κοινοτικά Εθνικά Εργαστήρια Αναφοράς για τους ΠΑΥ στα τρόφιμα δημοσίευσε εκτός των άλλων και δεδομένα για τη διατροφική πρόσληψη και έκθεση σε ΠΑΥ στην Ευρώπη (Πίνακας 4). Για τον υπολογισμό της διατροφικής πρόσληψης χρησιμοποιήθηκαν οι ανώτερες συγκεντρώσεις (upperbound) των ΠΑΥ στα τρόφιμα, δηλαδή για όσους δεν ήταν ανιχνεύσιμοι η συγκέντρωσή τους θεωρήθηκε ίση με το LOQ, μιας και όταν μελετάται η έκθεση του ανθρώπου σε τοξικούς ρύπους είναι προτιμότερο να εξετάζεται το «χειρότερο σενάριο», αυτό της μέγιστης δυνατής έκθεσης.

Πίνακας 4: Μέση κατανάλωση και μέσες (upperbound) συγκεντρώσεις ΠΑΥ ανά κατηγορία τροφίμων

	Μέση κατανάλωση g ημέρα ⁻¹	B[a]P ng ημέρα ⁻¹	ΠΑΥ2 ng ημέρα ⁻¹	ΠΑΥ4 ng ημέρα ⁻¹	ΠΑΥ8 ng ημέρα ⁻¹
Δημητριακά και προϊόντα δημητριακών	257	67	129	257	393
Ζάχαρη και προϊόντα ζάχαρης, σοκολάτα	43	5	13	25	39
Λίπη (ζωικής και φυτικής προέλευσης)	38	26	112	177	239
Φρούτα, όσπρια, ξηροί καρποί	194	50	124	221	378
Καφές, τσάι, κακάο	601	21	55	106	156
Αλκοολούχα ποτά	413	4	12	25	74
Κρέας και προϊόντα του κρέατος	132	42	107	195	279
Θαλασσινά και προϊόντα θαλασσινών	27	36	140	289	421
Ψάρια και προϊόντα αλιείας	41	21	84	170	210
Τυριά	42	6	12	20	30

Οι δύο κατηγορίες που βρέθηκαν να συνεισφέρουν περισσότερο στη διατροφική έκθεση ήταν τα δημητριακά και τα προϊόντα δημητριακών, λόγω υψηλής κατανάλωσης και τα θαλασσινά και προϊόντα θαλασσινών, λόγω της επιβάρυνσης τους σε ΠΑΥ.

Αναφορικά με τη συνολική διατροφική επιβάρυνση σε ΠΑΥ, δεδομένου ότι χρησιμοποιήθηκαν διαφορετικές μεθοδολογίες για την εκτίμηση της κατανάλωσης στις διάφορες χώρες, λήφθηκε η διάμεση τιμή των μέσων συγκεντρώσεων όλων των χωρών και υπολογίσθηκε σε 235 ng ημέρα⁻¹ (3,9 ng kg⁻¹ σωματικού βάρους ανά ημέρα, για ένα υποθετικό βάρος 60 kg) για το βενζο[a]πυρένιο και 1729 ng ημέρα⁻¹ (28,8 ng kg⁻¹ σωματικού βάρους ανά ημέρα, για ένα υποθετικό βάρος 60 kg) για τους ΠΑΥ8. Η Ελλάδα συμμετείχε

στη μελέτη με δεδομένα από την ανάλυση 362 δειγμάτων τροφίμων, από το Χημείο του Κράτους⁷⁵.

Οι Martorell et al.¹⁵⁵ σε μελέτη τους το 2012 υπολόγισαν τη διατροφική έκθεση σε ΠΑΥ ενός μέσου ενήλικα που ζει στην περιοχή της Καταλονίας στα 59,2 μg ημέρα⁻¹, για το άθροισμα των μέσων συγκεντρώσεων 16 ΠΑΥ της Ε.Ε., με βάση τη Μέθοδο της Εις Διπλούν Δίαιτας (DDS). Με την ίδια μέθοδο, σε πρόσφατη μελέτη η ημερήσια διατροφική έκθεση εγκύων σε δύο πόλεις της Τσεχίας υπολογίσθηκε στα 142 ng ημέρα⁻¹ και 109 ng ημέρα⁻¹ για το άθροισμα των συγκεντρώσεων 20 ΠΑΥ¹⁵⁶. Χρησιμοποιώντας τη Μέθοδο της Ολικής Διατροφικής Μελέτης (TDS) οι Veyrand et al.¹⁵⁷ το 2013 υπολόγισαν τη διατροφική έκθεση σε ΠΑΥ4 για τον ενήλικο πληθυσμό της Γαλλίας στα 1,48 ng kg⁻¹ σωματικού βάρους ανά ημέρα και για τα παιδιά στα 2,26 ng kg⁻¹ σωματικού βάρους ανά ημέρα, ενώ η Εθνική Υπηρεσία Τροφίμων της Σουηδίας (Swedish National Food Agency) εκτίμησε την ημερήσια διατροφική έκθεση για το βενζο[α]πυρένιο στα 50 ng ημέρα⁻¹ και για τους ΠΑΥ4 στα 276 ng ημέρα⁻¹¹⁵⁸.

Μεμονωμένες μελέτες εκτίμησης της διατροφικής πρόσληψης ΠΑΥ, όπως οι προαναφερθείσες, έχουν διεξαχθεί σε αρκετές ευρωπαϊκές χώρες με τα αποτελέσματα να παρουσιάζουν μεγάλες διακυμάνσεις, τόσο λόγω της ποικιλίας των αναλυτικών μεθόδων που χρησιμοποιούνται όσο και των διαφόρων μεθόδων διατροφικής αξιολόγησης.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

3.1 Προσδιορισμός πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων σε τρόφιμα

Η Ευρωπαϊκή Ένωση έχει υιοθετήσει επίσημη στρατηγική για τον έλεγχο της παρουσίας των ΠΑΥ στα τρόφιμα, θεσπίζοντας ανώτατα επιτρεπτά όρια συγκεντρώσεων των ενώσεων αυτών σε διάφορες κατηγορίες τροφίμων (Παράγραφος 1.2.2), καθορίζοντας συγκεκριμένες πρακτικές για τις μεθόδους δειγματοληψίας και τέλος, θέτοντας απαιτήσεις και κριτήρια ποιότητας των αναλυτικών τεχνικών που χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση και ποσοτικοποίηση των ΠΑΥ.

Οι απαιτήσεις για το μέγεθος του δείγματος (Ε.Κ. 333/2007) διαφέρουν ανάλογα με τον τύπο και το βάρος της παρτίδας από την οποία λαμβάνεται, προκειμένου να ληφθούν δείγματα που να είναι αντιπροσωπευτικά για την αντίστοιχη παρτίδα. Η δειγματοληψία πρέπει να πραγματοποιείται με τρόπο που να εξασφαλίζει ότι τα δείγματα δεν θα επιμολυνθούν κατά τη δειγματοληψία και προκατεργασία τους, ενώ τα υλικά συσκευασίας πρέπει να είναι από αδρανή υλικά όπως αλουμίνιο, γυαλί ή ανοξείδωτο ατσάλι. Πλαστικά όπως το πολυπροπυλένιο πρέπει να αποφεύγονται επειδή οι ΠΑΥ μπορούν να προσροφηθούν σε τέτοια υλικά, ενώ τα δείγματα δεν πρέπει να εκτίθενται στην ηλιακή ακτινοβολία και σε υψηλές θερμοκρασίες¹⁵⁹.

Όσον αφορά τις αναλυτικές μεθόδους, η Ε.Ε. δεν ορίζει αυστηρή εφαρμογή συγκεκριμένων μεθόδων ανάλυσης, αλλά επιτρέπει στα εργαστήρια να χρησιμοποιούν διαφορετικές μεθόδους, υπό την προϋπόθεση ότι πληρούν ορισμένα αναλυτικά κριτήρια. Οι παράμετροι επικύρωσης των αναλυτικών κριτηρίων, με βάση τους Ε.Κ. 836/2011 και Ε.Κ. 657/2002, είναι η ειδικότητα της μεθόδου, η ακρίβεια, η επαναληψιμότητα, κ.α., η χρήση πιστοποιημένου πρότυπου υλικού αναφοράς (Certified Reference Material- CRM), οι ανακτήσεις οι οποίες πρέπει να κυμαίνονται μεταξύ 50% και 120%, ενώ τα όρια ανίχνευσης (Limit of detection-LOD) και ποσοτικοποίησης (Limit of quantitation-LOQ) ορίζονται ως χαμηλότερα από $0,30 \mu\text{g kg}^{-1}$ και $0,90 \mu\text{g kg}^{-1}$, αντιστοίχως, για κάθε έναν από τους ΠΑΥ^{160,161}.

Ανάλογα με τους αναλύτες-στόχους, το είδος του τροφίμου και την τεχνική ποσοτικοποίησης οι μέθοδοι προσδιορισμού ΠΑΥ που έχουν αναπτυχθεί διαφέρουν σημαντικά. Ωστόσο, όλες οι πορείες εργασίας περιλαμβάνουν το στάδιο εκχύλισης, το στάδιο καθαρισμού του εκχυλίσματος και το τελικό στάδιο της ποσοτικοποίησης.

3.2 Προκατεργασία δειγμάτων

3.2.1 Τεχνικές εκχύλισης

Η πιο συνηθισμένη μέθοδος εκχύλισης των ΠΑΥ στα τρόφιμα που περιέχουν λιπαρές ύλες περιλαμβάνει ένα στάδιο σαπωνοποίησης των λιπαρών οξέων με διάλυμα ΚΟΗ ή ΝαΟΗ, ακολουθούμενο από ένα στάδιο υγρής υγρής εκχύλισης (liquid liquid extraction-LLE) με διάφορους διαλύτες όπως διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO), κυκλοεξάνιο ή εξάνιο κ.α. για την απομόνωση των ΠΑΥ οι οποίοι βρίσκονται στο κλάσμα που δεν έχει σαπωνοποιηθεί. Άλλες παραδοσιακές μέθοδοι εκχύλισης είναι η στερεή-υγρή εκχύλιση (solid-liquid extraction-SLE) με διάφορους διαλύτες ή μίγματά τους, πχ. εξάνιο ή εξάνιο/ ακετόνη και η εκχύλιση σε συσκευή Soxhlet με μίγμα διαλυτών εξανίου και διχλωρομεθανίου, ενώ πιο σύγχρονες αυτοματοποιημένες μέθοδοι αποτελούν η εκχύλιση με μικροκύματα (Microwave-assisted extraction-MAE), η εκχύλιση υγρού υπό πίεση (Pressurized Liquid Extraction-PLE) κ.α. Σε πολλές περιπτώσεις λυοφιλοποίηση του δείγματος προηγείται της εκχύλισης. Για τα τρόφιμα εκείνα που δεν περιέχουν λιπαρά η εκχύλιση πραγματοποιείται ως επί το πλείστον με υγρή υγρή εκχύλιση ή με τη χρήση υπερήχων¹⁶².

3.2.2 Τεχνικές καθαρισμού

Η τεχνική καθαρισμού των εκχυλισμάτων είναι καθοριστικής σημασίας για την απομάκρυνση τόσο του λίπους όσο και των παρεμποδίζουσών ουσιών, ώστε οι ΠΑΥ που βρίσκονται σε ίχνη να ταυτοποιηθούν και να ποσοτικοποιηθούν με επιτυχία. Η χρωματογραφία στήλης και η εκχύλιση στερεάς φάσης (solid phase extraction – SPE) με διάφορα πληρωτικά υλικά, όπως γέλη πυριτίας (silica), οξείδιο του αργιλίου (alumina), πυριτικό μαγνήσιο (florisil), C18,

πολυμερή του διβινυλοβενζο στυρενίου και αμινο-προπυλ-τριμεθυλ-σιλοξάνιο χρησιμοποιούνται ευρέως για τον καθαρισμό, με το κάθε υλικό να παρουσιάζει τα πλεονεκτήματα και τα μειονεκτήματα του. Το βασικό σημείο στην επιλογή του πληρωτικού υλικού είναι η ικανότητά του να απομακρύνει επιτυχώς το λίπος. Η χρήση υλικών που έχουν υποστεί επεξεργασία με οξύ, απομακρύνοντας επιτυχώς μεγάλες ποσότητες λίπους, οδηγεί σε χαμηλές ανακτήσεις γι' αυτό και δεν προτιμάται. Η ενεργοποιημένη (silica) και η ουδέτερη και βασική alumina, σε συνδυασμό με κατάλληλο μίγμα διαλυτών έκλουσης φαίνεται πως κατακρατούν το λίπος και δίνουν εκχυλίσματα απαλλαγμένα από παρεμποδίζουσες ουσίες¹⁶³. Τα τελευταία χρόνια οι μέθοδοι τύπου QuEChERS (quick, easy, cheap, effective, rugged, safe) που αναπτύχθηκαν αρχικά για τον προσδιορισμό φυτοφαρμάκων στα τρόφιμα από τον Michelangelo Anastassiades¹⁶⁴, φαίνεται να βρίσκουν τη θέση τους μεταξύ των τεχνικών ανάλυσης των ΠΑΥ, ωστόσο η καταλληλότητά τους για την εφαρμογή αυτή είναι ακόμη υπό διερεύνηση.

3.3 Τεχνικές ποσοτικοποίησης

Οι δύο κύριες τεχνικές για τον ποσοτικό προσδιορισμό των ΠΑΥ στα τρόφιμα είναι η Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης με Ανιχνευτή Διάταξης Διόδων και Φθορισμομετρικό Ανιχνευτή (High Performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detection HPLC-FLD) και η Αέρια Χρωματογραφία συζευγμένη με Φασματομετρία μάζας (Gas Chromatography coupled with Mass Spectrometry-GC/MS). Παλιότερες οργανολογίες HPLC με υπεριώδη ανιχνευτή (UV) και GC με ανιχνευτή φλόγας (FID) θεωρούνται ξεπερασμένες λόγω της χαμηλής ειδικότητας και ευαισθησίας τους.

Η HPLC-FLD έχει εφαρμοστεί ευρέως για τον προσδιορισμό των ΠΑΥ σε τρόφιμα και ποτά, καθώς είναι μία σχετικά φθηνή και απλή τεχνική, σε σύγκριση με άλλα συστήματα ανίχνευσης. Οι φασματομετρικές μέθοδοι σε συνδυασμό με την αέρια χρωματογραφία παρουσιάζουν υψηλή εξειδίκευση και εκλεκτικότητα και επιτρέπουν την ποσοτικοποίηση των ΠΑΥ που δε φθορίζουν, όπως το βενζο[g,h,i]περυλένιο και το ακεναφθυλένιο¹⁶⁵.

Αν και η χρήση ενός τετραπολικού αναλυτή είναι επαρκής για τον προσδιορισμό των ΠΑΥ σε τρόφιμα που αναμένουμε να έχουν σχετικά υψηλές συγκεντρώσεις, η παρακολούθηση των συγκεντρώσεων τους στα επίπεδα του υποβάθρου και στα πλαίσια monitoring απαιτεί τη χρήση αναλυτών σε σειρά (MS/MS). Τα τελευταία χρόνια επίσης, αναλυτές μαζών χρόνου πτήσης (Time Of Flight-TOF) και υψηλής διαχωριστικής ικανότητας (High Resolution-HR) χρησιμοποιούνται στην ανάλυση των ΠΑΥ στα τρόφιμα όμως η βιβλιογραφία μέχρι στιγμής είναι περιορισμένη.

3.4 Η μέθοδος της ισοτοπικής αραίωσης με χρήση επισημασμένων εσωτερικών προτύπων

Η ισοτοπική αραίωση αποτελεί την πλέον ειδική, ευαίσθητη και υψηλής ακρίβειας μέθοδο για τον ποσοτικό προσδιορισμό μιας ένωσης ακόμα και σε ίχνη της τάξεως των ppt. Χρησιμοποιείται εδώ και περίπου 60 χρόνια στην χημική ανάλυση. Αναπτύχθηκε το 1954 από τον Mark Inghram ως εργαλείο για την ανάλυση ουσιών σε ίχνη και βασίζεται στη μέθοδο προσθήκης εσωτερικού προτύπου. Πριν την έναρξη της ανάλυσης απαιτείται η προσθήκη σε κάθε άγνωστο δείγμα αλλά και στο τυφλό δείγμα γνωστής ποσότητας ισοτοπικώς επισημασμένου διαλύματος εσωτερικού προτύπου (working solution), ανάλογο του αναλύτη. Στο πρότυπο αυτό έχουν ενσωματωθεί ένα ή περισσότερα άτομα ^{13}C ή ^2H . Θεωρούμε ότι κατά τη διάρκεια της ανάλυσης τα επισημασμένα μόρια συμπεριφέρονται κατά τον ίδιο τρόπο με τα μη επισημασμένα. Στο τέλος της ανάλυσης προστίθεται επίσης ένα επισημασμένο πρότυπο (injection standard) με μία ένωση της ομάδας που μελετάται, η οποία όμως δεν υπάρχει στο προς ανάλυση δείγμα. Τα σχετικά πρότυπα (working solution, calibration solution και injection solution) χρησιμοποιούνται ως οδηγοί για την ταυτοποίηση και τον προσδιορισμό των ενώσεων ενδιαφέροντος. Ο ποσοτικός προσδιορισμός πραγματοποιείται με μέτρηση του λόγου σήματος αναλύτη προς το σήμα του επισημασμένου προτύπου, ο οποίος αντιστοιχεί στο λόγο των συγκεντρώσεων. Στο πειραματικό μέρος, στην παράγραφο 5.3 «Παρασκευή προτύπων διαλυμάτων» πραγματοποιείται εκτεταμένη αναφορά των επισημασμένων και μη προτύπων διαλυμάτων που χρησιμοποιούνται στην ανάλυση των ΠΑΥ.

Συνοπτικά, η συγκέντρωση των προς ανάλυση ενώσεων υπολογίζεται από τον παρακάτω τύπο¹⁶⁶:

$$C \text{ (ng mL}^{-1}\text{)} = (A * C_{\text{επ}}) / (A_{\text{επ}} * \text{RRF})$$

Όπου A: Συνολικό εμβαδό κορυφών των προσδιοριζόμενων ενώσεων

A_{επ}: Συνολικό εμβαδό κορυφών των επισημασμένων ενώσεων

C_{επ}: Συγκέντρωση των επισημασμένων ενώσεων

RRF: Σχετική απόκριση των επισημασμένων ως προς τις μη επισημασμένες ενώσεις.

Επιπλέον, με τον προσδιορισμό της ανακτώμενης ποσότητας των επισημασμένων προτύπων (working solution) διαπιστώνεται αν υπήρξαν απώλειες κατά την επεξεργασία του δείγματος.

Η ανάκτηση του επισημασμένου προτύπου υπολογίζεται λαμβάνοντας υπόψη την τελική συγκέντρωση του επισημασμένου με ²H προτύπου διαλύματος (working solution), αφού έχει υποστεί την ίδια επεξεργασία με τα δείγματα εξ' αρχής της ανάλυσης, και τη συγκέντρωση του επισημασμένου πρότυπου διαλύματος που προστέθηκε πριν την ανάλυση. Ο μαθηματικός τύπος από τον οποίο υπολογίζεται η ανάκτηση της επισημασμένης ένωσης είναι ο παρακάτω:

$$\text{Recovery (\%)} = (C_{\text{measured}} / C_{\text{spiked}}) \times 100$$

Όπου: C_{measured}: Συγκέντρωση που προσδιορίστηκε

C_{spiked}: Συγκέντρωση που προστέθηκε

Η ανάκτηση για τους ΠΑΥ πρέπει να κυμαίνεται μεταξύ 50 - 120% σύμφωνα με τους ισχύοντες κανονισμούς της Ε.Ε¹⁶⁰.

3.5 Ποσοτικός προσδιορισμός ΠΑΥ με Αέρια Χρωματογραφία συζευγμένη με Φασματομετρία Μαζών σε σειρά- Gas Chromatography coupled with Tandem Mass Spectrometry (GC-MS/MS)

Ο ποσοτικός προσδιορισμός των πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων πραγματοποιείται με τη μέθοδο της ισοτοπικής αραίωσης με τη χρήση αέριας χρωματογραφίας συζευγμένης με φασματομετρία μαζών συστοιχίας τριών τετραπόλων (GC- MS/MS).

Οι φασματογράφοι μάζας σε σειρά αποτελούνται από:

- Αέριο χρωματογράφο σαν σύστημα εισαγωγής του δείγματος.
- Πηγή ιονισμού πρόσκρουσης ηλεκτρονίων (EI), στην οποία τα ιόντα σχηματίζονται με βομβαρδισμό των μορίων με ηλεκτρόνια. Ο συνδυασμός θραυσμάτων δίνει συγκεκριμένο φάσμα μάζας που είναι χαρακτηριστικό για κάθε ένωση.
- Τριπλό τετράπολο ως αναλυτή μάζας. Στη διάταξη αυτή, μετά τη δημιουργία τους από την πηγή ιόντων EI, τα ιόντα επιταχύνονται και οδηγούνται στο πρώτο τετραπολικό φίλτρο όπου διαχωρίζονται με βάση το λόγο m/z και επιλέγεται μόνο ένα ιόν το οποίο εισέρχεται στο δεύτερο τετράπολο όπου συγκρούεται με περίσσεια αδρανούς αερίου και διασπάται παράγοντας θυγατρικά ιόντα. Αυτά εισέρχονται στο τρίτο τετράπολο όπου διαχωρίζονται και καταγράφονται.
- Ηλεκτρονιοπολλαπλασιαστή σαν ανιχνευτή ιόντων, ο οποίος παράγει στην έξοδο του ηλεκτρικό σήμα ανάλογο του αριθμού ιόντων που δέχεται στην είσοδό του και του φορτίου τους. Ο τύπος αυτός ανιχνευτή επιτυγχάνει πολλαπλασιασμό της δέσμης των ηλεκτρονίων άρα και ενίσχυση του σήματος.

3.6 Επικύρωση Μεθόδων

Σύμφωνα με την οδηγία της EURACHEM “The fitness for purpose of analytical methods- A laboratory guide to method validation and related topics”¹⁶⁷ και τις Ευρωπαϊκές οδηγίες 836/2011 και 657/2002^{160,161}, για την αξιολόγηση μίας αναλυτικής μεθόδου εξετάζονται συγκεκριμένες παράμετροι.

Η ειδικότητα, ορθότητα, η πιστότητα, η γραμμικότητα, τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης, η ευαισθησία και η ανθεκτικότητα είναι οι παράμετροι εκείνες που πρέπει να υπολογιστούν ώστε να ελεγχθεί η αξιοπιστία της μεθόδου. Επιγραμματικά:

Ειδικότητα (Specificity)

Η ειδικότητα εξασφαλίζει ότι το λαμβανόμενο σήμα προέρχεται από την προς ανάλυση ένωση χωρίς επίδραση από άλλα συστατικά του δείγματος, τα οποία δεν πρέπει να παράγουν αναλυτικό σήμα.

Ακρίβεια (Accuracy)

Η ακρίβεια εκφράζει την ορθότητα και την πιστότητα της μεθόδου ανάλυσης

Η ορθότητα (trueness) ορίζεται ως η εγγύτητα μεταξύ της τιμής που προσδιορίζεται και της αληθούς τιμής. Μπορεί να προσδιοριστεί από πιστοποιημένα πρότυπα υλικά αναφοράς (CRM, Certified Reference Material) ή με τον υπολογισμό της ανάκτησης επισημασμένων πρότυπων διαλυμάτων για κάθε αναλύτη σε γνωστή συγκέντρωση.

Πιστότητα (precision)

Η πιστότητα περιλαμβάνει την επαναληψιμότητα (διαδοχικές μετρήσεις από τον ίδιο αναλυτή με ίδιες συνθήκες και αντιδραστήρια μέσα στην ίδια μέρα) και την αναπαραγωγιμότητα (μετρήσεις διαφορετικών ημερών που γίνονται υπό διαφορετικές συνθήκες, π.χ. αναλυτής, αντιδραστήρια, περιβαλλοντικές συνθήκες).

Ευαισθησία (Sensitivity)

Ευαισθησία είναι η ικανότητα της μεθόδου αφενός να διαθέτει αξιοπιστία και αφετέρου να μπορεί να διακρίνει μικρές μεταβολές στην ποσότητα του συστατικού που προσδιορίζεται. Μέτρα της ευαισθησίας είναι οι τιμές LOD και LOQ.

Όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης (LOD, LOQ)

Ως όριο ποσοτικοποίησης (LOQ) ορίζεται ως η χαμηλότερη συγκέντρωση η οποία μπορεί να προσδιοριστεί ποσοτικά με αποδεκτή ακρίβεια, ενώ ως όριο

ανίχνευσης (LOD), η ποσότητα που μπορεί να ανιχνευτεί, χωρίς όμως να μπορεί να ποσοτικοποιηθεί με αποδεκτή ακρίβεια.

Τα όρια ανίχνευσης (LOD) και ποσοτικοποίηση (LOQ) για κάθε έναν από τους ΠΑΥ4 στα τρόφιμα απαιτούνται να είναι χαμηλότερα από $0,30 \mu\text{g kg}^{-1}$ και $0,90 \mu\text{g kg}^{-1}$ αντίστοιχα¹⁶⁰.

Γραμμικότητα (Linearity)

Η γραμμικότητα αναφέρεται στη γραμμική αναλογία της συγκέντρωσης του προσδιοριζόμενου συστατικού με το αναλυτικό σήμα που λαμβάνεται από το όργανο. Στατιστική παράμετρος με την οποία ελέγχεται η γραμμικότητα είναι ο «Συντελεστής Γραμμικής Παλινδρόμησης» (R^2), ο οποίος πρέπει να είναι μεγαλύτερος από 0,99. Στη μέθοδο της ισοτοπικής αραίωσης η γραμμικότητα εξασφαλίζεται μέσω των συντελεστών σχετικής απόκρισης (RRF), η τιμή των οποίων πρέπει να παραμένει σταθερή σε ένα εύρος συγκεντρώσεων (συντελεστής μεταβλητότητας <20%).

Ανάκτηση (Recovery)

Για τον προσδιορισμό των ενώσεων-στόχων, στις περισσότερες περιπτώσεις, απαιτείται να εφαρμοστεί κάποια προκαταρκτική επεξεργασία του δείγματος για την απομόνωση του αναλύτη από το υπόστρωμα. Η εκατοστιαία ανάκτηση ορίζεται ως ο λόγος της συγκέντρωσης που προσδιορίζεται προς την πραγματική συγκέντρωση επί εκατό και πρέπει να κυμαίνεται μεταξύ 50-120 % σύμφωνα με τους ισχύοντες κανονισμούς της Ε.Ε. για τον προσδιορισμό των ενώσεων ΠΑΥ.

Εύρος (Range)

Εύρος είναι το διάστημα από την κατώτερη έως την ανώτερη τιμή που προσδιορίζεται με ακρίβεια.

Αβεβαιότητα

Η αβεβαιότητα (uncertainty) ορίζεται ως η παράμετρος που συνδέεται με το αποτέλεσμα μιας μέτρησης και χαρακτηρίζει τη διασπορά των τιμών γύρω από την αληθή τιμή.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΣΚΟΠΙΜΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΣΤΟΧΟΙ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

Η παρούσα διδακτορική διατριβή έχει ως στόχο την ανάπτυξη μιας ευαίσθητης και εξειδικευμένης αναλυτικής μεθόδου, που σε συνδυασμό με ενδεδειγμένες μεθόδους εκτίμησης της διατροφικής έκθεσης θα καθιστούν δυνατό τον υπολογισμό της ημερήσιας πρόσληψης ΠΑΥ, ώστε να αξιολογηθεί ο κίνδυνος έκθεσης μέσω της διατροφής, ως κύριας οδού έκθεσης, στον ελληνικό πληθυσμό. Για το σκοπό αυτό:

Επιλέχθηκαν ως μελετώμενες ουσίες οι 15+1 ΠΑΥ που έχουν χαρακτηριστεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση και την EFSA ως μεταλλαξιογόνοι/γονιδιοτοξικοί και καρκινογόνοι (15 από τους 16) και οι 16 ΠΑΥ που έχουν χαρακτηριστεί από την αμερικανική EPA ως ρύποι άμεσης προτεραιότητας. Οι 8 από αυτούς είναι κοινοί με τη λίστα προτεραιότητας της EFSA, επομένως στο σύνολό τους μελετήθηκαν 26 χημικές ενώσεις.

Αναπτύχθηκαν εξειδικευμένες αναλυτικές μέθοδοι για τον προσδιορισμό των επιπέδων των ΠΑΥ στα τρόφιμα. Δοκιμάσθηκαν διάφορα πρωτόκολλα προετοιμασίας των δειγμάτων με κλασσικές μεθόδους ανάλυσης. Η μεθοδολογία προσδιορισμού ΠΑΥ με τη μέθοδο της ισοτοπικής αραίωσης με χρήση επισημασμένων εσωτερικών προτύπων και χρήση βελτιστοποιημένης τεχνικής Φασματομετρίας Μαζών εξασφάλισε την απαιτούμενη υψηλή ευαισθησία και εκλεκτικότητα και βρέθηκε κατάλληλη για τη μέτρηση συγκεντρώσεων σε επίπεδο υποβάθρου (background), μιας και η παρουσία του αναλύτη στα δείγματα τροφίμων αναμένεται να είναι σε ίχνη.

Μετά την επικύρωση των μεθόδων, πραγματοποιήθηκε εφαρμογή τους σε δείγματα δίθυρων μαλακίων, τα οποία μπορούν να θεωρηθούν και ενδεικτικά της επιβάρυνσης των υδάτων από τα οποία έχουν αλιευθεί.

Προσδιορίστηκαν τα επίπεδα των ΠΑΥ σε δείγματα γευμάτων, που συλλέχθηκαν με τη βοήθεια εθελοντών και σύμφωνα με τη μέθοδο εκτίμησης της διατροφικής έκθεσης της Εισ Διπλούν Δίαιτας (Duplicate diet/portion study), με βάση την οποία έγινε και η εκτίμηση της ημερήσιας κατά κεφαλήν

πρόσληψης ΠΑΥ και η αξιολόγηση στην έκθεση σε αυτούς μέσω της διατροφής.

Οι τεχνικές ανάλυσης και εκτίμησης διατροφικής έκθεσης που αναπτύχθηκαν και ο γενικότερος σχεδιασμός, σε συνδυασμό με τη τεχνογνωσία και τα αποτελέσματα από αντίστοιχες προηγούμενες μελέτες που έχουν διεξαχθεί στο Εργαστήριο Φασματομετρίας Μάζας και Ανάλυσης Διοξινών του Ε.Κ.Ε.Φ.Ε Δημόκριτος μπορούν να αποτελέσουν εργαλείο για τη συνεχή παρακολούθηση των επιπέδων ανθεκτικών οργανικών ρύπων στον γενικό πληθυσμό. Η παρακολούθηση αυτή κρίνεται απαραίτητη, ώστε να εξαχθούν ασφαλή και αξιόπιστα συμπεράσματα για τη συνεργεστική δράση των περιβαλλοντικών χημικών ρύπων, την επίδρασή τους στην ανθρώπινη υγεία, τη συνεισφορά τους στο συνολικό exposome, και κατ' επέκταση να τεθούν επιπρόσθετα μέτρα που εξασφαλίζουν και προασπίζουν τη δημόσια υγεία.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΠΑΥ ΣΕ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ & ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΕΚΤΙΜΗΣΗΣ ΕΚΘΕΣΗΣ

5.1 Αντιδραστήρια και υλικά

Ακετόνη (for analysis)

Ακετονιτρίλιο 99.9% (for analysis)

Διμέθυλοσουλφοξείδιο (Dimethylsulfoxide-DMSO) 99.5%

Διχλωρομεθάνιο 99.0% και 99.5% (for analysis and residue analysis)

Εξάνιο 99.0% και 99.9% (for analysis and residue analysis)

Εννεάνιο 95%

Μεθανόλη 99.9% (for residue analysis)

Τολουόλιο 99.8% (for residue analysis)

Γέλη πυριτίας (0.015-0.040 mm) (Silica gel 60) για στήλη χρωματογραφίας,
ψημένη για 48h στους 650°C για καθαρισμό και ενεργοποιημένη στους 200°C

Θειικό νάτριο, άνυδρο, κόκκοι, αποξηραμένο για 48 h στους 650°C, το οποίο
αποθηκεύεται σε ξηραντήρα

Οξαλικό νάτριο

Οξειδίο του αργιλίου, βασικό, activity super I, καθαρότητας: for dioxin analysis

Χλωριούχο Νάτριο

Βαμβάκι, εκχυλισμένο για 48 h σε συσκευή soxhlet με πετρελαϊκό αιθέρα:
ακετόνη (3:2)

Υαλοβάμβακας, εκχυλισμένος για 48 h σε συσκευή soxhlet με πετρελαϊκό αιθέρα: ακετόνη

5.2 Όργανα, συσκευές και υαλικά

Αέριος χρωματογράφος εξοπλισμένος με στήλη J&W Select PAH (30 m, 0.25 mm, 0.15 μm) συνδεδεμένος με φασματογράφο μάζας συστοιχίας τριών τετραπόλων (GC-MS/MS triple quadrupole) Finnigan TSQ QUANTUM ULTRA (Thermo)

Αναδευτήρας τύπου Vortex

Ζυγός A&D (1 mg-210 g/ 0.01 g)

Ζυγός A&D GF-1200 (0.5-120 g/ 0.01g)

Ισοθερμικός μανδύας 6 θέσεων Electrothermal EME 60100/CEB

Περιστροφικός συμπυκνωτής, Buchi Rotavapor R-200 με υδατόλουτρο

Πιπέτα Gilson 100 μL

Πιπέτα Gilson 20 μL

Συσκευή εξάτμισης Techne

Συσκευή αλέσεως κρέατος Kenwood

Συσκευή άλεσης τροφίμων, Warring blender

Ομογενοποιητής Ultra Turax, T225Basic

Φυγόκεντρος Hettich Universal 32R

Φούρνος Thermolyne, τύπος 30400 (204-982°C)

Φούρνος Memmert, τύπος UF-400 (έως 400°C)

Γυάλινες στήλες χρωματογραφίας (300 x 15 mm)

Γυάλινα χωνιά διαμέτρου 15 cm

Γυάλινοι σωλήνες χωρητικότητας 5 mL κατάλληλοι για τις υποδοχές της συσκευής Techne

Ενθέματα 100 µL

Κωνικές φιάλες 250 mL

Ξηραντήρας

Ογκομετρικοί κύλινδροι των 50 mL

Ογκομετρικοί κύλινδροι των 100 mL

Ογκομετρικοί κύλινδροι των 200 mL

Πιπέτες PASTEUR

Ποτήρι ζέσεως 250 mL

Πουάρ τριων βαλβίδων και πουάρ για πιπέτες PASTEUR

Σιφώνια μέτρησης ακριβείας 1 mL

Σιφώνια μέτρησης ακριβείας 5 mL

Σιφώνια μέτρησης ακριβείας 10 mL

Σπειροειδείς ψυκτήρες με εσφυρισμένα άκρα

Σωλήνας για εκχύλιση Soxhlet με αντιρροή, με γυάλινο φίλτρο στο κάτω μέρος

Σφαιρικές φιάλες 50 mL με εσµύρισμα, που προσαρµόζονται σε περιστροφικό συμπυκνωτή

Σφαιρικές φιάλες 250 mL με εσµύρισμα, που προσαρµόζονται σε περιστροφικό συμπυκνωτή

Σφαιρικές φιάλες 500 mL με εσµύρισμα, που προσαρµόζονται σε περιστροφικό συμπυκνωτή

Σωλήνες falcon 50 mL

Φιαλίδια από σκούρο γυαλί με πώματα κατάλληλα για δειγματολήπτη GC-MS, Alltech 1mL

5.3 Παρασκευή πρότυπων διαλυμάτων

Τα πρότυπα διαλύματα εσωτερικού προτύπου (working solution), προτύπου έγχυσης (injection solution) και προτύπου βαθμονόμησης (calibration solution) που χρησιμοποιήθηκαν προέκυψαν ύστερα από κατάλληλες αραιώσεις των πυκνών διαλυμάτων παρακαταθήκης (stock solutions) των αντιδραστηρίων.

Διάλυμα εσωτερικού προτύπου επισημασμένων με ^2H ΠΑΥ (Deuterated-PAHs working solution)

Αρχικά παρασκευάζεται το πυκνό διάλυμα παρακαταθήκης (stock solution) $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ των επισημασμένων με ^2H ΠΑΥ με αραιώση σε τολουόλιο των παρακάτω αντιδραστηρίων:

- Ναφθαλένιο (D_8) $200 \mu\text{g mL}^{-1}$
- Ακεναφθυλένιο (D_8) $200 \mu\text{g mL}^{-1}$
- Ακεναφθένιο (D_{10}) $200 \mu\text{g mL}^{-1}$
- Φλουορένιο (D_{10}) $200 \mu\text{g mL}^{-1}$
- Φαινανθρένιο (D_{10}) $200 \mu\text{g mL}^{-1}$
- Φλουορανθένιο (D_{10}) $200 \mu\text{g mL}^{-1}$
- Πυρένιο (D_{10}) $200 \mu\text{g mL}^{-1}$
- Βενζο[α]ανθρακένιο (D_{12}) $200 \mu\text{g mL}^{-1}$
- Χρυσένιο (D_{12}) $200 \mu\text{g mL}^{-1}$
- Βενζο[b]φλουορανθένιο (D_{12}) $200 \mu\text{g mL}^{-1}$
- Βενζο[k]φλουορανθένιο (D_{12}) $200 \mu\text{g mL}^{-1}$
- Βενζο[α]πυρένιο (D_{12}) $200 \mu\text{g mL}^{-1}$
- Περυλένιο (D_{12}) $200 \mu\text{g mL}^{-1}$
- Ίνδενο(1,2,3-c d)πυρένιο (D_{12}) $200 \mu\text{g mL}^{-1}$
- Διβένζο[a,h]ανθρακένιο (D_{14}) $200 \mu\text{g mL}^{-1}$
- Βενζο[g,h,i]περυλένιο (D_{12}) $200 \mu\text{g mL}^{-1}$

Από το stock solution παρασκευάζεται το D-PAHs working solution. Σε ογκομετρική φιάλη των 10 ml μεταφέρονται 1 mL διαλύματος του stock solution. Συμπληρώνεται ο όγκος μέχρι τη χαραγή με τολουόλιο και το D-PAHs working solution των επισημασμένων με ^2H συγκέντρωσης 100 ng mL^{-1} για κάθε ομοειδές, αποθηκεύεται στους 4°C .

Διάλυμα εσωτερικού προτύπου φυσικών ΠΑΥ (Natural PAHs- working solution)

Αρχικά παρασκευάζεται το πυκνό διάλυμα παρακαταθήκης (stock solution) 2 $\mu\text{g mL}^{-1}$ των ΠΑΥ με αρραίωση σε τολουόλιο των παρακάτω αντιδραστηρίων:

- Ναφθαλένιο 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$
- Ακεναφθυλένιο 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$
- Ακεναφθένιο 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$
- Φλουορένιο 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$
- Φαινανθρένιο 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$
- Ανθρακένιο 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$
- Φλουορανθένιο 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$
- Πυρένιο 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$
- Βενζο[c]φλουορένιο 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$
- Βανζο[a]ανθρακένιο 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$
- Κυκλοπέντα[c,d]πυρένιο 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$
- Χρυσένιο 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$
- 5- μεθυλοχρυσένιο 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$
- Βενζο[b]φλουορανθένιο 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$
- Βενζο[k]φλουορανθένιο 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$
- Βενζο[j]φλουορανθένιο 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$
- Βενζο[e]πυρένιο 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$
- Βενζο[a]πυρένιο 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$
- Περυλένιο 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$
- Ίνδενο(1,2,3-c d)πυρένιο 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$
- Διβένζο[a,h]ανθρακένιο 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$
- Βενζο[g,h,i]περυλένιο 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$
- Διβένζο[a,l]πυρένιο 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$
- Διβένζο [a,e] πυρένιο 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$
- Διβένζο[a,i]πυρένιο 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$
- Διβένζο[a,h]πυρένιο 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$

Από το stock solution παρασκευάζεται το N-PAHs working solution. Σε ογκομετρική φιάλη των 50 ml μεταφέρονται 2,5 ml διαλύματος του stock solution. Συμπληρώνεται ο όγκος μέχρι τη χαραγή με τολουόλιο και το

working solution των φυσικών ΠΑΥ συγκέντρωσης 100 ng mL^{-1} για κάθε ομοειδές αποθηκεύεται στους $4 \text{ }^\circ\text{C}$.

Το εσωτερικό πρότυπο διάλυμα φυσικών ΠΑΥ (N-PAHs working solution) χρησιμοποιείται για εμβολιασμό (spiking).

Πρότυπο διάλυμα έγχυσης (injection solution)

Κατάλληλη ποσότητα από το παρακάτω αντιδραστήριο

$^{13}\text{C}_{12}$ -3,3',5,5'-τετραχλωροδιφαινύλιο ($^{13}\text{C}_{12}$ PCB-80) $40 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$

αραιώνεται σε τελική συγκέντρωση 500 ng mL^{-1} . Το injection solution αποθηκεύεται στους $4 \text{ }^\circ\text{C}$.

Πρότυπο διάλυμα βαθμονόμησης (calibration solution)

Τα διαλύματα βαθμονόμησης (Πίνακας 5) παρασκευάζονται με ανάμειξη κατάλληλων ποσοτήτων από τα working solutions φυσικών και επισημασμένων με ^2H ΠΑΥ, ώστε να προκύψουν διαλύματα με τις παρακάτω τελικές συγκεντρώσεις για κάθε ομοειδές φυσικό ΠΑΥ:

Πίνακας 5: Διαλύματα βαθμονόμησης για τη μέτρηση των ΠΑΥ

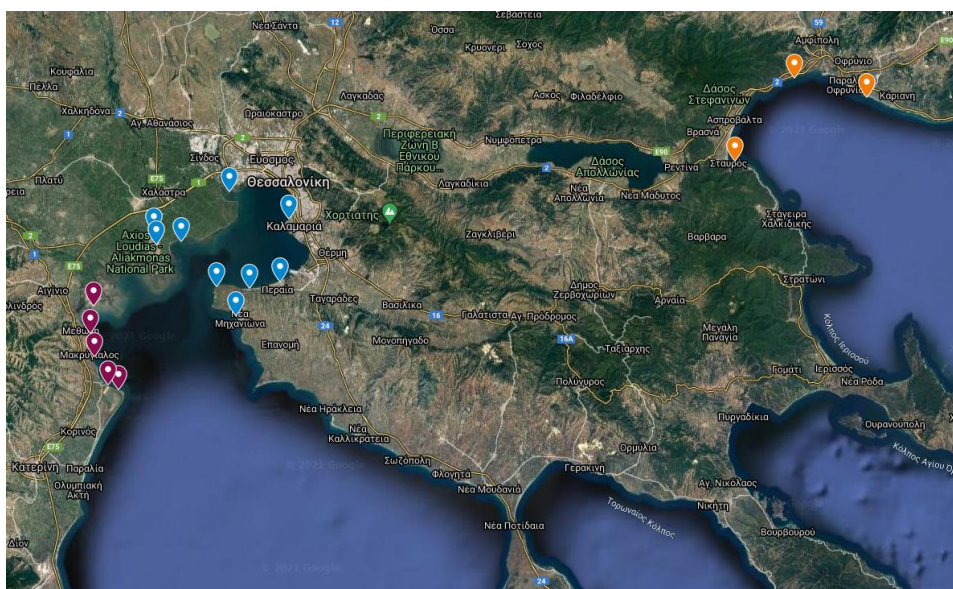
	Διάλυμα 0	Διάλυμα 1	Διάλυμα 2	Διάλυμα 5	Διάλυμα 10
D-PAHs working solution	100 μL	100 μL	100 μL	100 μL	100 μL
N-PAHs working solution	0 μL	10 μL	20 μL	50 μL	100 μL
Συγκέντρωση (ng mL^{-1})	0	1	2	5	10

Το διάλυμα ελέγχου απόκρισης του οργάνου είναι το Std 10.

5.4 Δειγματοληψία- Συλλογή δειγμάτων

5.4.1 Δίθυρα μαλάκια υδατοκαλλιέργειας από την Περιφέρεια Κεντρικής Μακεδονίας

Τα δείγματα δίθυρων μαλακίων-μυδιών (*Mytilus galloprovincialis*) από υδατοκαλλιέργειες της Κεντρικής Μακεδονίας, συλλέχθηκαν από τη Περιφέρεια Κεντρικής Μακεδονίας, Γενική Διεύθυνση Αγροτικής Οικονομίας και Κτηνιατρικής, Διεύθυνση Κτηνιατρικής σε τρεις περιόδους δειγματοληψίας. Η πρώτη περίοδος τον Μάιο του 2018 (άνοιξη), η δεύτερη περίοδος από τον Φεβρουάριο έως τον Μάιο του 2019 (χειμώνας) και η τρίτη περίοδος τον Ιούλιο του 2019 (καλοκαίρι). Οι περιοχές δειγματοληψίας ήταν τρεις. Η πρώτη περιλάμβανε 9 σταθμούς συλλογής μυδιών, στον Θερμαϊκό Κόλπο σε απόσταση 36 km από τη Θεσσαλονίκη. Η δεύτερη, επίσης στον Θερμαϊκό Κόλπο αλλά σε απόσταση 60 km από τη Θεσσαλονίκη, περιλάμβανε 5 σταθμούς δειγματοληψίας που άνηκαν στους Νομούς Πιερίας και Ημαθίας. Η τρίτη περιοχή με 3 σταθμούς βρισκόταν στον Στρυμονικό Κόλπο, στις ακτές των Νομών Χαλκιδικής και Σερρών. Συνολικά συλλέχθηκαν 51 παρτίδες μυδιών από τα τρία σημεία δειγματοληψίας στις τρεις περιόδους.



Εικόνα 4: Σημεία δειγματοληψίας μυδιών-σταθμοί υδατοκαλλιέργειας

Τα δείγματα παραδόθηκαν φρέσκα μέσα σε ψυγείο σε συσκευασίες πολυαιθυλενίου των 1,5 ή 3 kg στο εργαστήριο. Κάθε μαλάκιο καθαρίστηκε, το κέλυφος απορρίφθηκε και απομονώθηκε η σάρκα και το εσωτερικό υγρό περιεχόμενο. Η ομογενοποίηση έγινε ανά παρτίδα σε συσκευή άλεσης και τα δείγματα αποθηκεύτηκαν σε γυάλινες φιάλες στους -18 ° C.

5.4.2 Τρόφιμα συλλεγμένα με τη μέθοδο της Εις Διπλούν Δίαιτας

Επιλέχθηκαν οι 30 εθελοντές που συμμετείχαν στη μελέτη με βάση τις διατροφικές τους συνήθειες (συστηματική προετοιμασία των περισσότερων γευμάτων στο σπίτι, κατανάλωση όλων των διατροφικών ομάδων), τον αριθμό ατόμων που κατοικούν στο ίδιο σπίτι (οικογένειες ή πάνω από δύο άτομα) και τον τόπο διαμονής (διάφορες περιοχές της Αττικής).

Οι 30 εθελοντές ενημερώθηκαν για το σκοπό της μελέτης και έλαβαν λεπτομερείς οδηγίες για τον κατάλληλο τρόπο συλλογής των δειγμάτων τροφίμων. Συγκεκριμένα, τους ζητήθηκε να προετοιμάζουν τα ημερήσια γεύματα τους όπως ακριβώς τα καταναλώνουν, να καταγράφουν το βάρος τους ύστερα από ζύγιση, να αποθηκεύουν μία μικρή ποσότητα (περίπου το 1/10) από κάθε τρόφιμο που περιλαμβάνεται στο γεύμα τους σε ειδικά δοχεία αποθήκευσης και να τα τοποθετούν στην οικιακή τους κατάψυξη. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται για όλα τα γεύματα που καταναλώνει ο συμμετέχοντας μέσα σε μια ημέρα και για διάρκεια 7 ημερών. Παράλληλα, τους ζητήθηκε να συμπληρώνουν ένα πληροφοριακό δελτίο συμμετέχοντα και ένα ημερήσιο διατροφικό ημερολόγιο. Για το λόγο αυτό δόθηκαν στους συμμετέχοντες τα εξής:

Εγχειρίδιο συμμετέχοντα, που περιλαμβάνει πληροφορίες για τη μελέτη, οδηγίες προς τους εθελοντές, το πληροφοριακό δελτίο συμμετέχοντα, με ερωτήσεις σχετικά με τις διατροφικές του συνήθειες, το κάπνισμα, την άθληση κτλ. και το ημερήσιο διατροφικό ημερολόγιο.

Αριθμημένα και κωδικοποιημένα δοχεία αποθήκευσης και συντήρησης τροφίμων.

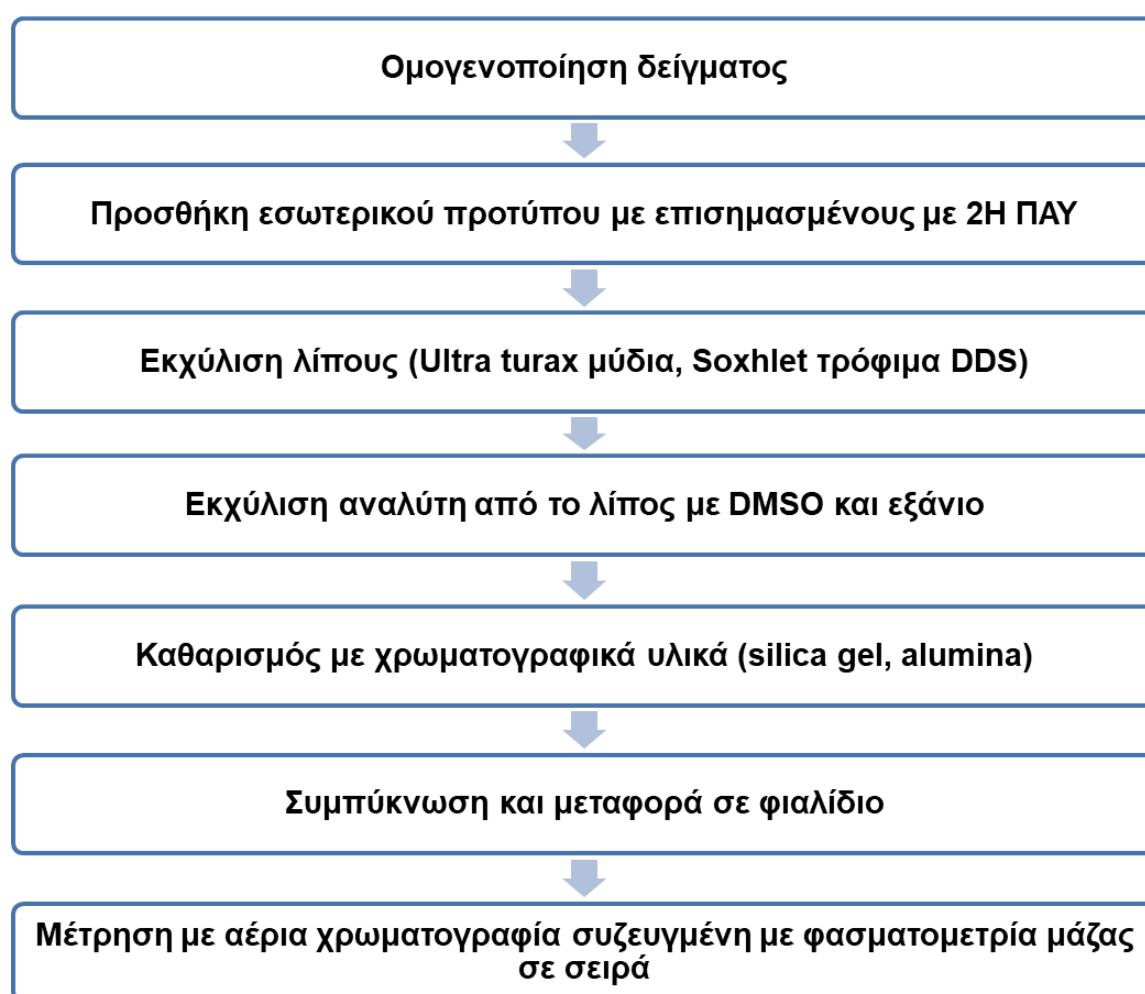
Οικιακή ζυγαριά

Στη συνέχεια, τα δείγματα μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο, καταγράφηκαν με βάση την κωδικοποίησή τους και αποθηκεύτηκαν στους -18 ° C.

Ο σχεδιασμός και η εφαρμογή της μελέτης βασίστηκε στον οδηγό “Guidelines for the study of dietary intakes of chemical contaminants” – WHO, 1985¹⁴⁸.

5.5 Πρωτόκολλο εργασίας προσδιορισμού ΠΑΥ

Η πορεία εργασίας που ακολουθήθηκε για τον προσδιορισμό των ΠΑΥ σε δείγματα τροφίμων ήταν η εξής:



Σχήμα 5: Η πορεία εργασίας για τον προσδιορισμό ΠΑΥ σε τρόφιμα

Ακολουθούν αναλυτικά τα στάδια του πρωτοκόλλου εργασίας που αναπτύχθηκε.

5.5.1 Εκχύλιση δίθυρων μαλακίων

Ζυγίζεται ποσότητα 10 g από τα δείγματα των δίθυρων μαλακίων σε σωλήνα falcon των 50 mL. Στο δείγμα προστίθενται 100 µL διαλύματος εσωτερικού προτύπου επισημασμένων με ^2H ΠΑΥ (Deuterated-PAHs working solution) με αυτόματη πιπέτα. Στη συνέχεια, προστίθενται 5 g οξαλικού νατρίου, 5 g θειϊκού νατρίου, αποξηραμένο για 48 h στους 650°C και 30 mL εξανίου. Ακολουθεί ομογενοποίηση στη συσκευή Ultra Turax για 1 min. Το μίγμα αναδεύεται για 1 min σε αναδευτήρα vortex και φυγοκεντρείται σε 5000 rpm στους 25 °C για 15 min. Το υπερκείμενο υγρό μεταφέρεται σε σφαιρική φιάλη των 50 mL και εξατμίζεται έως 3 mL στους 30°C στον περιστροφικό συμπυκνωτή. Ακολουθεί η εκχύλιση του αναλύτη, όπως περιγράφεται στην παράγραφο 5.5.3.

5.5.2 Εκχύλιση λίπους στα τρόφιμα

Τα δείγματα τροφίμων που συλλέχθηκαν από τους εθελοντές ομογενοποιούνται σε συσκευή άλεσης τροφίμων και ζυγίζονται 10 g δείγματος, ώστε να απομονωθούν 1-2 g λίπους. Στο δείγμα προστίθενται ~ 200 g άνυδρο θειϊκό νάτριο (ανάλογα με την υγρασία του δείγματος) και ομογενοποιούνται σε γουδί.

Στο σωλήνα εκχύλισης Soxhlet (πάνω από το γυάλινο φίλτρο), τοποθετείται διαδοχικά ένα κομμάτι βαμβάκι, το δείγμα αναμεμιγμένο με το θειϊκό νάτριο και ένα επιπλέον κομμάτι βαμβάκι. Προστίθενται 100 µL διαλύματος εσωτερικού προτύπου επισημασμένων με ^2H ΠΑΥ (Deuterated-PAHs working solution) με αυτόματη πιπέτα.

Ο σωλήνας τοποθετείται σε διάταξη αντιρροής (reflux) πάνω από προζυγισμένη σφαιρική φιάλη των 500 mL που περιέχει μίγμα διχλωρομεθανίου και εξανίου σε αναλογία 50:50 τελικού όγκου 300 mL για την εκχύλιση του λίπους και τίθεται σε αντιρροή όλη τη νύχτα. Ο διαλύτης εξατμίζεται στους 30°C στον περιστροφικό συμπυκνωτή μέχρι 3 mL.

5.5.3 Εκχύλιση του αναλύτη από το λίπος

Μετά την απομόνωση του λίπους από τα δείγματα, το συμπύκνωμα μεταφέρεται σε σωλήνα falcon των 50 mL, με τη βοήθεια 2 mL εκπλύσεων εξανίου. Προστίθενται 10 mL διμεθυλοσουλφοξειδίου (DMSO) σε τρία στάδια. Στο πρώτο στάδιο προστίθενται 5 mL DMSO, το δείγμα αναδεύεται για 1 min σε vortex, φυγοκεντρείται σε 5000 rpm στους 25 °C για 5 min, δημιουργούνται δύο στοιβάδες και η κατώτερη στοιβάδα του DMSO, που περιέχει τους ΠΑΥ, μεταφέρεται σε falcon των 50 mL, ενώ η ανώτερη με το διαλυμένο στο εξάνιο λίπος φυλάσσεται για τα επόμενα δύο στάδια. Στο δεύτερο και τρίτο στάδιο η διαδικασία επαναλαμβάνεται με την προσθήκη 3 και 2 mL DMSO αντίστοιχα, με τα τρία εκλούσματα να συγκεντρώνονται στο ίδιο falcon και το λίπος να απορρίπτεται. Ακολουθεί η προσθήκη 24 mL απιονισμένου νερού και 1,2 g στερεού χλωριούχου νατρίου και το διάλυμα ανακινείται σε vortex για 1 min. Η εκχύλιση των ΠΑΥ γίνεται με προσθήκη 36 mL εξανίου σε τρεις φάσεις, όπως προηγουμένως. Αρχικά προστίθενται 20 mL εξάνιο, το δείγμα αναδεύεται για 1 min σε vortex, φυγοκεντρείται σε 5000 rpm στους 25 °C για 5 min, δημιουργούνται δύο στοιβάδες και η ανώτερη στοιβάδα του εξανίου, που περιέχει τους ΠΑΥ, μεταφέρεται σε σφαιρική φιάλη των 50 mL, ενώ η κατώτερη με το DMSO φυλάσσεται για τα επόμενα δύο στάδια. Στο δεύτερο και τρίτο στάδιο η διαδικασία επαναλαμβάνεται με την προσθήκη 10 και 6 mL εξανίου αντίστοιχα, με τα τρία εκλούσματα να συγκεντρώνονται στην ίδια σφαιρική φιάλη. Εξατμίζεται ο διαλύτης έως 5 mL στον περιστροφικό συμπυκνωτή στους 30 °C.

5.5.4 Χρωματογραφικός καθαρισμός

Ο χρωματογραφικός καθαρισμός είναι κοινός για τα δείγματα δίθυρων μαλακίων και τροφίμων και πραγματοποιείται με στήλη γέλης πυριτίας, καθαρισμένη στους 650°C, ώστε να μην υπάρχουν παρεμποδίζουσες ουσίες και ενεργοποιημένη στους 200°C και με οξείδιο του αργιλίου, η οποία ετοιμάζεται ως εξής: Ένα κομμάτι υαλοβάμβακα τοποθετείται στο κάτω μέρος της στήλης και προστίθενται διαδοχικά 1 g γέλης πυριτίας, 5 g οξειδίου του αργιλίου, 5 g γέλης πυριτίας και 0,5 g θειϊκού νατρίου. Το συμπύκνωμα από

τον περιστροφικό συμπυκνωτή αναδιαλύεται σε 5 mL εξάνιο και προστίθεται στη στήλη με πιπέτα Pasteur. Ακολουθούν δύο εκπλύσεις με 2,5 mL εξάνιο και η στήλη εκλούεται με 100 mL μίγματος διχλωρομεθανίου/εξανίου αναλογίας 70:30. Το έκλουσμα συλλέγεται σε σφαιρικές φιάλες των 250 mL και συμπυκνώνεται στον περιστροφικό συμπυκνωτή στους 30 °C έως 2 mL και στη συνέχεια με πιπέτα Pasteur μεταφέρεται σε γυάλινο σωλήνα και συμπυκνώνεται στη συσκευή Techne στους 90 °C με τη βοήθεια ασθενούς ρεύματος αζώτου, έως 100 μ L. Τέλος, στο γυάλινο σωλήνα προστίθενται 20 μ L από το injection solution και μεταφέρεται στο κατάλληλο φιαλίδιο για μέτρηση στο GC- MS/MS.

5.5.5 Προσδιορισμός ΠΑΥ με χρήση της τεχνικής GC- MS/MS

Ο ποσοτικός προσδιορισμός των ΠΑΥ πραγματοποιείται με αέριο χρωματογράφο τύπου Trace 1310 της εταιρείας ThermoFinnigan, εξοπλισμένος με αυτόματο δειγματολήπτη TriPlus (Thermo) και στήλη J&W Select PAH (30 m, 0.25 mm, 0.15 μ m) της εταιρείας Agilent, συζευγμένος με φασματογράφο μάζας με αναλυτή ένα τριπλό τετράπολο (TSQ QUANTUM ULTRA, Thermo) και εξοπλισμένο με πηγή ιονισμού πρόσκρουσης ηλεκτρονίων (EI).

Ο όγκος έγχυσης των δειγμάτων ήταν στα 2 μ L και χρησιμοποιήθηκε σύστημα εισαγωγής μη διαμοιρασμού (splitless injection). Η θερμοκρασία του εισαγωγέα (injector) ήταν στους 260 °C, με ροή 70 mL/min και η θερμοκρασία της γραμμής μεταφοράς (transfer line) στους 290 °C. Ακολουθεί Πίνακας με τις αεριοχρωματογραφικές συνθήκες/παραμέτρους που επιλέχθηκαν.

Πίνακας 6: Αεριοχρωματογραφικές παράμετροι

Injection volume	2 μ L
Column Temperature	
70 °C (0.7 min), 85 °C/min, 180 °C (0 min), 3 °C/min, 230 °C (7 min), 28 °C/min, 280 °C (10 min), 14 °C/min, 350 (4 min)	
Splitless Method	
Injector Temperature (°C)	260.0
Split Flow (mL/min)	70.00
Splitless Time (min)	1.00
Carrier Gas	
Constant flow	2 mL/min
Detector	
Triple Quad in SIM mode	
Emission Current (μ A)	50
Source Temperature (°C)	250
Transfer line (°C)	290

Το θερμοκρασιακό πρόγραμμα της στήλης ήταν το εξής: 70 °C (0.7 min), 85 °C/min έως 180 °C (0 min), 3 °C/min, 230 °C (7 min), 28 °C/min έως 280 °C (10 min), 14 °C/min έως 350 (4 min)¹⁶⁸.

Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε με τη τεχνική της παρακολούθησης επιλεγμένων αντιδράσεων (Selected Reaction Monitoring-SRM) και συγκριμένα ανιχνεύθηκαν δύο ιοντικές μεταπτώσεις (πρόδρομο ιόν/θυγατρικό ιόν) για κάθε αναλύτη. Στον πίνακα που ακολουθεί καταγράφονται οι χρόνοι κατακράτησης, οι ιοντικές μεταπτώσεις καθώς και οι αντίστοιχες ενέργειες διάσπασης:

Πίνακας 7: Ιοντικές μεταπτώσεις και ενέργειες διάσπασης

Αναλύτης	Χρόνος κατακράτησης	Μητρικό ιόν	Ιοντικές μεταπτώσεις (m/z)		Ενέργεια διάσπασης (eV)
Na	2.75	127.89	128.00	102.00	15
AcI	3.98	151.88	152.00	126.00	22
Ac	4.12	152.89	153.00	126.90	10
Fl	4.91	164.88	165.00	163.00	10
Phe	7.82	177.90	178.00	152.00	22
An	7.97	177.90	178.00	152.00	22
Fa	13.72	201.90	202.00	200.00	10

Py	15.37	201.90	202.00	200.00	10
BcFl	17.88	215.94	215.00	189.00	30
Cpp	25.61	227.93	226.00	202.00	22
BaA	25.99	225.90	226.00	224.00	22
Chr	26.30	227.90	226.00	202.00	22
5MeChr	28.19	241.93	242.00	240.00	10
BbFa	30.91	251.90	252.00	226.00	22
BkFa	31.04	251.90	252.00	226.00	22
BjFa	31.12	251.90	252.00	226.00	22
BeP	32.85	251.90	252.00	226.00	22
BaP	33.20	251.90	252.00	226.00	22
Per	33.99	251.90	252.00	226.00	22
IP	40.17	275.86	276.00	274.00	22
DBahA	40.21	277.88	278.00	252.00	22
BghiP	41.19	275.87	276.00	274.00	22
DBalP	43.90	301.85	302.00	300.00	5
DBaeP	44.84	301.85	302.00	300.00	5
DBaiP	45.39	301.85	302.00	300.00	5
DBahP	45.67	301.85	302.00	300.00	5
Na (D ₈)	2.73	135.96	136.00	107.96	22
AcI (D ₈)	3.93	159.93	160.00	131.97	22
Ac (D ₁₀)	4.07	163.96	164.00	162.00	22
Fl (D ₁₀)	4.86	175.96	176.00	174.00	10
Phe (D ₁₀)	7.71	187.97	188.00	159.99	22
Fa (D ₁₀)	13.6	211.85	210.05	208.04	10
Py (D ₁₀)	15.24	211.99	210.07	208.03	22
BaA(D ₁₂)	25.29	240.000	236.000	212.000	22
Chr (D ₁₂)	26.05	240.000	236.000	212.000	22
BbFa (D ₁₂)	30.77	263.960	260.000	236.000	35
BkFa (D ₁₂)	30.92	263.960	260.000	236.000	35
BaP(D ₁₂)	33.03	263.960	260.000	236.000	35
Per (D ₁₂)	33.79	263.960	260.000	236.000	35
IP(D ₁₂)	40.06	287.930	288.070	284.000	35
DBahA (D ₁₄)	40.08	291.950	292.000	288.000	35
BghiP (D ₁₂)	41.1	287.930	288.070	284.000	35

Η επιβεβαίωση της ταυτότητας του αναλύτη βασίστηκε στο χρόνο κατακράτησης και στη συμφωνία του λόγου της αφθονίας των θυγατρικών

ιόντων με εκείνον των ιόντων του προτύπου βαθμονόμησης στην ίδια συγκέντρωση.

Ο ποσοτικός προσδιορισμός πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο της ισοτοπικής αραίωσης συνυπολογίζοντας το εμβαδό των δύο θυγατρικών ιόντων. Ισοτοπικά επισημασμένοι με ^2H – δευτεριωμένοι - ΠΑΥ χρησιμοποιήθηκαν ως εσωτερικά πρότυπα. Για την ποσοτικοποίηση των φυσικών ΠΑΥ για τους οποίους δεν υπήρχε αντίστοιχη επισημασμένη με δευτέριο ένωση, χρησιμοποιήθηκε εκείνη με τον πλησιέστερο χρόνο κατακράτησης. Συγκεκριμένα για το ανθρακένιο χρησιμοποιήθηκε το φαινανθρένιο (D_{10}), για το βενζο[c]φλουορένιο χρησιμοποιήθηκε το πυρένιο (D_{10}), για το κυκλοπέντα[c,d]πυρένιο και το 5-μεθυλχρυσένιο χρησιμοποιήθηκε το χρυσένιο (D_{12}), για τα βενζο[k]φλουορανθένιο και βενζο[j]φλουορανθένιο χρησιμοποιήθηκε το βενζο[b]φλουορανθένιο (D_{12}) και για τα διβένζο[a,l]πυρένιο, διβένζο[a,e]πυρένιο, διβένζο[a,i]πυρένιο, διβένζο[a,h]πυρένιο χρησιμοποιήθηκε το βενζο[g,h,i]περυλένιο (D_{12}).

Για κάθε σειρά ανάλυσης τοποθετήθηκαν στον αυτόματο δειγματολήπτη τα φιαλίδια με την ακόλουθη σειρά: 1 πρότυπο διάλυμα ελέγχου απόκρισης οργάνου, 1 τυφλό καθαρού διαλύτη, 1 τυφλό δείγμα, 15 άγνωστα δείγματα, 1 πρότυπο διάλυμα. Ο μέγιστος αριθμός δειγμάτων που περιλαμβάνονται σε κάθε σειρά είναι 15.

5.6 Υπολογιστικές μέθοδοι εκτίμησης της έκθεσης και αξιολόγησης του κινδύνου από την έκθεση

Η εκτίμηση της διατροφικής έκθεσης σε ρύπους συνδυάζει τα επίπεδα συγκέντρωσής τους σε διάφορες κατηγορίες τροφίμων με δεδομένα κατανάλωσης τροφίμων και το αποτέλεσμα μπορεί να συγκριθεί με τα όρια ανεκτής εβδομαδιαίας ή ημερήσιας πρόσληψης (όπου υπάρχουν) ή με προτεινόμενα περιθώρια έκθεσης¹⁴⁵. Η ημερήσια πρόσληψη ενός ρύπου υπολογίζεται από τον πολλαπλασιασμό της μέσης συγκέντρωσης του σε κάθε κατηγορία τροφίμων με την τιμή της κατανάλωσης των τροφίμων με βάση την Εξίσωση 1:

$$\text{Ημερήσια πρόσληψη (ng ημέρα}^{-1}\text{)} =$$
$$\text{Μέση συγκέντρωση (ng kg}^{-1}\text{ νωπού βάρους)} \times$$
$$\text{Κατανάλωση τροφίμων (g ημέρα}^{-1}\text{)}$$

Η αντίστοιχη έκθεση υπολογίζεται διαιρώντας το αποτέλεσμα του παραπάνω γινομένου με το σωματικό βάρος του ατόμου, δηλαδή σύμφωνα με την Εξίσωση 2:

$$\text{Ημερήσια έκθεση (ng kg}^{-1}\text{ σωματικού βάρους ημέρα}^{-1}\text{)} =$$
$$\text{Ημερήσια πρόσληψη (ng ημέρα}^{-1}\text{)}/\text{Βάρος ατόμου (kg}^{-1}\text{ σωματικού βάρους)}$$

Τα γινόμενα που προκύπτουν για όλες τις ομάδες τροφίμων που καταναλώνει κάποιος αθροίζονται και έτσι προκύπτει η συνολική ημερήσια πρόσληψη/έκθεση. Η προσέγγιση αυτή βρίσκει εφαρμογή στην περίπτωση των ολικών διατροφικών μελετών ή στις μεθόδους συνδυασμού δεδομένων συγκεντρώσεων και κατανάλωσης. Όμως στην περίπτωση της μεθόδου εις διπλούν δίαιτας η πληροφορία για τα δεδομένα κατανάλωσης των τροφίμων περιλαμβάνεται εγγενώς.

Σύμφωνα με την EFSA, για τον υπολογισμό της χρόνιας έκθεσης σε ρύπους χρησιμοποιούνται τα δεδομένα κατανάλωσης για όλο το χρονικό διάστημα κατά το οποίο διεξάγεται η μελέτη¹⁹⁴. Για παράδειγμα, εάν η μελέτη έχει διάρκεια 7 ημερών, η συνολική χρόνια έκθεση ανά άτομο προκύπτει από τον μέσο όρο των δεδομένων κατανάλωσης και για τις 7 ημέρες της μελέτης. Τα δεδομένα συγκέντρωσης του ρύπου πολλαπλασιάζονται με το μέσο όρο της κατανάλωσης των 7 ημερών και διαιρούνται με το 7, ώστε να προκύψει ο ημερήσιος μέσος όρος της χρόνιας έκθεσης. Οι διατροφικές έρευνες με διάρκεια ενός 24ώρου κρίνονται ανεπαρκείς για τον υπολογισμό της χρόνιας έκθεσης και συνήθως αποκλείονται από τέτοιους υπολογισμούς.

Από την άλλη, οι αξιολογήσεις οξείας διατροφικής έκθεσης σε ρύπους, χρησιμοποιούνται για την εκτίμηση της βραχυπρόθεσμης έκθεσης σε μια ουσία και συνήθως συγκρίνονται με οξείες δόσεις αναφοράς (Acute Reference Doses-ARfD).

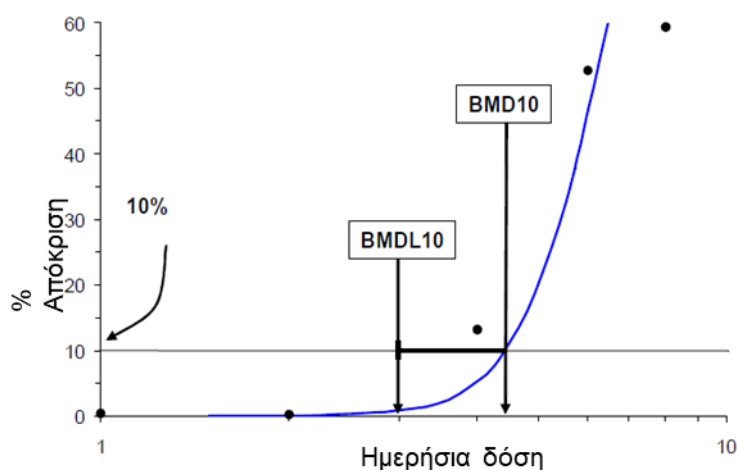
Για την αξιολόγηση της επικινδυνότητας της από του στόματος έκθεσης σε οργανικούς ρύπους έχουν προταθεί και χρησιμοποιούνται διάφορες προσεγγίσεις, στις οποίες λαμβάνονται υπόψη δεδομένα από τοξικοκινητικά μοντέλα, επιδημιολογικές μελέτες και μελέτες σε πειραματόζωα. Με βάση τα δεδομένα αυτά, οι επιστημονικές επιτροπές ενδέχεται να προτείνουν ανεκτά εβδομαδιαία ή ημερήσια όρια πρόσληψης των ρύπων (Tolerable Weekly/Daily Intake-TW/DI), για τη διασφάλιση της ανθρώπινης υγείας.

Στην περίπτωση των ΠΑΥ, τα περισσότερα δεδομένα, τόσο για τις επιδράσεις των ΠΑΥ στον ανθρώπινο οργανισμό, όσο και για τους βιοδείκτες της έκθεσης σε αυτούς, αναφέρονται κυρίως στην επαγγελματική και περιβαλλοντική έκθεση. Τα διαθέσιμα στοιχεία σχετικά με την από του στόματος έκθεση σε ΠΑΥ δεν περιλαμβάνουν δεδομένα συσχέτισμού της ποσοτικής έκθεσης με επιδράσεις τοξικότητας στον ανθρώπινο οργανισμό, επομένως δεν έχουν προταθεί από τους αρμόδιους φορείς ανεκτά όρια πρόσληψης.

Λαμβάνοντας υπόψη τα αποτελέσματα πειραμάτων για την ανοσοτοξικότητα και την αναπαραγωγική τοξικότητα σε ποντίκια, καθώς και την έναρξη της καρκινογένεσης όταν τους χορηγήθηκε βενζο[α]πυρένιο δια του στόματος (δημιουργία όγκων στο γαστρεντερικό σωλήνα, στο ήπαρ, τα πνευμόνια και τους μαστούς) προτάθηκε από τον Crump η προσέγγιση της δόσης αναφοράς (Benchmark Dose-MD) για την εκτίμηση του πιθανού κινδύνου από την έκθεση¹⁹⁷. Η BMD βασίζεται σε ένα μαθηματικό μοντέλο που προσαρμόζεται στα πειραματικά δεδομένα και εκτιμά τη δόση που προκαλεί να μεν χαμηλή αλλά μετρήσιμη απόκριση, την απόκριση αναφοράς. Επιλέγεται συνήθως η δόση εκείνη που προκαλεί 5 ή 10% περισσότερες επιπτώσεις συγκριτικά με το δείγμα μάρτυρα (control). Το κατώτερο όριο BMDL (BMDLower limit) αναφέρεται στα αντίστοιχα κατώτερα όρια ενός μονομερούς διαστήματος εμπιστοσύνης, της τάξεως του 95%, της δόσης αναφοράς και ουσιαστικά επιβεβαιώνει ότι δεν γίνεται υπέρβαση της απόκρισης αναφοράς. Η EFSA

ενέκρινε αυτή την προσέγγιση και θεώρησε τη χρήση του BMDL, ως δόση αναφοράς που σχετίζεται με απόκριση 10% (BMDL₁₀), κατάλληλο δείκτη αναφοράς για τις ενώσεις που είναι τόσο γονοτοξικές όσο και καρκινογόνες, όπως οι ΠΑΥ.

Οι τιμές των BMDL₁₀ για το βενζο[α]πυρένιο, τους ΠΑΥ4 και τους ΠΑΥ8 που χρησιμοποιούνται στην εκτίμηση της επικινδυνότητας προέκυψαν με βάση το ποσοστό των πειραματόζων που εμφάνισαν κακοήθεις νεοπλασίες μετά τη λήψη μίγματος πίσσας άνθρακα στη διάρκεια μιας διεισδυτικής μελέτης για την καρκινογένεση των ΠΑΥ.



Εικόνα 5: Ημερήσια δόση που αντιστοιχεί στην απόκριση αναφοράς

Για την αξιολόγηση του κινδύνου διατροφικής έκθεσης σε ΠΑΥ από τον πληθυσμό χρησιμοποιούνται τα περιθώρια ασφαλούς έκθεσης (Margins of Exposure-MOEs).

Τα MOE υπολογίζονται διαιρώντας τις τιμές BMDL₁₀ με τα επίπεδα της διατροφικής έκθεσης στο βενζο[α]πυρένιο, ΠΑΥ2, ΠΑΥ4 και ΠΑΥ8, σύμφωνα με την Εξίσωση 3:

$$\text{MOE} = \text{BMDL}_{10} / \text{Έκθεση σε ΠΑΥ}$$

Οι τιμές MOE που πλησιάζουν ή είναι μικρότερες από 10.000 υποδηλώνουν ανησυχία για την ανθρώπινη υγεία.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΜΕΘΟΔΟΥ ΓΙΑ ΤΟΝ ΠΟΣΟΤΙΚΟ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΠΑΥ ΣΕ ΤΡΟΦΙΜΑ

6.1 Επιλογή παραμέτρων, πρωτοκόλλου και τεχνικών αναλυτικής μεθόδου

Για την ανάπτυξη ευαίσθητης και εξειδικευμένης μεθόδου προσδιορισμού πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων σε δείγματα τροφίμων, δοκιμάσθηκαν διάφορα πρωτόκολλα εργασίας και παράμετροι των τεχνικών ανάλυσης. Το υπόστρωμα του δείγματος φαίνεται να παίζει καθοριστικό ρόλο στη μέθοδο εκχύλισης και καθαρισμού που επιλέγεται. Η αξιοπιστία της μεθόδου διερευνήθηκε με την ανάλυση δειγμάτων διεργαστηριακών δοκιμών, ενώ έγιναν δοκιμές ανάκτησης σε δείγμα ηλιέλαιου και σε δείγματα τροφίμων εμβολιασμένα με γνωστές ποσότητες των υπό μελέτη ενώσεων και σε μη εμβολιασμένο δείγμα.

Προκειμένου να πιστοποιήσουμε ότι η μέθοδος που αναπτύχθηκε πληροί τα αναλυτικά κριτήρια που απαιτούνται για να θεωρηθεί αξιόπιστη, ελέγχθηκαν όλες οι απαιτούμενες παράμετροι, όπως η ειδικότητα της μεθόδου, μέσω των σχετικών χρόνων κατακράτησης και του λόγου των εμβαδών m/z για κάθε ΠΑΥ. Πραγματοποιήθηκε επίσης ανάλυση τυφλού δείγματος προκειμένου να προσδιοριστεί το επίπεδο «θορύβου».

6.1.1 Βελτιστοποίηση παραμέτρων που αφορούν στην εκχύλιση

Πριν από την ανάλυση των δειγμάτων, όλα τα αντιδραστήρια ελέγχθηκαν για την παρουσία ΠΑΥ.

Ένα κρίσιμο σημείο προσοχής στην προκατεργασία και προετοιμασία των δειγμάτων ήταν οι εξατμίσεις, λόγω της πτητικότητας των ΠΑΥ μικρού μοριακού βάρους. Εξατμισμό μέχρι ξηρού οδηγεί σε απώλειες αυτών και χαμηλές τιμές ανακτήσεων, επομένως η χρήση σταθεροποιητή (keeper) σε εξατμίσεις στον περιστροφικό συμπυκνωτή και η εξατμισμό έως λίγα μL , με ρεύμα αζώτου κρίθηκαν αναγκαία.

Όσον αφορά στην εκχύλιση, δοκιμάσθηκαν, βελτιστοποιήθηκαν και αξιολογήθηκαν διάφορες μέθοδοι, μιας και απαιτείται διαφορετική προσέγγιση ανάλογα με το υπόστρωμα του εξεταζόμενου δείγματος. Δείγματα με υψηλή περιεκτικότητα λιπαρών υλών, όπως τριγλυκερίδια, λιπαρά οξέα, φωσφολιπίδια κ.α. απαιτούν στάδιο απομάκρυνσης αυτών με ταυτόχρονη ανάκτηση των ΠΑΥ και επαρκή χρωματογραφικό καθαρισμό λόγω πολυπλοκότητας του υποστρώματος.

Τρόφιμα

Για τις δοκιμές, χρησιμοποιήθηκε αρχικά δείγμα ελαιολάδου και ηλιέλαιου ως σχετικά απλούστερα υποστρώματα λιπαρών τροφίμων, τα οποία ήταν ελεγμένα για την απουσία φυσικών ΠΑΥ.

Σαπωνοποίηση με NaOH/MeOH

Ως η πιο συνηθισμένη μέθοδος απομάκρυνσης των λιπαρών υλών στη βιβλιογραφία, δοκιμάσθηκε η σαπωνοποίηση δείγματος φυτικών ελαίων. Σε κωνική φιάλη προστέθηκε 0,5 g ελαιολάδου με 10 mL 12 N και 6 N υδατικό, αιθανολικό και μεθανολικό διάλυμα NaOH, στους 40 °C για 30 min^{169,170}.

Πίνακας 8: Αλκαλικά διαλύματα σαπωνοποίησης

Κανονικότητα	Διάλυμα σαπωνοποίησης		
12 N	NaOH/H ₂ O	NaOH/EtOH	NaOH/MeOH
6 N	NaOH/H ₂ O	NaOH/EtOH	NaOH/MeOH

Μετά τη σαπωνοποίηση στην κωνική φιάλη προστέθηκαν 10 g ενεργοποιημένης silica, ώστε να συγκρατήσει το σαπωνοποιημένο κλάσμα και η παραλαβή του ασαπωνοποίητου κλάσματος που εμπεριέχει και τους ΠΑΥ έγινε με εκχύλιση με εξάνιο.

Τα διαλύματα κανονικότητας 12 N παρότι σαπωνοποίησαν επιτυχώς τη λιπαρή ύλη σε ποσοστό 70% και άνω, αντιδρούσαν με τη silica δίνοντας συμπαγές και αδιαπέραστο προϊόν δημιουργώντας έτσι δυσκολίες στην επακόλουθη εκχύλιση με το εξάνιο. Επιπρόσθετα, με βάση τα χρωματογραφήματα τα οποία ελήφθησαν και την ακόλουθη

ποσοτικοποίηση, οι ιδιαίτερα αλκαλικές συνθήκες φαίνεται πως καταστρέφουν ορισμένους ΠΑΥ οδηγώντας σε χαμηλές τιμές ανακτήσεων, κάτι το οποίο είναι σύμφωνο με τη βιβλιογραφία, επομένως και απορρίφθηκαν. Από τα διαλύματα κανονικότητας 6 N το υδατικό και το αιθανολικό δεν κατάφεραν να σαπωνοποιήσουν επαρκές ποσοστό των λιπαρών υλών, ώστε το δείγμα να μπορεί να προχωρήσει σε χρωματογραφικό καθαρισμό. Ικανοποιητικά αποτελέσματα έδωσε το μεθανολικό διάλυμα 6 N NaOH/MeOH, με το οποίο η σαπωνοποίηση των λιπαρών υλών επετεύχθη σε ποσοστό 98%. Ακολούθησε ο χρωματογραφικός καθαρισμός που περιγράφηκε στο πειραματικό μέρος. Η διαδικασία με το διάλυμα 6 N NaOH/MeOH επαναλήφθηκε άλλες 8 φορές με spiking του ηλιελαίου με διάλυμα εσωτερικού προτύπου φυσικών ΠΑΥ, σε 3 επίπεδα συγκεντρώσεων επί τρεις φορές: 2 ng g^{-1} , 4 ng g^{-1} και 8 ng g^{-1} . Τα 9 δείγματα μετρήθηκαν στο GC-MS/MS και εξετάστηκαν τα χρωματογραφήματα και οι ανακτήσεις τους.

Φάνηκε πως η σαπωνοποίηση με 6 N αλκαλικό διάλυμα καταστρέφει ένα ποσοστό των ΠΑΥ μικρού μοριακού βάρους, συγκεκριμένα των ακεναφθυλενίου, ακεναφθενίου, πυρενίου και φαινανθρενίου, με αποτέλεσμα χαμηλές ανακτήσεις αυτών. Τα χρωματογραφήματα δεν παρουσίαζαν ικανοποιητική εικόνα, με τις κορυφές να μην είναι οξείες και να ο διαχωρισμός των κορυφών ορισμένων ισομερών, όπως του φαινανθρενίου και του ανθρακενίου, να μην γίνεται από τη baseline. Επιπρόσθετα, το LOD της συγκεκριμένης μεθόδου δεν ήταν αρκετά χαμηλό και ο περιορισμός στην ποσότητα της λιπαρής ύλης που μπορούσε να σαπωνοποιηθεί επιτυχώς δεν επέτρεπε την περαιτέρω μείωσή του. Επομένως, η μέθοδος απορρίφθηκε ως προς τη χρήση της σε επίπεδο «ρουτίνας».

Εκχύλιση υγρής- υγρής φάσης (LLE)

Η μέθοδος LLE χρησιμοποιείται ως επί το πλείστον σε φυτικά έλαια και λιγότερο συχνά σε ζωικά λίπη, όπως ιχθυέλαια, αν και στη δεύτερη περίπτωση προηγείται συνήθως ένα στάδιο σαπωνοποίησης.

Δείγματα ελαιόλαδου και ηλιέλαιου 1 g, εκχυλίστηκαν με διάφορους διαλύτες ή συνδυασμούς αυτών και σύμφωνα με τα βιβλιογραφικά δεδομένα, όπως φαίνεται στον ακόλουθο Πίνακα.

Πίνακας 9: Διαλύτες υγρής- υγρής εκχύλισης

Δείγμα	Διαλύτης		
Ελαιόλαδο	Hexane/Acetone	Acetone/Acetonitrile	MeOH/Acetonitrile
Ηλιέλαιο	Hexane/Acetone	Acetone/Acetonitrile	MeOH/Acetonitrile

Το ελαιόλαδο και το ηλιέλαιο είχαν παρόμοια συμπεριφορά στην LLE. Το μίγμα εξανίου/ακετόνης απορρίφθηκε εξ αρχής, μιας και δε δημιουργούνται δύο φάσεις και το λίπος διαλύεται πλήρως στο εξάνιο. Επιπρόσθετα, το εξάνιο διαλύει τη χλωροφύλλη, που υπάρχει σε διάφορους τύπου ελαιόλαδου, η οποία δεν συγκρατείται από τα περισσότερα χρωματογραφικά υλικά, δρώντας σαν παρεμποδίζουσα ουσία. Στο μίγμα ακετόνης/ακετονιτρίλιου η φάση ήταν μία, ωστόσο το λίπος διαλύεται μερικώς στο μίγμα των διαλυτών. Η φάση του μίγματος παραλήφθηκε και ακολούθησε ο χρωματογραφικός καθαρισμός, χωρίς ωστόσο τα πληρωτικά υλικά να συγκρατούν επιτυχώς όλο το ποσοστό λίπους που απέμεινε. Άρα απορρίφθηκε και αυτός ο συνδυασμός. Η υγρή-υγρή εκχύλιση με μεθανόλη και ακετονιτρίλιο έδωσε ικανοποιητικά αποτελέσματα. Το ακετονιτρίλιο φάνηκε να είναι κατάλληλος διαλύτης εκχύλισης, μιας και δεν διαλύει το λίπος, αλλά εκχυλίζει επιτυχώς τους ΠΑΥ από το υπόστρωμα, ενώ η μεθανόλη αυξάνει τη διαλυτότητα των ΠΑΥ στο ακετονιτρίλιο. Επιπρόσθετα, το ακετονιτρίλιο δεν διαλύει τη χλωροφύλλη. Η εκχύλιση με το μίγμα αυτό επαναλήφθηκε άλλες 8 φορές με spiking ηλιελαίου σε 3 επίπεδα συγκεντρώσεων επί τρεις φορές: 0 ng g^{-1} , 2 ng g^{-1} και 5 ng g^{-1} . Τα 9 δείγματα μετρήθηκαν στο GC- MS/MS και εξετάστηκαν τα χρωματογραφήματα και οι ανακτήσεις τους. Τα αποτελέσματα ήταν ικανοποιητικά, και έτσι η μέθοδος LLE με μεθανόλη και ακετονιτρίλιο ως μέθοδος εκχύλισης φυτικών ελαίων κρίθηκε κατάλληλη για την ανάλυση τέτοιου είδους τροφίμων στο εργαστήριο, σε επίπεδο ρουτίνας.

Εκχύλιση με DMSO

Η επιλογή της Soxhlet ως μεθόδου εκχύλισης του λίπους από τα διάφορα είδη τροφίμων βασίστηκε σε βιβλιογραφικά δεδομένα που αναφέρουν την αποτελεσματικότητα της μεθόδου ως προς την ικανοποιητική εκχύλιση του λίπους και την ανάκτηση των υπό μελέτη ουσιών.

Μετά τη Soxhlet και την απομόνωση του λίπους των τροφίμων ακολούθησε LLE με το μίγμα διαλυτών μεθανόλης/ακετονιτριλίου, που είχε επιλεγεί στη περίπτωση των φυτικών ελαίων. Παρόλα αυτά, ένα μεγάλο ποσοστό των λιπιδίων που προέρχονται από τα ζωικά τρόφιμα, όπως φωσφολιπίδια, στερόλες, γλυκολιπίδια κ.α., που δεν υπάρχουν στα φυτικά έλαια, διαλύονται στη μεθανόλη με αποτέλεσμα το εκχύλισμα να μην είναι απαλλαγμένο επαρκώς από την λιπαρή ύλη πριν τον χρωματογραφικό καθαρισμό.

Επομένως, δημιουργήθηκε νέο πρωτόκολλο για τα τρόφιμα από την Duplicate Diet Study, αυτό που περιγράφηκε στο πειραματικό μέρος, μιας και το υπόστρωμα εδώ είναι ιδιαίτερος πολύπλοκο. Η εκχύλιση των ΠΑΥ έγινε με DMSO σε 3 στάδια και εκ νέου εκχύλιση με εξάνιο σε 3 στάδια επίσης. Το πρωτόκολλο αποτελεί τροποποίηση της μεθόδου που πρότειναν οι Guillén et al.¹⁷¹, σε συνδυασμό με τις μεθόδους που ανέπτυξαν οι Moret et al.¹⁰⁶ και οι Garcia Falcon et al.¹⁷² Οι μέθοδοι προσαρμόστηκαν έτσι ώστε να εκχυλίζονται επιτυχώς οι ΠΑΥ από όλα τα είδη τροφίμων και όχι μόνο από έλαια, για τα οποία και είχε αναπτυχθεί η μέθοδος.

Δίθυρα μαλάκια

Για τα τρόφιμα εκείνα που δεν περιέχουν λιπαρά, όπως τα μύδια, η εκχύλιση πραγματοποιείται ως επί το πλείστον με υγρή-υγρή εκχύλιση, με χρήση υπερήχων ή εκχύλιση με διαλύτη ακετονιτρίλιο και χρήση άλατος (QuEChERS method), μέθοδος η οποία αναπτύχθηκε πρώτη φορά για τον προσδιορισμό φυτοφαρμάκων από τους Anastassiades et al. το 2003¹⁷⁴. Οι μέθοδοι δοκιμάστηκαν στα πλαίσια της μελέτης, ωστόσο τα χρωματογραφήματα που ελήφθησαν δεν ήταν ικανοποιητικά.

Η προσθήκη οξαλικού νατρίου για την καταβύθιση των πρωτεϊνών και θειϊκού νατρίου για την απομάκρυνση της υγρασίας, με την ακόλουθη ομογενοποίηση

με τη βοήθεια της συσκευής Ultra turax, φάνηκαν να είναι κατάλληλα για την απομόνωση ενός καθαρότερου υπερκείμενου υγρού, απαλλαγμένο από ουσίες που οδηγούν σε χρωματογραφήματα με υψηλά επίπεδα θορύβου. Το υπερκείμενο στη συνέχεια εκχυλίστηκε με DMSO και εξάνιο, όπως περιγράφεται στο κείμενο νωρίτερα.

6.1.2 Βελτιστοποίηση παραμέτρων που αφορούν στον χρωματογραφικό καθαρισμό

Πριν από την ανάλυση των δειγμάτων, όλα τα υλικά ελέγχθηκαν για την παρουσία ΠΑΥ. Ίχνη ΠΑΥ μικρού μοριακού βάρους βρέθηκαν στη silica gel. Για τον καθαρισμό της σε φούρνο, δοκιμάστηκαν 3 θερμοκρασίες: 550, 600 και 650°C overnight. Η πλήρης καταστροφή των ΠΑΥ αλλά και άλλων τυχόν παρεμποδίζουσων ουσιών πραγματοποιήθηκε τελικά στους 650°C, ενώ ακολούθησε η ενεργοποίησή της στους 200°C overnight.

Για τον καθαρισμό των εκχυλισμάτων δοκιμάστηκαν τα πληρωτικά υλικά silica, alumina, florisil και basic silica. Αρχικά δοκιμάστηκε η χρήση silica gel επεξεργασμένης με υδατικό διάλυμα 6 N NaOH (basic silica), ως ένα ενιαίο στάδιο σαπωνοποίησης και χρωματογραφικού καθαρισμού των εκχυλισμάτων του λίπους. Ο γρήγορος χρόνος έκλουσης και η θερμοκρασία περιβάλλοντος φάνηκαν να μην επαρκούν για την επιτυχή σαπωνοποίηση των λιπαρών ουσιών. Η χρήση του florisil επίσης απορρίφθηκε, μιας και ύστερα από δοκιμές που έγιναν φάνηκε να συγκρατεί ισχυρά το βενζο[α]πυρένιο, το περυλένιο και το ινδενο(1,2,3-cd)πυρένιο, με τις ανακατήσεις αυτών να είναι σε χαμηλά επίπεδα. Ο συνδυασμός silica και alumina για τον καθαρισμό των εκχυλισμάτων έδωσε τα καλύτερα αποτελέσματα, αντίστοιχα με αυτά της βιβλιογραφίας¹⁶³. Για τον καθαρισμό περίπου 1 g λίπους απαιτήθηκαν 10 g πληρωτικού υλικού.

Οι διαλύτες έκλουσης που δοκιμάστηκαν ήταν μείγμα εξάνιο- διλωρομεθάνιο σε τρεις αναλογίες (60:40, 50:50, 30:70) και η συλλογή των εκλουσμάτων έγινε σε κλάσματα, προκειμένου να διερευνηθεί η ακριβής ποσότητα που χρειάζεται για την πλήρη έκλουση των ΠΑΥ. Τις υψηλότερες ανακτήσεις όλων των επισημασμένων ενώσεων έδωσε το μίγμα εξανίου-διχλωρομεθανίου σε

αναλογία 30:70 και η ποσότητα που απαιτήθηκε για την πλήρη έκλουσή τους ήταν 100 mL.

6.1.3 Βελτιστοποίηση παραμέτρων που αφορούν στην αέρια χρωματογραφία

Οι πιο κρίσιμες παράμετροι κατά την ανάπτυξη της μεθόδου GC είναι η επιλογή της κατάλληλης στατικής φάσης της στήλης για τον επιτυχή διαχωρισμό των ΠΑΥ, το θερμοκρασιακό πρόγραμμα της στήλης και η ταχύτητα του φέροντος αερίου (He). Υπάρχουν 3 ομάδες ΠΑΥ ισομερών που είναι πιθανό να εκλουθούν στην ίδια κορυφή, με το διαχωρισμό τους να αποτελεί πρόκληση για την αναλυτική τεχνική:

- Βενζ[a]ανθρακένιο, χρυσένιο και τριφαινυλίνη
- Βενζο[b]φλουορανθένιο, βενζο[j]φλουορανθένιο και βενζο[k]φλουορανθένιο
- Διβενζ[a,h]ανθρακένιο και ινδENO[1,2,3-cd]πυρένιο

Δεδομένου ότι το βενζ[a]ανθρακένιο, το χρυσένιο και το βενζο[b]φλουορανθένιο αποτελούν 3 από τους 4 ΠΑΥ για το άθροισμα των οποίων έχουν θεσπιστεί ανώτατα όρια παρουσίας σε ορισμένες κατηγορίες τροφίμων, ο επαρκής χρωματογραφικός τους διαχωρισμός από τα ισομερή τους είναι απαραίτητος για την επιτυχή εφαρμογή της νομοθεσίας. Επιπρόσθετα, στις απαιτήσεις που έχει ορίσει η EFSA για τα Εργαστήρια Αναφοράς, η τριφαινυλίνη δεν χρειάζεται να ποσοτικοποιείται, ωστόσο ο διαχωρισμός της από το ισομερές της χρυσένιο είναι απαραίτητος.

Δοκιμάστηκαν δύο διαφορετικού τύπου χρωματογραφικές στήλες. Μία κλασσική 5% φαινυλ- 95% μεθυλ-υποκατεστημένου πολυσιλοξάνιου (DB-5MS) και μία στήλη για αποκλειστική ανάλυση ΠΑΥ (Select PAH) της Agilent. Ο διαχωρισμός των ισομερών των κρίσιμων ομάδων με τη στήλη DB-5MS ήταν αδύνατος, παρόλο που εφαρμόστηκαν διαφορετικά θερμοκρασιακά προγράμματα στήλης. Το χρυσένιο εκλούσθηκε μαζί με την τριφαινυλίνη και το βενζ[a]ανθρακένιο, το κυκλοπέντα[c,d]πυρένιο διαχωρίστηκε μερικώς από το βενζ[a]ανθρακένιο, ενώ το βενζο[b]φλουορανθένιο, το

βενζο[*j*]φλουορανθένιο και το βενζο[*k*]φλουορανθένιο εκλούσθηκαν στην ίδια κορυφή.

Η στήλη Select PAH φάνηκε να είναι σαφώς πιο εκλεκτική. Δοκιμάστηκαν 3 διαφορετικά θερμοκρασιακά προγράμματα:

- 1) 70 °C (0.7 min), 85 °C/min έως 180 °C, 3 °C/min έως 230 °C (7 min), 28 °C/min έως 280 °C (10 min), 14 °C/min έως 350 (4 min)
- 2) 70 °C (0.4 min), 70 °C/min έως 180 °C, 7 °C/min έως 230 °C (7 min), 50 °C/min έως 280 °C (7 min), 30 °C/min έως 350 (4 min)
- 3) 60 °C (1 min), 40 °C/min έως 180 °C, 3 °C/min έως 230 °C (7 min), 1,5 °C/min έως 280 °C (10 min), 6 °C/min έως 298, 16 °C/min έως 350 (4 min).

Στην πρώτη περίπτωση το run ήταν 45 min, στη δεύτερη 30 και στην τρίτη 47,25 min. Εν τέλει, επιλέχθηκε το πρώτο θερμοκρασικό πρόγραμμα, λόγω του ικανοποιητικού διαχωρισμού των κρίσιμων κορυφών.

Επιπρόσθετα, δοκιμάστηκαν 3 διαφορετικές θερμοκρασίες του εισαγωγέα (injector): 260, 280 και 300 °C, επιλέγοντας τελικά τους 260 °C.

Με τη συγκεκριμένη στήλη και το θερμοκρασιακό πρόγραμμα που εφαρμόστηκε επετεύχθη ο ικανοποιητικός διαχωρισμός όλων των ισομερών δίνοντας χρωματογραφήματα με καλές ιδιότητες και καλύτερο σήμα για τους ΠΑΥ μεγαλύτερου μοριακού βάρους (διβενζο[*a,e*]πυρένιο, διβενζο[*a,h*]πυρένιο, διβενζο[*a,i*]πυρένιο και διβενζο[*a,l*]πυρένιο).

6.1.4 Βελτιστοποίηση παραμέτρων των φασματομετρικών τεχνικών

Η σύζευξη του χρωματογράφου με ανιχνευτή φασματομετρίας μάζας, τεχνολογίας τριπλού τετραπύλου (MS/MS), ανήκει στις προηγμένες μεθόδους ανάλυσης στις οποίες συνδυάζονται τα πλεονεκτήματα της αέριας ή υγρής χρωματογραφίας με την ταυτοποίηση που επιτυγχάνεται μέσω της φασματομετρίας μάζας.

Η ταυτοποίηση των ΠΑΥ, σε πολύ χαμηλά όρια ανίχνευσης, πραγματοποιήθηκε με την παρακολούθηση ενός μητρικού και δύο θυγατρικών ιόντων (Selected Reaction Monitoring-SRM), σε συνδυασμό με το χρόνο

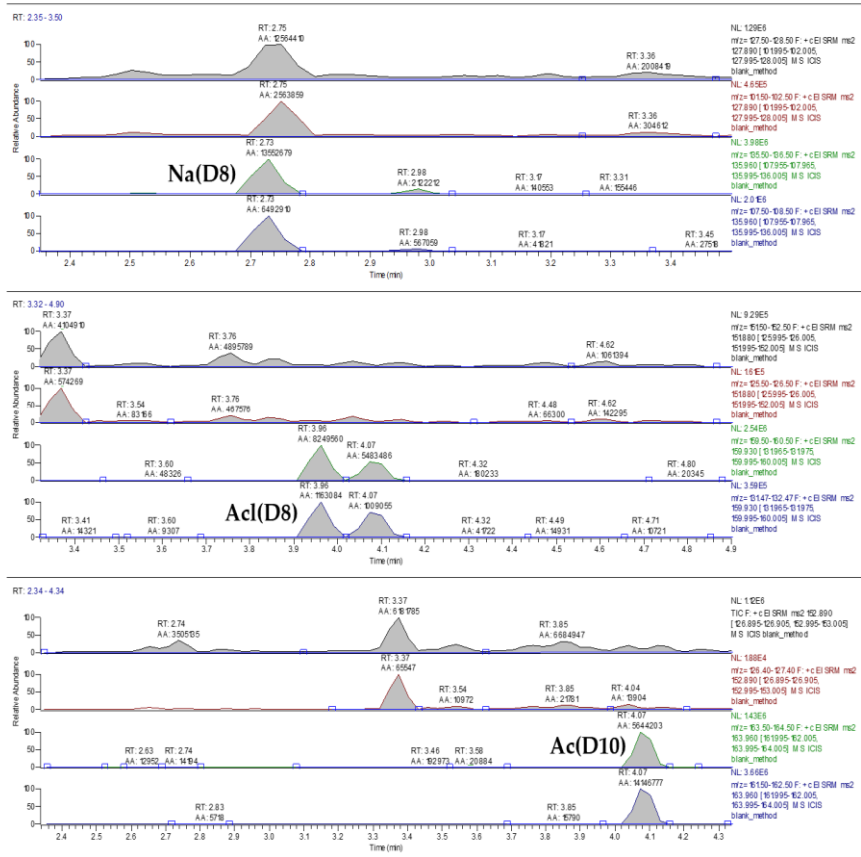
κατακράτησης του αναλύτη. Ο ιονισμός των μορίων επετεύχθη με την τεχνική της σύγκρουσης με ηλεκτρόνιο (Electron Impact-EI) και τα ιόντα τα οποία επιλέχθηκαν τελικά για την ταυτοποίηση κάθε ΠΑΥ ήταν μεταξύ των $[M-H]^+$, $[M-2H]^+$ και $[M-(CH)_2]^+$. Για τη βελτιστοποίηση του σήματος δοκιμάσθηκαν διάφορες τιμές ενεργειών σύγκρουσης (μεταξύ 5 και 40 eV), ενώ στο δεύτερο τετράπλο εφαρμόστηκαν διαφορετικές πιέσεις αδρανούς αερίου Ar, για την επιτυχή θραυσματοποίηση των μορίων. Τα ιόντα και οι τιμές ενεργειών που επιλέχθηκαν τελικώς παρατίθενται στον Πίνακα 7, Κεφάλαιο 5.5.5.

6.2 Επικύρωση μεθόδων

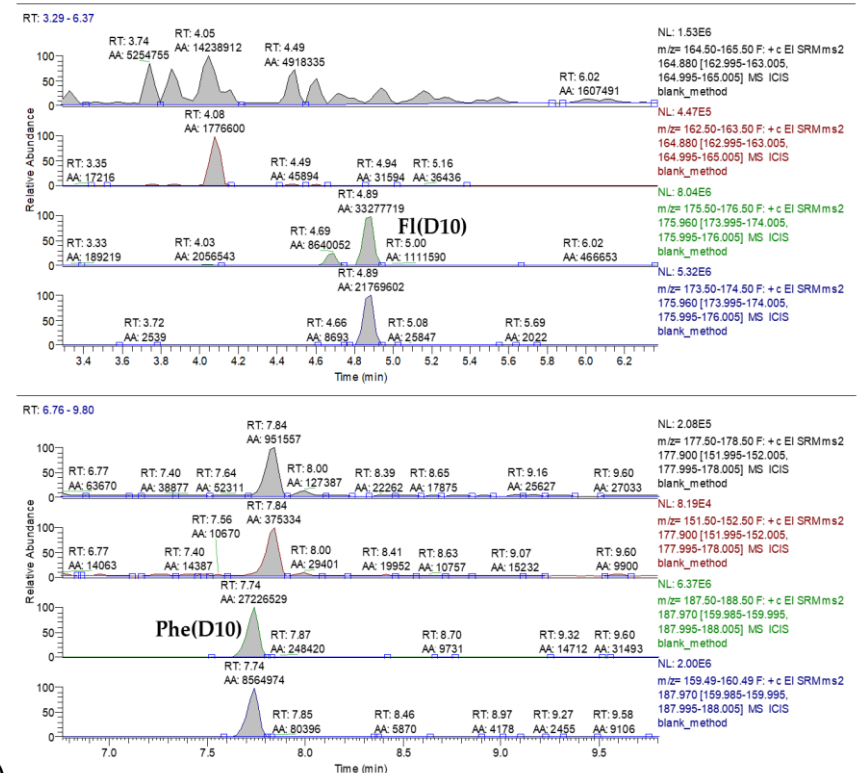
Η μέθοδος που αναπτύχθηκε επικυρώθηκε ως προς διάφορες παραμέτρους ώστε να πληροί τις απαιτήσεις του Ευρωπαϊκού κανονισμού ΕΕ 836/2011 για τον καθορισμό μεθόδων δειγματοληψίας και ανάλυσης για τον επίσημο έλεγχο των επιπέδων βενζο[α]πυρενίου, βενζο[α]ανθρακενίου, βενζο[b]φλουορανθενίου και χρυσενίου στα τρόφιμα¹⁶⁰, του Κανονισμού ΕΕ 657/2002¹⁶¹, σχετικά με την επίδοση των αναλυτικών μεθόδων για τους οργανικά κατάλοιπα και ρύπους καθώς και του οδηγού της Eurachem: “The Fitness for Purpose of Analytical Methods”¹⁶⁷.

Ειδικότητα μεθόδου

Εξετάστηκαν οι σχετικοί χρόνοι κατακράτησης και ο λόγος των επιφανειών των κορυφών των δύο ιόντων. Οι μεταπτώσεις που εξετάστηκαν για κάθε αναλύτη παρουσιάζονται στον Πίνακα 7. Πραγματοποιήθηκε ανάλυση τυφλού δείγματος (Blank) προκειμένου να προσδιοριστούν τα επίπεδα υποβάθρου. Το χρωματογράφημα του τυφλού δείγματος παρουσιάζεται στο Σχήμα 6. Τα επίπεδα υποβάθρου είναι χαμηλά.

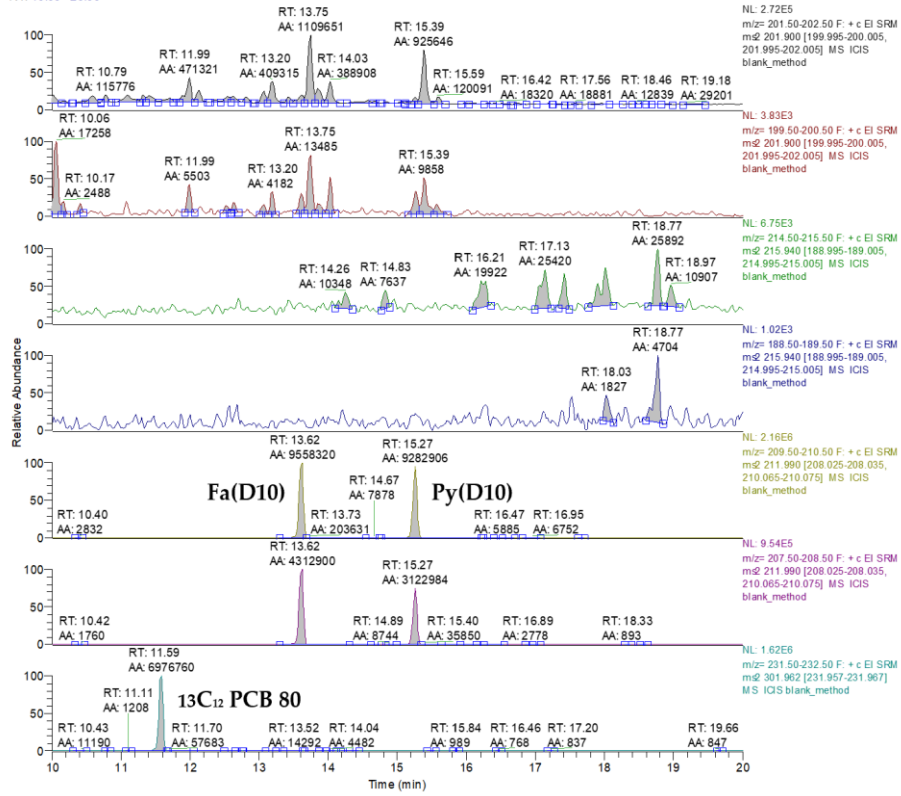


(a)



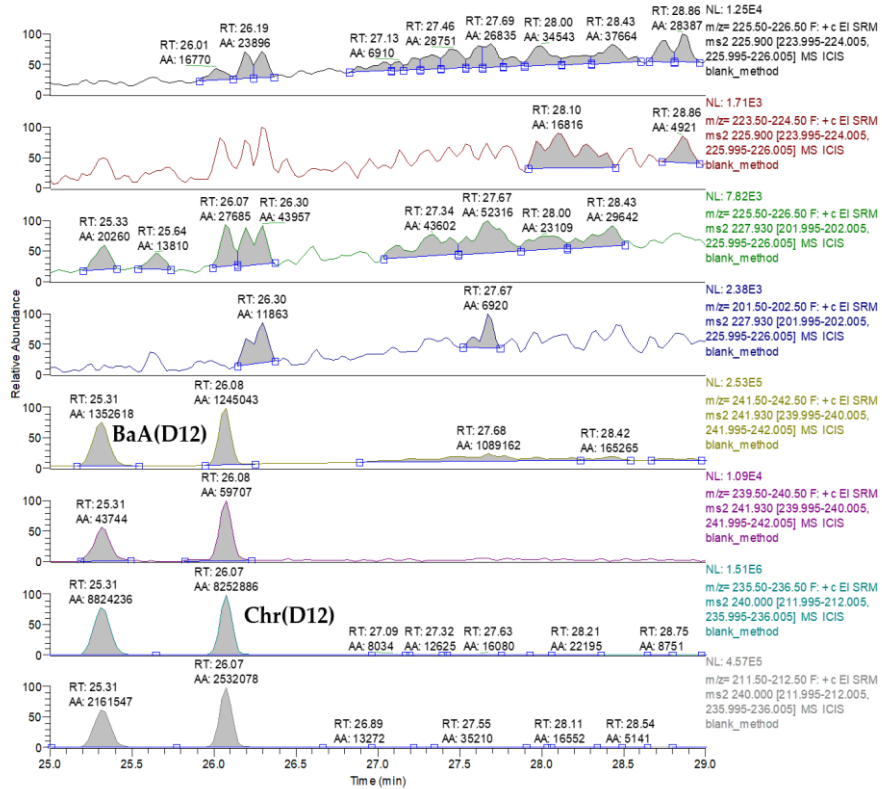
(b)

RT: 10.00 - 20.00

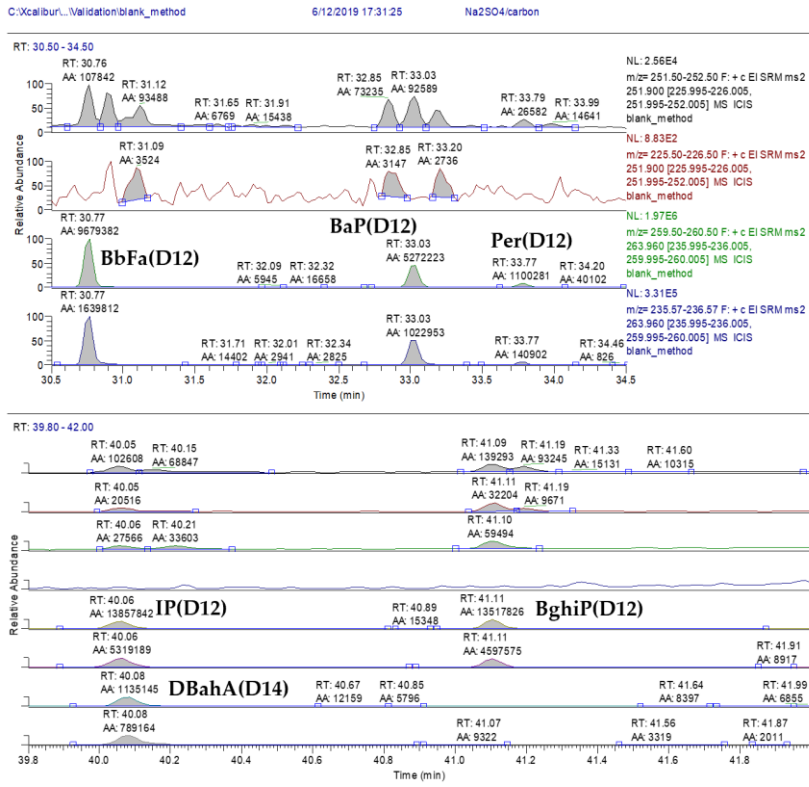


(y)

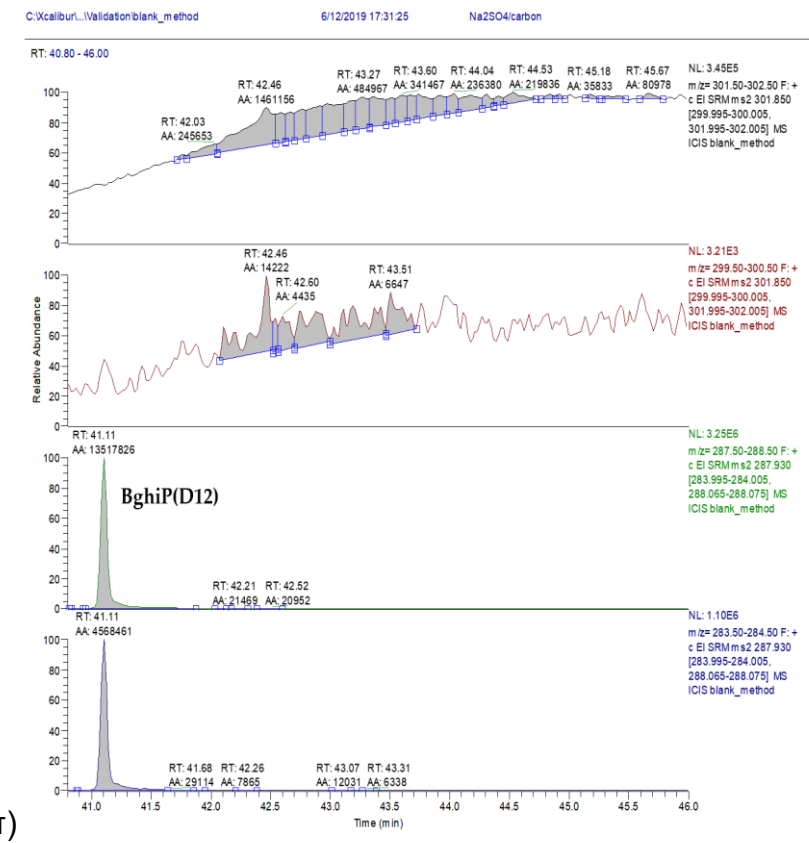
RT: 25.00 - 29.00



(delta)



(ε)



(σ)

Σχήμα 6: (α),(β),(γ),(δ),(ε),(σ) Χρωματογραφήματα ΠΑΥ τυφλού δείγματος με επισημασμένα πρότυπα (0.1 ng mL⁻¹)

Ευαισθησία μεθόδου

Ο κανονισμός 836/2011 της Ε.Ε. ορίζει ως αποδεκτές τιμές συγκεντρώσεων του Ορίου Ανίχνευσης (Limit of detection, LOD) και Ορίου Ποσοτικοποίησης (Limit of quantitation, LOQ) για κάθε έναν από τους τέσσερις ΠΑΥ βενζο[α]πυρένιο, βενζο[α]ανθρακένιο, βενζο[β]φλουορανθένιο και χρυσένιο τα $LOD \leq 0,30 \mu\text{g kg}^{-1}$ και $LOQ \leq 0,90 \mu\text{g kg}^{-1}$ αντίστοιχα.

LOD και LOQ της μεθόδου

Το όριο ανίχνευσης (LOD) προσδιορίστηκε ως η χαμηλότερη συγκέντρωση για την οποία διαπιστώνεται αποδεκτός λόγος σήμα: θόρυβο 3:1, λόγος αφθονίας ιόντων σε ποσοστό $\pm 15\%$ της θεωρητικής τιμής και απόκλιση του συντελεστή σχετικής απόκρισης από τη μέση τιμή $\leq 20\%$.

Το όριο ποσοτικοποίησης (LOQ) υπολογίζεται από το LOD με βάση τον τύπο $LOQ = 3 \times LOD$.

Στον πίνακα που ακολουθεί παρουσιάζονται τα LOD και LOQ που υπολογίσθηκαν για κάθε ΠΑΥ.

Πίνακας 10: Όρια ανίχνευσης (LOD) και όρια ποσοτικοποίησης (LOQ) ($\mu\text{g kg}^{-1}$)

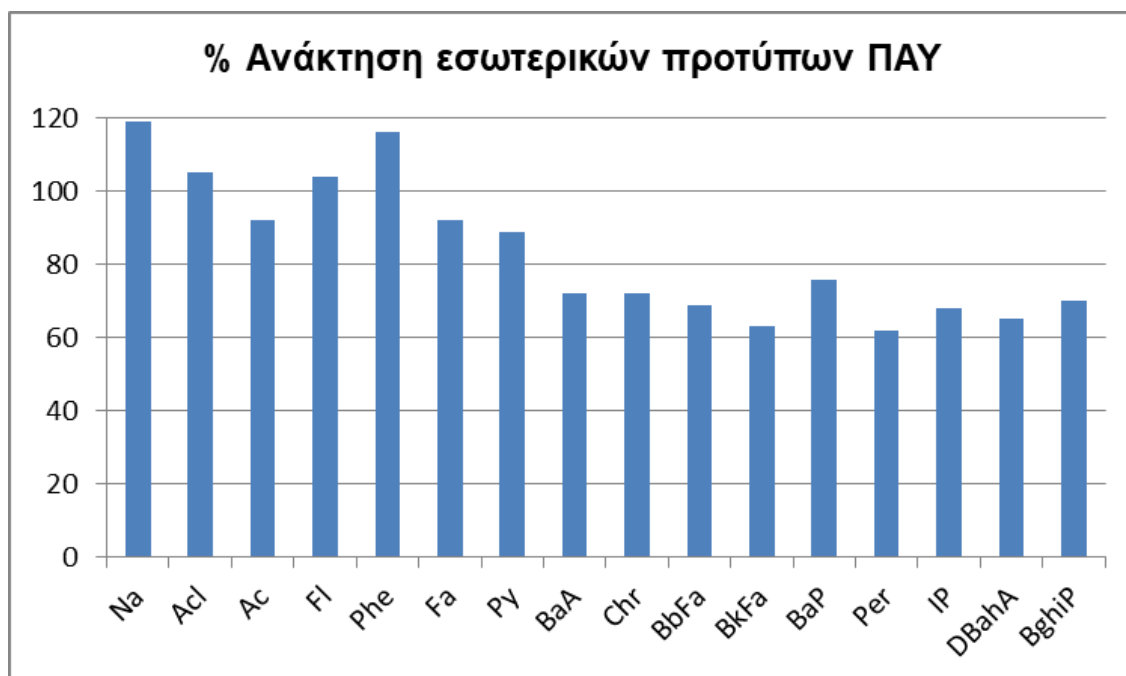
Αναλύτης	LOD	LOQ
Na	0.016	0.05
AcI	0.006	0.02
Ac	0.006	0.02
Fl	0.006	0.02
Phe	0.006	0.02
An	0.006	0.02
Fa	0.006	0.02
Py	0.006	0.02
BcFl	0.006	0.02
Cpp	0.006	0.02
BaA	0.006	0.02
Chr	0.006	0.02
5MeChr	0.006	0.02
BbFa	0.006	0.02
BkFa	0.006	0.02
BjFa	0.006	0.02
BeP	0.006	0.02
BaP	0.006	0.02
Per	0.006	0.02
IP	0.006	0.02
DBahA	0.016	0.05
BghiP	0.016	0.05
DBaI	0.033	0.10
DBaeP	0.033	0.10
DBaiP	0.033	0.10
DBahP	0.033	0.10

Ανάκτηση των επισημασμένων προτύπων

Οι ανακτήσεις (Recoveries, R) των επισημασμένων εσωτερικών προτύπων για τους ΠΑΥ, σε σχέση με το injection standard, υπολογίστηκαν ως μέση τιμή των ανακτήσεων για κάθε αναλύτη διεξάγοντας έξι αναλύσεις δειγμάτων ηλιέλαιου εμβολιασμένων με 2 και 5 ng για κάθε ισοτοπικά επισημασμένο ΠΑΥ. Οι τιμές ανάκτησης ικανοποιούν πλήρως τα κριτήρια του κανονισμού 836/2011 της Ε.Ε, σύμφωνα με τον οποίο οι ανακτήσεις των

βενζο[α]πυρενίου, βενζ[α]ανθρακενίου, βενζο[β]φλουορανθενίου και χρυσενίου πρέπει να κυμαίνονται μεταξύ 50-120%.

Στο Σχήμα 7 που ακολουθεί παρουσιάζονται οι ανακτήσεις των επισημασμένων εσωτερικών προτύπων ΠΑΥ.



Σχήμα 7: Ανακτήσεις (%R) ισοτοπικά επισημασμένων ΠΑΥ για συγκέντρωση 10 ng g⁻¹

Γραμμικότητα και εύρος

Για την εκτίμηση της γραμμικότητας της μεθόδου παρασκευάστηκαν πρότυπα διαλύματα βαθμονόμησης (calibration standard), όπως περιγράφεται στο κεφάλαιο 5.3 και συγκεκριμένα στον Πίνακα 5. Οι συντελεστές σχετικής απόκρισης (RRF) βρέθηκαν σταθεροί για κάθε ΠΑΥ σε όλο το εύρος βαθμονόμησης των 5 συγκεντρώσεων (συμπεριλαμβανομένου και του 0 ng mL⁻¹), με τον συντελεστή μεταβλητότητας (Coefficient Variation-CV) να κυμαίνεται κάτω του 20%, καθιστώντας τη μέθοδο γραμμική.

Ακρίβεια μεθόδου (Ορθότητα και πιστότητα)

Η ακρίβεια της μεθόδου αξιολογήθηκε με την ανάλυση δείγματος ηλιέλαιου εμβολιασμένου σε δύο επίπεδα συγκεντρώσεων: 2 ng g⁻¹ και 5 ng g⁻¹. Το μη εμβολιασμένο ηλιέλαιο αναλύθηκε επίσης και δεν βρέθηκε να περιέχει ΠΑΥ. Η

ανάλυση επαναλήφθηκε 6 φορές για τα δυο επίπεδα συγκεντρώσεων για να διαπιστωθεί η ενδοεργαστηριακή αναπαραγωγιμότητα της μεθόδου. Η ορθότητα (Trueness) βρέθηκε να κυμαίνεται από -0,67% έως +18,67% όπως υπολογίστηκε από τον τύπο:

$$(\%) \text{ Ορθότητα (T)} = [(C_{\text{mean}} - C_{\text{spiked}}) / C_{\text{spiked}}] * 100$$

όπου, C_{mean} : μέση τιμή συγκεντρώσεων που προσδιορίστηκαν

C_{spiked} : τιμή συγκέντρωσης εμβολιασμού

Ο Ευρωπαϊκός κανονισμός 836/2011 απαιτεί η πιστότητα RSD να έχει τιμή μικρότερη της τιμής του συντελεστή $HORRAT_R$ ή να έχει τιμή μικρότερη του 20, για κάθε έναν από τους 4 ΠΑΥ βενζο[a]πυρένιο, βενζο[a]ανθρακένιο, βενζο[b]φλουορανθένιο και χρυσένιο. Η ορθότητα της μεθόδου εξετάστηκε και με την ανάλυση δειγμάτων διεργαστηριακών δοκιμών, όπως περιγράφεται στην επόμενη παράγραφο.

Ακολουθεί ο πίνακας με τις τιμές στόχους, τις συγκέντρωσεις που προσδιορίστηκαν (C_{mean}), τις τιμές τυπικής απόκλισης (SD) και σχετικής τυπικής απόκλισης-πιστότητας (%RSD) που υπολογίστηκαν.

Πίνακας 11: Παράμετροι πιστότητας και ορθότητας

Αναλύτης	Τιμή στόχος: 2 ng g ⁻¹			Τιμή στόχος: 5 ng g ⁻¹		
	C _{mean}	SD	%RSD	C _{mean}	SD	%RSD
Na	2.51	0.48	19.00	5.19	0.40	7.66
Acl	2.58	0.19	7.38	5.42	0.28	5.16
Ac	2.25	0.22	9.78	5.20	0.61	11.75
Fl	2.19	0.41	18.69	4.57	0.55	11.94
Phe	2.58	0.06	2.29	5.35	0.12	2.34
An	2.13	0.06	2.72	4.97	0.17	3.41
Fa	2.22	0.20	9.21	5.35	0.16	2.99
Py	2.27	0.10	4.50	5.32	0.11	2.11
BcFl	2.26	0.13	5.74	5.70	0.20	3.43
BaA	2.37	0.17	7.23	5.41	0.29	5.35
Chr	2.16	0.08	3.65	4.97	0.15	3.03
Cpp	2.34	0.17	7.12	5.67	0.55	9.67
5MeChr	2.19	0.16	7.13	4.90	0.19	3.88
BbFa	2.19	0.22	9.86	5.53	0.26	4.79
BkFa	2.27	0.20	8.61	5.21	0.46	8.74
BjFa	2.15	0.48	19.88	5.28	0.52	9.85
BeP	2.21	0.12	5.52	5.58	0.13	2.26
BaP	2.45	0.30	12.22	5.81	0.24	4.21
Per	2.14	0.15	6.83	5.53	0.16	2.88
IP	1.92	0.08	4.25	4.58	0.18	3.89

DBahA	1.92	0.08	4.10	4.65	0.14	2.98
BghiP	2.05	0.03	1.55	4.72	0.12	2.52
DBaIP	2.40	0.27	11.37	5.44	0.56	10.34
DBaeP	2.34	0.45	19.15	5.56	0.27	4.80
DBaiP	2.24	0.37	16.57	5.39	0.40	7.35
DBahP	2.28	0.30	13.12	5.42	0.39	7.15

Αποτελέσματα ανάλυσης σε δείγματα διεργαστηριακών δοκιμών

Η ορθότητα και η αξιοπιστία της μεθόδου που αναπτύχθηκε ελέγχθηκαν επίσης μέσω διεργαστηριακών δοκιμών από το Ευρωπαϊκό Δίκτυο Εργαστηρίων Αναφοράς για τους Πολυκυκλικούς Αρωματικούς Υδρογονάνθρακες. Τα δείγματα διεργαστηριακών δοκιμών παραχωρήθηκαν από το Χημείο του Κράτους, Α' Χ.Υ. Αθηνών, Τμήμα Β', Εργαστήριο Τροφίμων, που είναι και το Εργαστήριο Αναφοράς για τους ΠΑΥ στα τρόφιμα στην Ελλάδα.

Με τη μέθοδο που αναπτύχθηκε προσδιορίστηκαν οι συγκεντρώσεις των τεσσάρων δεικτών ΠΑΥ στα τρόφιμα (βενζο[α]πυρένιο, βενζο[α]ανθρακένιο, βενζο[b]φλουορανθένιο και χρυσένιο) ή των 15+1 ΠΑΥ της Ε.Ε. Τα κριτήρια για επιτυχή συμμετοχή στις διεργαστηριακές δοκιμές βασίζονται στην αξιολόγηση των αποτελεσμάτων των συγκεντρώσεων κάθε ΠΑΥ συγκριτικά με τις γνωστές τιμές στόχους (assigned values) και των υπολογισθέντων z scores.

Πιο συγκεκριμένα ο υπολογισμός του z-score γίνεται ως εξής:

$$z = (x_{\text{lab}} - x_{\text{assigned}}) / \sigma_p$$

x_{lab} : συγκέντρωση που υπολογίστηκε από τη μέθοδο που εφαρμόστηκε

x_{assigned} : τιμή στόχος

σ_p : τυπική απόκλιση

Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 12.

Πίνακας 12: Συγκέντρωση που υπολογίστηκε ($\mu\text{m kg}^{-1}$), τιμή στόχος ($\mu\text{m kg}^{-1}$) και z score σε δείγματα διεργαστηριακών δοκιμών

	Βενζο(α)ανθρακένιο			Χρυσένιο			Βενζο[b] φλουορανθένιο			Βενζο[a] πυρένιο		
	X _{lab}	X _{assigned}	Z- score	X _{lab}	X _{assigned}	Z- score	X _{lab}	X _{assigned}	Z- score	X _{lab}	X _{assigned}	Z- score
Ελαιόλαδο	2,90	3,91	1,26	1,65	2,46	1,59	1,25	1,71	1,24	2,99	2,97	0,03
Ελαιόλαδο	2,38	2,79	0,71	2,33	2,77	0,77	5,12	5,32	0,19	2,54	2,27	0,56
Ελαιόλαδο	0,84	1,17	*	1,83	2,19	*	2,07	2,60	*	1,45	1,36	*
Σκόνη κακάο	0,73	0,88	0,83	0,94	1,23	1,16	0,29	0,46	1,70	0,25	0,44	2,11

*Δεν δόθηκε η τυπική απόκλιση, ώστε να υπολογισθεί το z score.

Η αξιοπιστία της μεθόδου κρίνεται ως εξής:

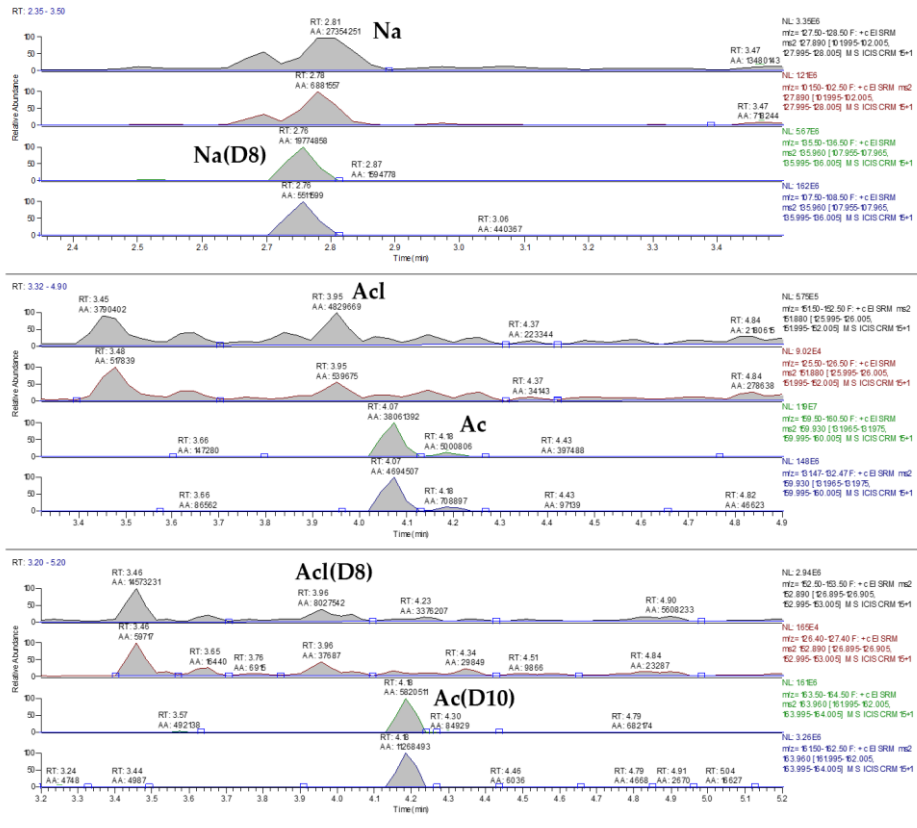
| score | \leq 2,0 = ικανοποιητική απόδοση

2,0 < | score | < 3,0 = αμφισβητήσιμη απόδοση

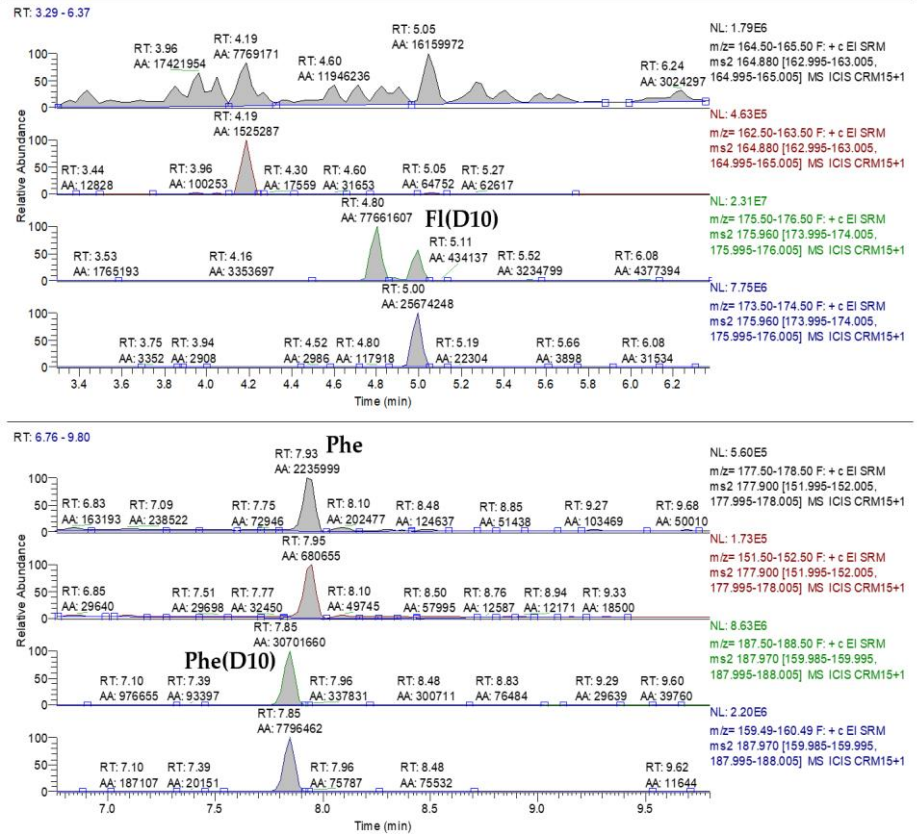
| score | \geq 3,0 = μη ικανοποιητική απόδοση

Όπως φαίνεται στον Πίνακα 12, η μέθοδος απέδειξε ικανοποιητική απόδοση σε όλες τις περιπτώσεις με z-scores < 2, εκτός από τον προσδιορισμό του βενζο[a]πυρενίου στη σκόνη κακάο, όπου το z-score υπολογίστηκε οριακά υψηλότερο του 2.

Ακολουθεί το χρωματογράφημα των ΠΑΥ του δείγματος ελαιολάδου διεργαστηριακής δοκιμής από το EURL-PAH.

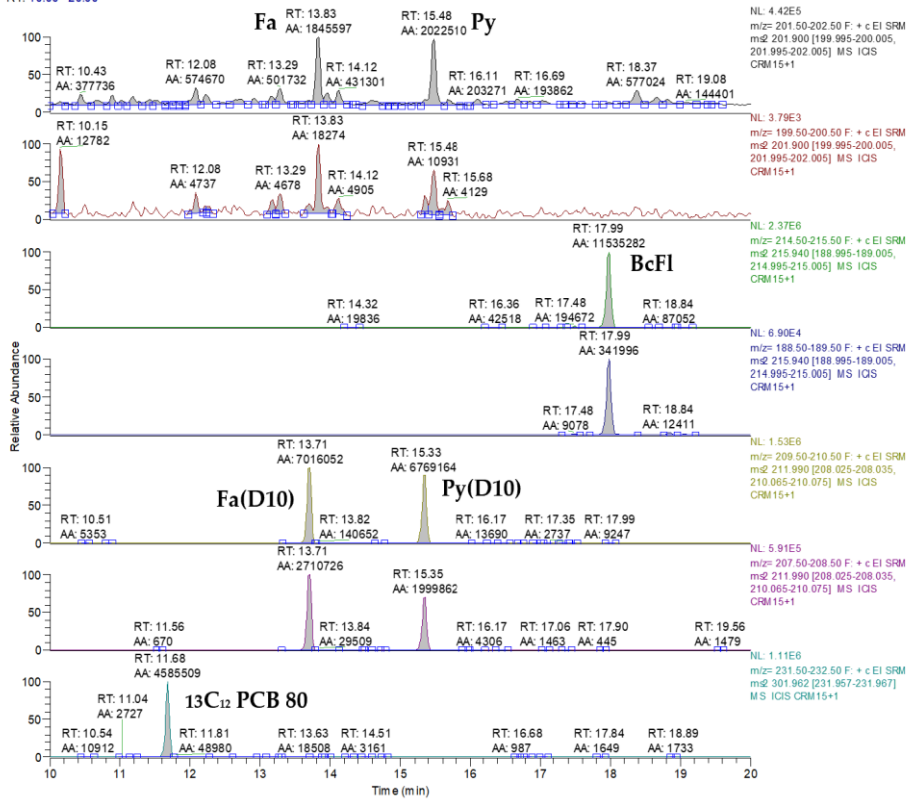


(a)



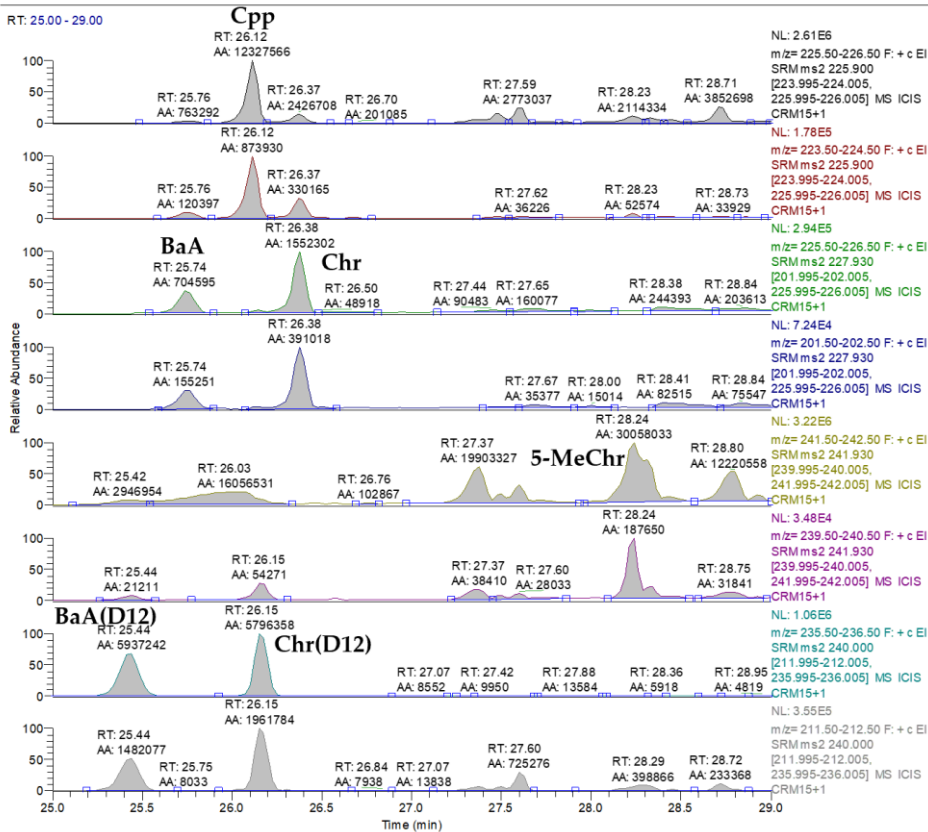
(b)

RT: 10.00 - 20.00

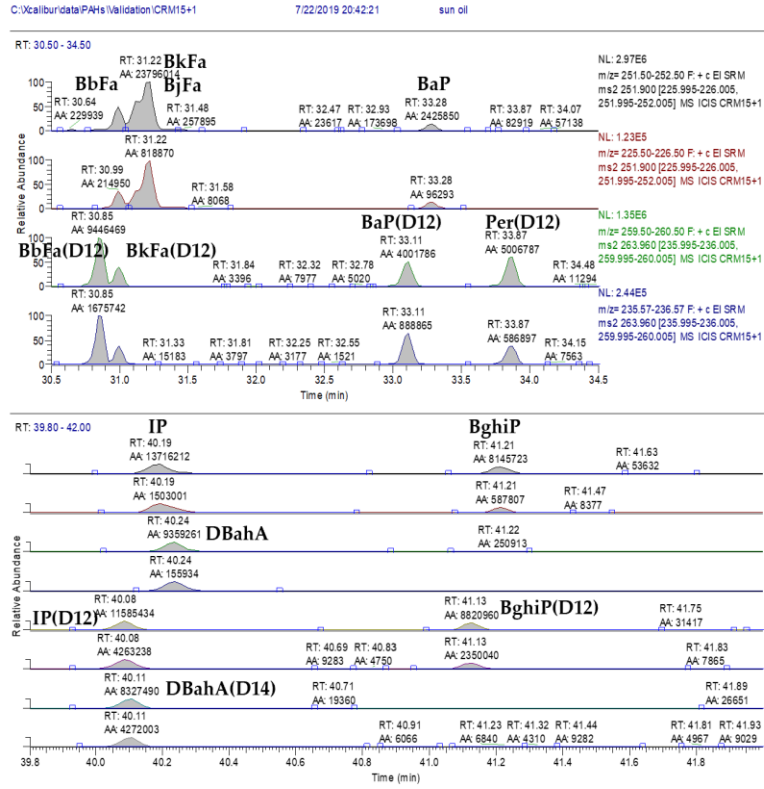


(Y)

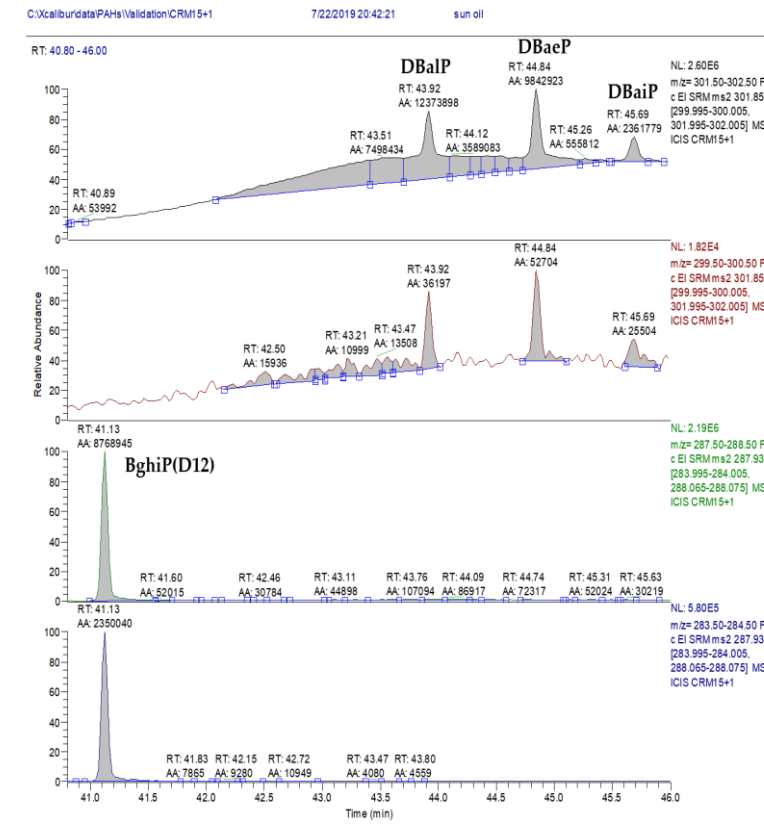
RT: 25.00 - 29.00



(D)



(ε)



(στ)

Σχήμα 8: (α),(β),(γ),(δ),(ε),(στ) Χρωματογραφήματα ΠΑΥ δείγματος διεργαστηριακής δοκιμής από το EURL-PAH

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΜΕΘΟΔΟΥ ΣΕ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΜΥΔΙΩΝ

7.1 Επίπεδα συγκεντρώσεων ΠΑΥ στα μύδια

Με την μέθοδο που αναπτύχθηκε αναλύθηκαν δείγματα μυδιών συλλεγμένα από τη Διεύθυνση Κτηνιατρικής, Γενική Διεύθυνση Αγροτικής Οικονομίας και Κτηνιατρικής, της Περιφέρειας Κεντρικής Μακεδονίας στο πλαίσιο εθνικού προγράμματος ελέγχου για την περίοδο 2018-2019. Τα μύδια επιλέχθηκαν για την εφαρμογή της μεθόδου λόγω της ικανότητάς τους να φιλτράρουν καθημερινά μεγάλες ποσότητες θαλασσινού νερού, λειτουργώντας έτσι σαν «δείκτες» ρύπανσης του υδάτινου οικοσυστήματος. Επομένως, μια πιθανή ρύπανση από ΠΑΥ στην περιοχή, θα αποτυπωνόταν και στο προφίλ συγκεντρώσεων των μυδιών.

Πίνακας 13: Κωδικοί δείγματος και αριθμός σταθμών/δειγμάτων ανά περιοχή δειγματοληψίας

Περίοδος δειγ/ψίας	Νομός Θεσσαλονίκης	Νομοί Πιερίας και Ημαθίας	Νομοί Χαλκιδικής και Σερρών
Άνοιξη:			
21/05/2018 - 30/05/2018	M1.άνοιξη	M2.άνοιξη	M3.άνοιξη
	9 σταθμοί	9 σταθμοί	3 σταθμοί
Χειμώνας:			
04/02/2019 - 20/05/2019	M1.χειμώνας	M2. χειμώνας	M3. χειμώνας
	9 σταθμοί	5 σταθμοί	3 σταθμοί
Καλοκαίρι:			
08/07/2019 - 09/07/2019	M1.καλοκαίρι	M2. καλοκαίρι	M3. καλοκαίρι
	9 σταθμοί	5 σταθμοί	3 σταθμοί

Η μέση περιεκτικότητα σε λίπος των δειγμάτων ήταν 1,67% (εύρος: 0,42%-2,96%). Οι συγκεντρώσεις των 26 ΠΑΥ που προσδιορίστηκαν στα 51 δείγματα μυδιών παρουσιάζονται στον Πίνακα 14.

Για τις περιπτώσεις εκείνες που οι συγκεντρώσεις βρέθηκαν κάτω από το όριο ποσοτικοποίησης, αντικαταστάθηκαν με την τιμή του ορίου ποσοτικοποίησης. Σύμφωνα με την EFSA «τα σενάρια ανθρώπινης έκθεσης συστήνεται να βασίζονται στις τιμές των μέσων ανώτερων ασυγκεντρώσεων (upperbound)». Οι μέσες ανώτερες τιμές συγκεντρώσεων υπολογίζονται με την παραδοχή ότι όλες οι τιμές κάτω από το LOQ αντικαθίστανται με την τιμή του LOQ. Επομένως, σε όλους τους υπολογισμούς συνόλων ΠΑΥ ($\Sigma_{\text{ΠΑΥ}}$), χρησιμοποιήθηκαν οι μέσες ανώτερες τιμές, εξετάζοντας έτσι το χειρότερο δυνατό σενάριο (worst case scenario), παρόλο που αυτό οδηγεί σε πιθανή υπερκτίμηση των επιπέδων.

Ανιχνεύθηκαν ΠΑΥ σε όλα τα δείγματα μυδιών. Το φλουορένιο, το φλουορανθένιο, το πυρένιο και το φαινανθρένιο ήταν οι κυρίαρχοι ΠΑΥ και βρέθηκαν σε όλα τα δείγματα. Οι τιμές των βενζο[g,h,i]περυλενίου, διβενζο[a,h]ανθρακενίου, διβενζο[a,i]περυλενίου, διβενζο[a,e]περυλενίου, διβενζο[a,l]περυλενίου και διβενζο[a,h]περυλενίου βρέθηκαν κάτω από το LOQ και το LOD σε όλα τα δείγματα. Από τους 26 ΠΑΥ που προσδιορίστηκαν, το φαινανθρένιο είχε τα υψηλότερα επίπεδα συγκέντρωσης, ενώ το ινδενό(1,2,3-c d) πυρένιο τα χαμηλότερα.

Οι μέσες ανώτερες συγκεντρώσεις για κάθε ΠΑΥ, η διάμεση τιμή των συγκεντρώσεων, το εύρος των συγκεντρώσεων και το σύνολο των μέσων ανώτερων συγκεντρώσεων, ανά σημείο δειγματοληψίας, για τα διάφορα αθροίσματα $\Sigma_{\text{ΠΑΥ}}$, παρουσιάζονται στον Πίνακα 15. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε $\mu\text{g kg}^{-1}$ νωπού βάρους.

Πίνακας 15: Μέσες ανώτερες συγκεντρώσεις (Mean) και τα σύνολά τους για κάθε άθροισμα ΠΑΥ, διάμεσος των συγκεντρώσεων (Median) και εύρος τιμών (Range), ανά σημείο δειγματοληψίας ($\mu\text{g kg}^{-1}$ νωπού βάρους)

ΠΑΥ	M1			M2			M3		
	Mean	Median	Range	Mean	Median	Range	Mean	Median	Range
Na	0.10	0.05	<LOQ - 0.85	0.08	0.05	<LOQ - 0.54	0.24	0.05	<LOQ - 1.72
AcI	0.31	0.18	<LOQ - 2.11	0.20	0.09	<LOQ - 1.42	0.19	0.18	<LOQ - 0.48
Ac	0.07	0.02	<LOQ - 0.51	0.06	0.04	<LOQ - 0.28	0.11	0.11	<LOQ - 0.29
Fl	0.82	0.63	0.08 - 2.99	0.36	0.37	0.08 - 0.81	0.56	0.58	0.13 - 0.98
Phe	1.78	0.74	0.28 - 7.62	0.62	0.45	0.28 - 2.13	0.95	0.53	0.35 - 2.43
An	0.07	0.06	<LOQ - 0.29	0.04	0.04	<LOQ - 0.07	0.09	0.06	<LOQ - 0.46
Fa	0.91	0.20	0.06 - 3.75	0.31	0.16	0.06 - 1.39	0.94	0.11	0.04 - 5.07
Py	0.27	0.09	0.02 - 1.24	0.82	0.10	0.02 - 9.29	0.41	0.13	0.02 - 2.56
BcFl	0.07	0.02	<LOQ - 0.45	0.04	0.02	<LOQ - 0.16	0.10	0.04	<LOQ - 0.47
BaA	0.05	0.02	<LOQ - 0.24	0.04	0.02	<LOQ - 0.23	0.06	0.03	<LOQ - 0.24
Chr	0.24	0.09	<LOQ - 1.44	0.29	0.07	<LOQ - 1.57	0.42	0.07	<LOQ - 2.01
CpP	0.04	0.02	<LOQ - 0.14	0.10	0.03	<LOQ - 0.48	0.05	0.02	<LOQ - 0.27
5MeChr	0.09	0.08	<LOQ - 0.54	0.10	0.06	<LOQ - 0.46	0.13	0.06	<LOQ - 0.76
BbFa	0.07	0.05	<LOQ - 0.29	0.10	0.05	<LOQ - 0.45	0.21	0.05	<LOQ - 1.41
BkFa	0.06	0.02	<LOQ - 0.36	0.06	0.02	<LOQ - 0.24	0.25	0.03	<LOQ - 1.88
BjFa	0.06	0.03	<LOQ - 0.32	0.06	0.03	<LOQ - 0.23	0.24	0.03	<LOQ - 1.69
BaP	0.09	0.02	<LOQ - 0.47	0.09	0.02	<LOQ - 0.34	0.29	0.02	<LOQ - 2.11
BeP	0.10	0.06	<LOQ - 0.40	0.14	0.06	<LOQ - 0.66	0.27	0.04	<LOQ - 1.87
Per	0.22	0.09	<LOQ - 1.20	0.22	0.14	<LOQ - 0.94	0.14	0.05	<LOQ - 0.71
IP	0.03	0.02	<LOQ - 0.10	0.04	0.02	<LOQ - 0.12	0.06	0.02	<LOQ - 0.25
DBahA	0.05	0.05	<LOQ	0.05	0.05	<LOQ	0.05	0.05	<LOQ
BghiP	0.05	0.05	<LOQ	0.05	0.05	<LOQ	0.05	0.05	<LOQ
DBaIP	0.10	0.10	<LOQ	0.10	0.10	<LOQ	0.10	0.10	<LOQ
DBaeP	0.10	0.10	<LOQ	0.10	0.10	<LOQ	0.10	0.10	<LOQ
DBaiP	0.10	0.10	<LOQ	0.10	0.10	<LOQ	0.10	0.10	<LOQ
DBahP	0.10	0.10	<LOQ	0.08	0.10	<LOQ	0.24	0.10	<LOQ
$\Sigma_{26\text{ΠΑΥ}}$	5.96	3.59	1.92 - 16.03	4.27	5.28	1.37 - 12.33	6.21	2.82	2.03 - 25.59
$\Sigma_{16\text{ΠΑΥ}}$	4.98	2.96	1.07 - 15.36	3.21	1.96	0.76 - 11.18	4.88	2.67	1.25 - 19.42
$\Sigma_{15+1\text{ΠΑΥ}}$	1.29	0.94	0.70 - 3.75	1.42	0.87	0.72 - 4.16	2.32	0.97	0.71 - 11.47
$\Sigma_{4\text{ΠΑΥ}}$	0.45	0.21	0.08 - 2.42	0.53	0.16	0.09 - 2.35	0.98	0.16	0.09 - 5.77

$\Sigma_{26\text{ΠΑΥ}}$: Άθροισμα μέσων συγκεντρώσεων των 26 ΠΑΥ

$\Sigma_{16\text{ΠΑΥ}}$: Άθροισμα μέσων συγκεντρώσεων των 16 ΠΑΥ της ΕΡΑ

$\Sigma_{15+1\text{ΠΑΥ}}$: Άθροισμα μέσων συγκεντρώσεων των 15+1 ΠΑΥ της Ευρωπαϊκής Ένωσης

$\Sigma_{4\text{ΠΑΥ}}$: Άθροισμα μέσων συγκεντρώσεων των 4 ΠΑΥ του ορίου της Ευρωπαϊκής Ένωσης

Οι συγκεντρώσεις των $\Sigma_{26\text{ΠAY}}$ στα μύδια κυμαίνονταν από 1,37 έως 25,59 $\mu\text{g kg}^{-1}$, με τις χαμηλότερες τιμές να αντιστοιχούν στα μύδια που ελήφθησαν την άνοιξη από τον σταθμό M2 και τις μέγιστες τιμές στα μύδια που ελήφθησαν από τον σταθμό M3 το χειμώνα. Η μέση ανώτερη συγκέντρωση για το σύνολο των 26 ΠAY ($\Sigma_{26\text{ΠAY}}$) για τα μύδια από τον σταθμό M1, συνολικά και για τις τρεις περιόδους δειγματοληψίας ήταν στα 5,96 $\mu\text{g kg}^{-1}$, για τα μύδια από τον M2 ήταν στα 4,27 $\mu\text{g kg}^{-1}$ και για εκείνα από τον M3 ήταν στα 6,21 $\mu\text{g kg}^{-1}$, τιμές σχετικά παρόμοιες μεταξύ τους. Ομοίως, δεν παρατηρούνται σημαντικές διαφορές στα αθροίσματα των μέσων συγκεντρώσεων των $\Sigma_{16\text{ΠAY}}$, $\Sigma_{15+1\text{ΠAY}}$ και $\Sigma_{4\text{ΠAY}}$, μεταξύ των τριών τοποθεσιών, όπως φαίνεται στον Πίνακα 15. Συγκεκριμένα, για το σύνολο $\Sigma_{16\text{ΠAY}}$ οι τιμές διαμορφώθηκαν στα 4,98, 3,21 και 4,88 $\mu\text{g kg}^{-1}$ για τα σημεία M1, M2 και M3 αντίστοιχα, για το σύνολο $\Sigma_{15+1\text{ΠAY}}$ στα 1,29, 1,42 και 2,32 $\mu\text{g kg}^{-1}$ και για το σύνολο $\Sigma_{4\text{ΠAY}}$ στα 0,45 $\mu\text{g kg}^{-1}$, 0,53 $\mu\text{g kg}^{-1}$ και 0,98 $\mu\text{g kg}^{-1}$ στα M1, M2 και M3 αντιστοίχως. Το βενζο[a]πυρενίου βρέθηκε στα 0,09 $\mu\text{g kg}^{-1}$ στα μύδια από το σημείο M1 και M2, ενώ στα μύδια από το M3 η μέση συγκέντρωση του βενζο[a]πυρενίου ήταν στα 0,29 $\mu\text{g kg}^{-1}$.

Στον Πίνακα 16 παρουσιάζονται οι μέσες ανώτερες συγκεντρώσεις βενζο[a]πυρενίου και αθροισμάτων $\Sigma_{\text{ΠAY}}$, ανά εποχή στα σημεία δειγματοληψίας, η συνολική μέση ανώτερη εποχιακή τιμή και το εύρος των τιμών των συγκεντρώσεων. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε $\mu\text{g kg}^{-1}$ νωπού βάρους.

Πίνακας 16: Μέσες ανώτερες συγκεντρώσεις (Μ.Α.Συγκ.) ΒαΡ και Σ_{ΠΑΥ}, συνολική μέση ανώτερη εποχιακή συγκέντρωση (Μ.Εποχ.Συγκ.) και εύρος τιμών, ανά εποχή (μg kg⁻¹ ν.β.)

		Άνοιξη			Χειμώνας			Καλοκαίρι		
		Μ.Α. Συγκ.	Μ.Εποχ. Συγκ.	Εύρος	Μ.Α. Συγκ.	Μ.Εποχ. Συγκ.	Εύρος	Μ.Α. Συγκ.	Μ.Εποχ. Συγκ.	Εύρος
ΒαΡ	M1	0.03			0.18			0.07		
	M2	0.02	0.02	<LOQ - 0.06	0.15	0.28	<LOQ - 2.11	0.12	0.08	<LOQ - 0.34
	M3	0.02			0.83			0.02		
Σ_{26ΠΑΥ}	M1	2.70			11.60			3.59		
	M2	1.81	2.45	1.37 - 4.50	5.71	10.12	2.28 - 25.59	5.28	3.95	1.97 - 12.33
	M3	2.77			13.05			2.82		
Σ_{16ΠΑΥ}	M1	1.83			10.51			2.61		
	M2	1.12	1.66	0.76 - 3.40	4.44	8.70	0.13 - 19.42	4.09	2.97	1.28 - 11.18
	M3	2.06			10.36			2.21		
Σ_{15+1ΠΑΥ}	M1	0.96			2.01			0.90		
	M2	0.78	0.89	0.72 - 2.04	2.29	2.67	0.83 - 11.47	1.18	0.97	0.70 - 2.17
	M3	0.89			5.24			0.84		
Σ_{4ΠΑΥ}	M1	0.16			0.99			0.20		
	M2	0.14	0.15	0.08 - 0.26	1.16	1.34	0.13 - 5.77	0.28	0.21	0.08 - 0.74
	M3	0.16			2.66			0.13		

Σ_{26ΠΑΥ}: Άθροισμα μέσων συγκεντρώσεων των 26 ΠΑΥ

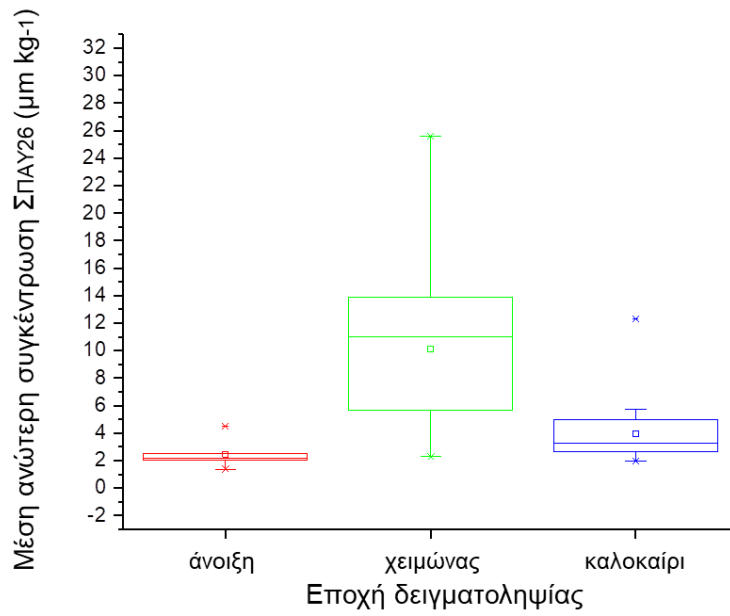
Σ_{16ΠΑΥ}: Άθροισμα μέσων συγκεντρώσεων των 16 ΠΑΥ της ΕΡΑ

Σ_{15+1ΠΑΥ}: Άθροισμα μέσων συγκεντρώσεων των 15+1 ΠΑΥ της Ευρωπαϊκής Ένωσης

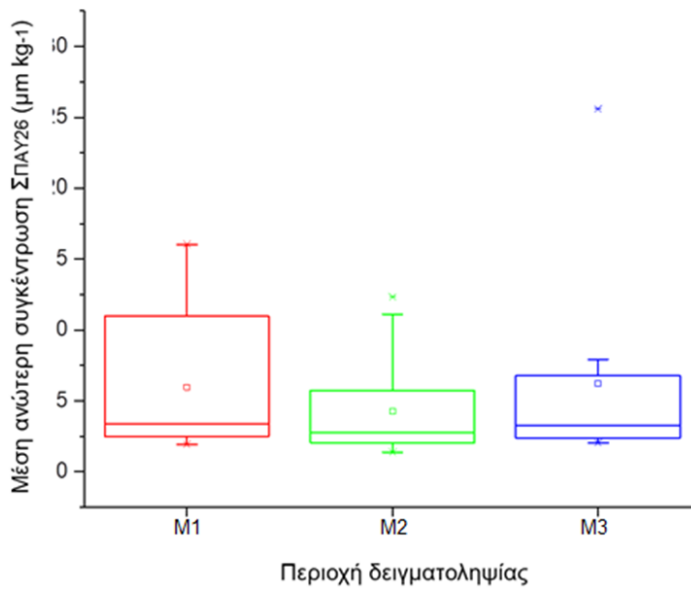
Σ_{4ΠΑΥ}: Άθροισμα μέσων συγκεντρώσεων των 4 ΠΑΥ του ορίου της Ευρωπαϊκής Ένωσης

Τα δείγματα από τη χειμερινή περίοδο δειγματοληψίας είχαν τα υψηλότερα επίπεδα συγκέντρωσης για το άθροισμα των 26 ΠΑΥ, με τη συνολική μέση ανώτερη εποχιακή συγκέντρωση στα $10,12 \mu\text{g kg}^{-1}$, ακολουθούμενα από τα μύδια της θερινής περιόδου με $\Sigma_{26\text{ΠΑΥ}}$ στα $3,95 \mu\text{g kg}^{-1}$, ενώ οι χαμηλότερες συγκεντρώσεις, στα $2,45 \mu\text{g kg}^{-1}$, ανιχνεύθηκαν στα μύδια από την εαρινή περίοδο δειγματοληψίας. Ακολουθώντας την ίδια τάση εποχιακής διακύμανσης των τιμών για το άθροισμα των 26 ΠΑΥ, οι υψηλότερες μέσες ανώτερες τιμές για τα αθροίσματα $\Sigma_{16\text{ΠΑΥ}}$, $\Sigma_{15+1\text{ΠΑΥ}}$ και $\Sigma_{4\text{ΠΑΥ}}$ αφορούσαν στη χειμερινή περίοδο, ακολουθούμενες από αυτές της θερινής περιόδου και τέλος από αυτές της άνοιξης. Ομοίως οι μέσες συγκεντρώσεις του βενζο[α]πυρενίου ήταν στα $0,02 \mu\text{g kg}^{-1}$ την άνοιξη, $0,28 \mu\text{g kg}^{-1}$ το χειμώνα και $0,08 \mu\text{g kg}^{-1}$ το καλοκαίρι. Η μέγιστη τιμή για το βενζο[α]πυρένιο βρέθηκε σε μύδια χειμερινής περιόδου από το σταθμό M3 και ήταν στα $2,11 \mu\text{g kg}^{-1}$. Σημαντική εποχιακή διακύμανση παρατηρήθηκε και στις τρεις θέσεις. Η εποχιακή αυτή διακύμανση επιβεβαιώνεται και στατιστικά ($P < 0,05$) (Σχήμα 9(α)). Η εποχιακή αυτή διακύμανση στις συγκεντρώσεις, συμφωνεί με τη βιβλιογραφία και αποδίδεται σε φυσιολογικές συνθήκες των πληθυσμών των μυδιών, που σχετίζονται με τα διαφορετικά στάδια του κύκλου ζωής τους^{175, 176}, καθώς και σε εποχιακές διακυμάνσεις βιοτικών και αβιοτικών παραγόντων που σχετίζονται με τους μηχανανισμούς μεταβολισμού των ΠΑΥ¹⁷⁷.

Παρόλο που τα μύδια από τους σταθμούς M1, στον Θερμαϊκό Κόλπο, αναμένονταν να είναι πιο επιβαρυσμένα, λόγω της βιομηχανικής, ναυτιλιακής και ανθρωπογενούς δραστηριότητας από την πόλη της Θεσσαλονίκης, δεν παρατηρήθηκε σημαντική χωρική διακύμανση στα μέσα επίπεδα των συγκεντρώσεων των ΠΑΥ μεταξύ των τριών τοποθεσιών M1, M2 και M3. Μέσω της δοκιμής ANOVA δεν διαπιστώθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ διαφορετικών σημείων δειγματοληψίας ($P > 0,05$) Σχήμα 9(β). Ωστόσο, το διπλάσιο εύρος των τιμών από τα δείγματα προερχόμενα από την περιοχή M1, συγκριτικά με το εύρος τιμών για τα M2 και M3, υποδεικνύει την παρουσία της προαναφερθείσας δραστηριότητας στην περιοχή.



(α)



(β)

Σχήμα 9: (α) Εποχιακή διακύμανση μέσωσν ανώτερων συγκεντρώσεων συνόλου 26 ΠΑΥ, (β) Χωρική διακύμανση μέσωσν ανώτερων συγκεντρώσεων συνόλου 26 ΠΑΥ

Το θεσμοθετημένο όριο της Ε.Ε. μέγιστων επιτρεπόμενων επιπέδων του βενζο[α]πυρενίου και του αθροίσματος των βενζο[α]πυρενίου, βενζο[α]ανθρακενίου, βενζο[β]φλουορανθενίου και χρυσενίου (ΠΑΥ4) στα νωπά δίθυρα μαλάκια είναι τα 5,0 και 30,0 $\mu\text{g kg}^{-1}$ αντίστοιχα. Επομένως, κανένα από τα 51 δείγματα που αναλύθηκαν δεν υπερβαίνει τις τιμές αυτές.

Συγκρίνοντας τα δεδομένα άλλων μελετών για την παρουσία των ΠΑΥ στα δίθυρα μαλάκια της Μεσόγειου Θάλασσας παρατηρούμε ανίχνευση μεγάλου εύρους συγκεντρώσεων, με τις τιμές να εξαρτώνται σημαντικά από την περιβαλλοντική επιβάρυνση της εκάστοτε περιοχής. Δίθυρα μαλάκια που προέρχονται από θάλασσες ή εκβολές ποταμών κοντά σε περιοχές με έντονη βιομηχανική και ναυπηγική δραστηριότητα, με διυλιστήρια, λοιπές δραστηριότητες πετρελαίου και αστικές εκπομπές, εμφανίζουν υψηλά επίπεδα ΠΑΥ⁹⁸.

Όπως έχει ήδη αναφερθεί στο Κεφάλαιο 1.2.1, προηγούμενες μελέτες για τα επίπεδα των ΠΑΥ σε ελληνικά μύδια, έδειξαν την υψηλότερη επιβάρυνση που υπάρχει στα μύδια που καλλιεργούνται στο Σαρωνικό κόλπο (Ελευσίνα, Σαλαμίνα κτλ.), συγκριτικά με εκείνα που καλλιεργούνται σε περιοχές χωρίς έντονη ναυτιλιακή και βιομηχανική δραστηριότητα, όπως ο Παγασητικός και Κορινθιακός κόλπος, αλλά και τα νησιά. Συγκεκριμένα, για τα μύδια του Σαρωνικού οι Valavanidis et al. (2008) υπολόγισαν το εύρος του αθροίσματος των μέσων συγκεντρώσεων για τους 16 ΠΑΥ της ΕΡΑ μεταξύ 219 και 2453 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ξηρού βάρους (ξ.β.)⁹⁹, οι Kasiotis et al. (2015), μεταξύ 5,7 και 518,1 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ξ.β.⁹⁷ και οι Tsangaris et al. (2011) για 24 ΠΑΥ βρήκαν εύρος αθροίσματος μέσων συγκεντρώσεων μεταξύ 25 έως 75 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ξ.β.⁹⁸ Για τα μύδια του Παγασητικού, Κορινθιακού και των νησιών, οι τιμές για το άθροισμα των 16 ΠΑΥ ήταν σαφώς μικρότερες, μεταξύ 3,5 και 41,5 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ξ.β. Λαμβάνοντας υπόψη ότι τα μύδια της Μεσογείου έχουν περιεκτικότητα σε υγρασία περίπου 85%¹⁷⁹, τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας εκφρασμένα ως $\mu\text{g kg}^{-1}$ ξηρού βάρους διαμορφώνονται ως εξής: εύρος μέσων ανώτερων συγκεντρώσεων $\Sigma_{26\text{ΠΑΥ}}$: 20,55 - 383 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ξ.β., $\Sigma_{16\text{ΠΑΥ}}$: 1,95 - 171,3 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ξ.β., $\Sigma_{15+1\text{ΠΑΥ}}$: 10,5 - 172,05 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ξ.β., $\Sigma_{4\text{ΠΑΥ}}$: 1,2 - 86,55 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ξ.β.

Έτσι, παρόλο που τα αποτελέσματα των άλλων μελετών δεν εκφράζονται ως μέσες ανώτερες και τα αποτελέσματα αυτής της εργασίας δίνουν σε ορισμένες περιπτώσεις υψηλότερη μέση ελάχιστη τιμή, οι μέγιστες τιμές που βρέθηκαν είναι σε παρόμοια ή και χαμηλότερα επίπεδα. Γενικά, οι τιμές συγκεντρώσεων που ανιχνεύθηκαν στην παρούσα εργασία είναι παρόμοιες ή και χαμηλότερες από εκείνες που έχουν δημοσιευθεί για τα μύδια άλλων Μεσογειακών χωρών¹⁸⁰. Συνεπώς, τα αποτελέσματα των χαμηλών συγκεντρώσεων στα μύδια που προέρχονται από σταθμούς υδατοκαλλιέργειας της Κεντρικής Μακεδονίας οφείλονται τόσο στη μικρή κλίμακα ρύπανση της περιοχής, όσο και στην εφαρμογή της βελτιστοποιημένης μεθόδου MS/MS, συγκριτικά με την HPLC και την MS, που εφαρμόζονται συνήθως, και μπορεί να οδηγήσουν σε λανθασμένους συνυπολογισμούς, λόγω αυξημένου θορύβου του υποβάθρου.

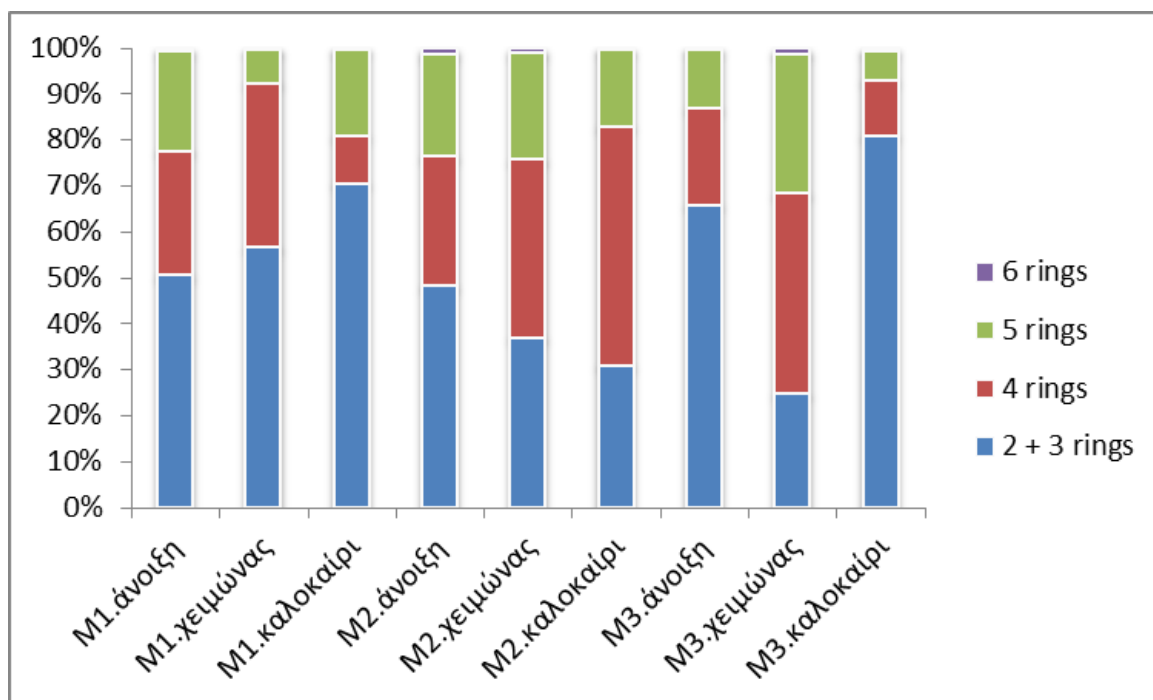
Στο τέλος του Κεφαλαίου 7 παρατίθεται ο Πίνακας 18 με τις δημοσιευμένες μελέτες για τα επίπεδα των ΠΑΥ σε μύδια προερχόμενα από την περιοχή της Μεσογείου.

7.2 Προφίλ κατανομής ΠΑΥ στα μύδια

Όπως έχει αναφερθεί στο θεωρητικό μέρος, η παρουσία ΠΑΥ μικρού μοριακού βάρους (Low Molecular Weight-LMW) ή ΠΑΥ μεγάλου μοριακού βάρους (High Molecular Weight-HMW) δίνει πληροφορίες σχετικά με την πιθανή πηγή προέλευσής τους στα μύδια. Για τη διερεύνηση του προφίλ κατανομής των ΠΑΥ στα δείγματα μυδιών, χρησιμοποιήθηκαν οι μέσες κατώτερες τιμές συγκεντρώσεων (lowerbound), λόγω των διαφορών στις τιμές των LOD και LOQ μεταξύ των ενώσεων. Οι μέσες κατώτερες τιμές συγκεντρώσεων υπολογίζονται με την παραδοχή ότι όλες οι τιμές κάτω από το LOQ αντικαθίστανται με την τιμή 0. Η χρήση των upperbound συγκεντρώσεων θα οδηγούσε σε διαφορετικές τιμές στο ποσοστό συμμετοχής κάθε ΠΑΥ και συνεπώς σε εσφαλμένη απόδοση των πηγών προέλευσης.

Όπως φαίνεται στο Σχήμα 10, οι ΠΑΥ μικρού μοριακού βάρους ήταν οι κυρίαρχοι στα μύδια που συλλέχθηκαν από την τοποθεσία M1 κατά τις τρεις περιόδους δειγματοληψίας. Για τα μύδια που προέρχονται από την περιοχή M2, τα επίπεδα των ΠΑΥ μικρού μοριακού βάρους ήταν υψηλότερα την

άνοιξη, αλλά το χειμώνα και το καλοκαίρι οι ΠΑΥ με 4 δακτυλίους, ήταν οι επικρατέστεροι. Όσον αφορά στα μύδια από την Μ3, την άνοιξη και το καλοκαίρι ανιχνεύθηκαν σε αυτά ως επί το πλείστον μικρού μοριακού βάρους ΠΑΥ, το χειμώνα όμως οι ΠΑΥ με 4 δακτυλίους συνέβαλαν περισσότερο στο προφίλ επιβάρυνσής τους. Η επικράτηση του μικρού μοριακού βάρους ΠΑΥ στο προφίλ κατανομής υποδηλώνει την προέλευσή τους από *πετροχημικές* διεργασίες, όπως διαρροές αργού πετρελαίου, ναυτική και ναυπηγική δραστηριότητα, βιομηχανικές εκπομπές, εκπομπές οχημάτων και απορρίψεις αστικών αποβλήτων. Οι ΠΑΥ με 4 αρωματικούς δακτυλίους θα μπορούσαν να προέρχονται είτε από *πετροχημικές* διεργασίες ή από *πυρολυτικές*, όπως άλλωστε και οι υπόλοιποι ΠΑΥ μεγάλου μοριακού βάρους με πέντε ή περισσότερους δακτυλίους.



Σχήμα 10: Προφίλ κατανομής των ΠΑΥ ανά τοποθεσία και εποχή δειγματοληψίας

7.3 Μοριακοί διαγνωστικοί λόγοι προέλευσης

Ένα ακόμη εργαλείο για τη διερεύνηση των πηγών προέλευσης των ΠΑΥ είναι οι διάφοροι μοριακοί διαγνωστικοί λόγοι, όπως οι LMW/HMW (> 1 πετροχημική προέλευση), Phe/An (> 15 πετροχημική ή <10 πυρολυτική προέλευση), Fa/Py (> 1 πυρολυτική προέλευση), Chr/BaA (<1 πυρολυτική

προέλευση)^{99,180}. Η χρήση αυτών των λόγων είναι ακριβέστερη σε δείγματα ιζημάτων και στα επιφανειακά ύδατα, αλλά εφαρμόζεται και σε δείγματα μυδιών στη διεθνή βιβλιογραφία.

Πίνακας 17: Μοριακοί Διαγνωστικοί Λόγοι Προέλευσης ΠΑΥ

	LMW/HMW	Phe/An	Fa/Py	Chr/BaA
M1.άνοιξη	1,02	15,63	2,92	5,00
M1.χειμώνας	1,30	33,22	3,60	5,87
M1.καλοκαίρι	2,40	10,60	1,72	7,43
M2.άνοιξη	0,93	15,11	1,87	4,14
M2.χειμώνας	0,59	19,96	1,45	10,11
M2.καλοκαίρι	0,45	11,13	1,09	8,00
M3.άνοιξη	1,94	27,00	1,52	7,00
M3.χειμώνας	0,33	32,33	2,43	9,35
M3.καλοκαίρι	4,25	2,84	1,15	3,00

Για τα μύδια από την περιοχή M1 οι διαγνωστικοί λόγοι διαμορφώθηκαν ως εξής: LMW/HMW>1, Phe/An>15 (εκτός από τα μύδια της θερινής περιόδου για τα οποία υπολογίσθηκε Phe/An=10,60) και Fa/Py>1, σε όλες τις εποχές, υποδηλώνοντας κυρίως πετροχημική προέλευση των ΠΑΥ, λόγω διεργασιών στην πόλη της Θεσσαλονίκης, όπως και ήταν αναμενόμενο.

Για τα μύδια από τους σταθμούς M2 και M3, που βρίσκονται σε πιο αγροτικές περιοχές, μακριά από μεγάλα αστικά κέντρα, παρατηρήθηκαν εποχιακές διακυμάνσεις μεταξύ των διαγνωστικών λόγων. Λαμβάνοντας υπόψη τους λόγους LMW/HMW και Phe/An, η προέλευση των ΠΑΥ για δείγματα της περιοχής M2, την περίοδο της άνοιξης, οφείλεται κυρίως σε πετροχημικές διεργασίες, ενώ οι αντίστοιχες τιμές αυτών των λόγων στα δείγματα του χειμώνα καθώς και του Fa/Py υποδεικνύουν και πηγές πυρολιτικής

προέλευσης εκτός από πετροχημικές. Κατά την περίοδο του καλοκαιριού στην περιοχή M2, οι τιμές των διαγνωστικών λόγων μαρτυρούν πυρολιτικές πηγές προέλευσης. Η επιβάρυνση των δειγμάτων που συλλέχθηκαν από την περιοχή M3 αποδόθηκε τόσο σε πετροχημικές όσο και σε πυρολυτικές διεργασίες, λόγω των διαφορών μεταξύ των διαγνωστικών λόγων. Επιπρόσθετα, η τιμή του λόγου Chr/BaA έδειξε πετροχημική προέλευση των ΠΑΥ για όλες τις περιοχές και εποχές, ωστόσο η ύπαρξη ΠΑΥ με 4 δακτυλίους μπορεί οφείλεται τόσο σε πετροχημικές όσο και πυρολυτικές διεργασίες.

Πίνακας 18: Συγκεντρώσεις ΠΑΥ σε μύδια ($\mu\text{g kg}^{-1}$ νωπού βάρους)

	Υπόστρωμα	Περιοχή προέλευσης δειγμάτων	Τεχνική ποσοτικοποίησης	LOD	Αποτελέσματα (Δίθυρων μαλακίων)	Αναφ.
14 ΠΑΥ	Ιζήματα, Μύδια (<i>Mytilus edulis</i> , <i>Mytilus galloprovincialis</i>)	Βαλτική, Μεσόγειος	GC- MS	0.050 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ξ.β.	Σ14ΠΑΥ: 25.1-2420 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ξ.β.	[176]
16 ΕΡΑ ΠΑΥ	Ιχθυηρά, κυδώνια (<i>Tapes decussatus</i>), μύδια (<i>Mytilus galloprovincialis</i>)	Αγορές της Καταλονίας, Ισπανία	HRGC- HRMS	0.2 $\mu\text{g kg}^{-1}$ v.β.	Κυδώνια: Σ16ΠΑΥ: 21.5 $\mu\text{g kg}^{-1}$ v.β. Μύδια: Σ16ΠΑΥ: 22.4 $\mu\text{g kg}^{-1}$ v.β.	[181]
11 ΠΑΥ	Ιχθυηρά, μύδια (<i>Mytilus galloprovincialis</i>)	Κόλπος Νάπολης, Ιταλία	HPLC- UV/VIS	0.05-0.49 $\mu\text{g kg}^{-1}$ v.β.	Lower bound μέσες συγκεντρώσεις: Σ11ΠΑΥ: 77.69 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ξ.β. (καλοκαίρι) Σ11ΠΑΥ: 175.10 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ξ.β. (χειμώνας)	[94]
17 ΠΑΥ	Επιφανειακό νερό, μύδια (<i>Mytilus galloprovincialis</i>)	Σαρωνικός Κόλπος (Ελευσίνα, Σαλαμίνα, Αίγινα), Ελλάδα	HPLC- PAD/FLD	0.5- 4.5 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ξ.β.	Σ17ΠΑΥ: 184-1759 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ξ.β. (στον μανδύα των μυδιών) Σ17ΠΑΥ: 219- 2454 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ξ.β. (στα βράγχια των μυδιών)	[99]
10 ΠΑΥ	Επιφανειακό νερό, ιζήματα, μύδια (<i>Mytilus galloprovincialis</i>)	Κόλπος Rijeka, Αδριατική	HPLC UV/VIS	0.1 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ξ.β.	Lower bound μέσες συγκεντρώσεις: Σ10ΠΑΥ: 49.2-134 $\mu\text{g kg}^{-1}$ v.β.	[182]
24 ΠΑΥ	Μύδια (<i>Mytilus galloprovincialis</i>)	Ελληνικά παράλια	GC- MS		Σ24ΠΑΥ: 25-75 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ξ.β.	[98]

16 ΕΡΑ ΠΑΥ	Μύδια (<i>Mytilus galloprovincialis</i>)	Βορειοδυτική λεκάνη της Μεσογείου	GC- MS	1μg kg ⁻¹ ξ.β.	Lower bound μέσες συγκεντρώσεις: Σ16ΠΑΥ: 22–106 μg kg ⁻¹ ξ.β.	[178]
11 ΠΑΥ	Μύδια (<i>Mytilus galloprovincialis</i>)	Ανατολικό Αιγαίο	GC-MS	0.397-0.979 μg kg ⁻¹ ξ.β.	Lower bound μέσες συγκεντρώσεις: Σ11ΠΑΥ: 29.4- 64.2 μg kg ⁻¹ ξ.β.	[183]
13 ΠΑΥ	Μύδια (<i>Mytilus galloprovincialis</i>)	Μεσόγειος, Ισπανικές ακτές	HPLC- UV/FL		Σ14ΠΑΥ: 8.38 –370 μg kg ⁻¹ ξ.β.	[184]
16 ΕΡΑ ΠΑΥ	Μύδια (<i>Mytilus galloprovincialis</i>)	Ria de Arousa, Ισπανία Matosinhos Beach, Πορτογαλία	GC-MS/MS	LOD μεθόδου: 0.01-0.99 μg L ⁻¹	Μύδια ελεύθερης αλιείας: Σ16ΠΑΥ: 52.91 μg kg ⁻¹ v.β.. Μύδια εμπορίου: Σ16ΠΑΥ: 37.58 μg kg ⁻¹ v.β.	[173]
16 ΕΡΑ ΠΑΥ	Μύδια (<i>Mytilus edulis</i>)	Βαλτική, Βόρεια Θάλασσα, Μαύρη Θάλασσα, Αγγλικές ακτές, Μεσόγειος	GC- MS	0.3- 1.3 μg kg ⁻¹ ξ.β.	Lower bound μέσες συγκεντρώσεις: Σ16ΠΑΥ: 94.7- 897.6 μg kg ⁻¹ ξ.β.	[185]
16 ΕΡΑ ΠΑΥ	Μύδια (<i>Mytilus galloprovincialis</i>)	Βόλος, Σαρωνικός, Ελλάδα και Τουρκικά παράλια	GC- MS/MS	0.2-2 μg kg ⁻¹ ξ.β.	Lower bound μέσες συγκεντρώσεις: Σ16ΠΑΥ: 5.7-518.1 μg kg ⁻¹ ξ.β. (Ελληνικά μύδια) Σ16ΠΑΥ: 3.8-39.9 μg kg ⁻¹ ξ.β. (Τούρκικα μύδια)	[97]
14 ΠΑΥ	Μύδια (<i>Mytilus galloprovincialis</i>)	Κόλπος της Νάπολης, Τυρρηνική Θάλασσα	HPLC- UV/VIS		Σ14ΠΑΥ: 4.47- 905.66 μg kg ⁻¹ ξ.β. (Μύδια ελεύθερης αλιείας)	[177]

					Σ14ΠΑΥ: 0.71-1314.45 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ξ.β. (Μύδια υδατοκαλλιέργειας)	
15 ΕΡΑ ΠΑΥ	Μύδια (<i>Mytilus galloprovincialis</i>), χέλι	Βόρεια Τυνησία	HPLC- FLD	LOD μεθόδου: 0.01-0.049 $\mu\text{g L}^{-1}$	Upper bound μέσες συγκεντρώσεις: Σ15ΠΑΥ: 107.4- 430.7 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ξ.β.	[186]
10 ΠΑΥ	Μύδια (<i>Mytilus galloprovincialis</i>)	Κόλπος Rijeka, Αδριατική, Κροατία	HPLC- UV/VIS	0.1 $\mu\text{g kg}^{-1}$ v.β.	Lower bound μέσες συγκεντρώσεις: Σ10ΠΑΥ: 108–486 $\mu\text{g kg}^{-1}$ v.β.	[187]
12 ΠΑΥ	Ιζήματα, ιχθυηρά, μύδια (<i>Mytilus galloprovincialis</i>)	Ισλανδία, Βόρεια Θάλασσα, Αγγλικές ακτές, Μεσόγειος	GC-MS	0.01 $\mu\text{g kg}^{-1}$ v.β.	Σ12ΠΑΥ: 1.70- 30.48 $\mu\text{g kg}^{-1}$ v.β.	[188]
16 ΕΡΑ ΠΑΥ	Ιχθυηρά, κυδώνια	Κόλπος της Κατάνια, Ιταλία	HPLC- UV/FL	0.023- 0.960 $\mu\text{g kg}^{-1}$ v.β.	Σ16ΠΑΥ: 27.52 $\mu\text{g kg}^{-1}$ v.β.	[89]
16 ΕΡΑ ΠΑΥ	Μύδια (<i>Mytilus galloprovincialis</i>)	Ακτογραμμή της Αδριατικής	GC- MS	1–10 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ξ.β.	Lower bound μέσες συγκεντρώσεις: Σ16ΠΑΥ: 5.3-51.9 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ξ.β.	[189]
16 ΕΡΑ ΠΑΥ	Μύδια (<i>Mytilus galloprovincialis</i>)	Κόλπος Pozzuoli, Ιταλία	GC- MS	0.2 $\mu\text{g kg}^{-1}$ v.β.	Lower bound μέσες συγκεντρώσεις: Σ16ΠΑΥ: 627-1550 $\mu\text{g kg}^{-1}$ v.β.	[175]
16 ΕΡΑ ΠΑΥ	Ιζήματα, μύδια (<i>Mytilus galloprovincialis</i>)	Κόλπος Nemrut, Βόρειο Αιγαίο	GC-MS	4.15–8.97 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ξ.β.	Σ16ΠΑΥ: 121-1098 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ξ.β.	[190]
4 ΠΑΥ	Μύδια (<i>Mytilus galloprovincialis</i>)	Καμπανία, Ιταλία	HPLC- FLC	0.2 $\mu\text{g kg}^{-1}$ v.β.	Σ4ΠΑΥ: 0-68.4 $\mu\text{g kg}^{-1}$ v.β.	[180]
26 ΠΑΥ	Μύδια (<i>Mytilus galloprovincialis</i>)	Θερμαϊκός, Στρυμωνικός Κόλπος	GC-MS/MS	0.006-0.033 $\mu\text{g kg}^{-1}$ v.β.	Σ26ΠΑΥ: 1.37-25.59 $\mu\text{g kg}^{-1}$ v.β./ Σ26ΠΑΥ: 20.55-383 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ξ.β.	Παρούσα μελέτη

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8: ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗΣ ΕΚΘΕΣΗΣ ΤΟΥ ΓΕΝΙΚΟΥ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ ΣΕ ΠΑΥ ΚΑΙ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΕΚΘΕΣΗΣ

8.1 Επίπεδα συγκεντρώσεων ΠΑΥ στα τρόφιμα που συλλέχθηκαν με τη Μέθοδο της Εις Διπλούν Δίαιτας

Με τη μέθοδο που αναπτύχθηκε και εφαρμόστηκε για την ποσοτικοποίηση των ΠΑΥ στα τρόφιμα, αναλύθηκαν δείγματα τροφίμων που προήλθαν από την εβδομαδιαία συλλογή γευμάτων συμμετεχόντων-εθελοντών. Η χρονική περίοδος συλλογής όλων των δειγμάτων ήταν μεταξύ 16/05/2020 και 30/09/2020 και η μελέτη διενεργήθηκε σε ομάδα πληθυσμού που κατοικεί μόνιμα στην Αττική. Οι συμμετέχοντες επιλέχθηκαν με βάση την κατάσταση της υγείας τους, τις διατροφικές τους συνήθειες, τον αριθμό ατόμων που κατοικούν στο σπίτι, τον τόπο διαμονής τους και την ικανότητά τους να ακολουθήσουν τις εντολές και τις οδηγίες που τους δόθηκαν για όσο το δυνατόν ακριβέστερη συλλογή των γευμάτων τους. Πριν από τη διαδικασία, οι συμμετέχοντες συμπλήρωσαν ένα δελτίο με πληροφορίες, όπως φύλο, βάρος, οικογενειακή κατάσταση, ηλικία, συχνότητα σωματικής άσκησης, κάπνισμα κτλ.

Ο πληθυσμός της μελέτης αποτελείτο από 30 εθελοντές εκ των οποίων 19 ήταν γυναίκες και 11 άνδρες. Το ηλικιακό εύρος των γυναικών ήταν μεταξύ 24ων και 72 ετών και των ανδρών μεταξύ 19 και 65 ετών.

Κάθε συμμετέχοντας στη διάρκεια της ημέρας προετοιμάζε τα γεύματά του, ζύγιζε και κατέγραφε το βάρος τους και αποθήκευε μια μικρή ποσότητα από αυτά, σε αντιπροσωπευτική αναλογία, στα ειδικά δοχεία αποθήκευσης, ενώ παράλληλα συμπλήρωνε ένα ημερήσιο διατροφικό ημερολόγιο. Η διαδικασία επαναλήφθηκε για όλα τα γεύματα και τα σνακ που κατανάλωσε ο συμμετέχων μέσα σε μια ημέρα και για διάρκεια 7 ημερών. Τα 210 κωδικοποιημένα δοχεία συλλογής (30 συμμετέχοντες επί 7 ημέρες) μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο, το περιεχόμενό τους ομογενοποιήθηκε και ομαδοποιήθηκαν. Για κάθε συμμετέχοντα προέκυψε ένα συνολικό

εβδομαδιαίο δείγμα (Πίνακας 19), το οποίο περιλάμβανε ποσότητα από κάθε ένα από τα 7 ημερήσια δείγματα σε αντιπροσωπευτική αναλογία της συνολικής εβδομαδιαίας κατανάλωσης, η οποία υπολογίσθηκε με βάση την καταγραφή του βάρους των γευμάτων από τους εθελοντές.

Πίνακας 19: Κωδικοί διατροφικών δειγμάτων της μελέτης

α/α συμμετέχοντα	1η ημέρα	2η ημέρα	3η ημέρα	4η ημέρα	5η ημέρα	6η ημέρα	7η ημέρα	Κωδικός Δείγματος και Συμμετέχοντα
1	Σ1Η1	Σ1Η2	Σ1Η3	Σ1Η4	Σ1Η5	Σ1Η6	Σ1Η7	Σ1
2	Σ2Η1	Σ2Η2	Σ2Η3	Σ2Η4	Σ2Η5	Σ2Η6	Σ2Η7	Σ2
3	Σ3Η1	Σ3Η2	Σ3Η3	Σ3Η4	Σ3Η5	Σ3Η6	Σ3Η7	Σ3
4	Σ4Η1	Σ4Η2	Σ4Η3	Σ4Η4	Σ4Η5	Σ4Η6	Σ4Η7	Σ4
5	Σ5Η1	Σ5Η2	Σ5Η3	Σ5Η4	Σ5Η5	Σ5Η6	Σ5Η7	Σ5
6	Σ6Η1	Σ6Η2	Σ6Η3	Σ6Η4	Σ6Η5	Σ6Η6	Σ6Η7	Σ6
7	Σ7Η1	Σ7Η2	Σ7Η3	Σ7Η4	Σ7Η5	Σ7Η6	Σ7Η7	Σ7
8	Σ8Η1	Σ8Η2	Σ8Η3	Σ8Η4	Σ8Η5	Σ8Η6	Σ8Η7	Σ8
9	Σ9Η1	Σ9Η2	Σ9Η3	Σ9Η4	Σ9Η5	Σ9Η6	Σ9Η7	Σ9
10	Σ10Η1	Σ10Η2	Σ10Η3	Σ10Η4	Σ10Η5	Σ10Η6	Σ10Η7	Σ10
11	Σ11Η1	Σ11Η2	Σ11Η3	Σ11Η4	Σ11Η5	Σ11Η6	Σ11Η7	Σ11
12	Σ12Η1	Σ12Η2	Σ12Η3	Σ12Η4	Σ12Η5	Σ12Η6	Σ12Η7	Σ12
13	Σ13Η1	Σ13Η2	Σ13Η3	Σ13Η4	Σ13Η5	Σ13Η6	Σ13Η7	Σ13
14	Σ14Η1	Σ14Η2	Σ14Η3	Σ14Η4	Σ14Η5	Σ14Η6	Σ14Η7	Σ14
15	Σ15Η1	Σ15Η2	Σ15Η3	Σ15Η4	Σ15Η5	Σ15Η6	Σ15Η7	Σ15
16	Σ16Η1	Σ16Η2	Σ16Η3	Σ16Η4	Σ16Η5	Σ16Η6	Σ16Η7	Σ16
17	Σ17Η1	Σ17Η2	Σ17Η3	Σ17Η4	Σ17Η5	Σ17Η6	Σ17Η7	Σ17
18	Σ18Η1	Σ18Η2	Σ18Η3	Σ18Η4	Σ18Η5	Σ18Η6	Σ18Η7	Σ18
19	Σ19Η1	Σ19Η2	Σ19Η3	Σ19Η4	Σ19Η5	Σ19Η6	Σ19Η7	Σ19
20	Σ20Η1	Σ20Η2	Σ20Η3	Σ20Η4	Σ20Η5	Σ20Η6	Σ20Η7	Σ20
21	Σ21Η1	Σ21Η2	Σ21Η3	Σ21Η4	Σ21Η5	Σ21Η6	Σ21Η7	Σ21
22	Σ22Η1	Σ22Η2	Σ22Η3	Σ22Η4	Σ22Η5	Σ22Η6	Σ22Η7	Σ22
23	Σ23Η1	Σ23Η2	Σ23Η3	Σ23Η4	Σ23Η5	Σ23Η6	Σ23Η7	Σ23
24	Σ24Η1	Σ24Η2	Σ24Η3	Σ24Η4	Σ24Η5	Σ24Η6	Σ24Η7	Σ24
25	Σ25Η1	Σ25Η2	Σ25Η3	Σ25Η4	Σ25Η5	Σ25Η6	Σ25Η7	Σ25
26	Σ26Η1	Σ26Η2	Σ26Η3	Σ26Η4	Σ26Η5	Σ26Η6	Σ26Η7	Σ26
27	Σ27Η1	Σ27Η2	Σ27Η3	Σ27Η4	Σ27Η5	Σ27Η6	Σ27Η7	Σ27
28	Σ28Η1	Σ28Η2	Σ28Η3	Σ28Η4	Σ28Η5	Σ28Η6	Σ28Η7	Σ28
29	Σ29Η1	Σ29Η2	Σ29Η3	Σ29Η4	Σ29Η5	Σ29Η6	Σ30Η7	Σ29
30	Σ30Η1	Σ30Η2	Σ30Η3	Σ30Η4	Σ30Η5	Σ30Η6	Σ30Η7	Σ30

Στην Εικόνα 4 που ακολουθεί, φαίνεται η συλλογή των 7 ημερήσιων δειγμάτων για τον συμμετέχοντα Σ9 και το συνολικό εβδομαδιαίο δείγμα που προέκυψε μετά την ομογενοποίηση και ζύγιση.

Συλλογή 7 ημερησίων δειγμάτων ανά συμμετέχοντα



Έλεγχος περιεχομένων



Συνολικό εβδομαδιαίο δείγμα συμμετέχοντα



Ομογενοποίηση



Ζύγιση



Εικόνα 6: Συλλογή και επεξεργασία ημερησίων διατροφικών δειγμάτων

Στον Πίνακα 20 παρουσιάζονται αναλυτικά τα αποτελέσματα υπολογισμού των συγκεντρώσεων των 26 ΠΑΥ για τα εβδομαδιαία δείγματα, εκφρασμένα σε $\mu\text{g kg}^{-1}$ προϊόντος και στον Πίνακα 21 η μέση ανώτερη συγκέντρωση για κάθε έναν από τους ΠΑΥ, η διάμεση τιμή καθώς και το εύρος των συγκεντρώσεων στα δείγματα τροφίμων.

Πίνακας 20: Μέσες συγκεντρώσεις ΠΑΥ στα εβδομαδιαία δείγματα τροφίμων ($\mu\text{g kg}^{-1}$ προϊόντος)

ΠΑΥ	Σ1	Σ2	Σ3	Σ4	Σ5	Σ6	Σ7	Σ8	Σ9	Σ10	Σ11	Σ12	Σ13	Σ14	Σ15	Σ16	Σ17	Σ18	Σ19	Σ20	Σ21	Σ22	Σ23	Σ24	Σ25	Σ26	Σ27	Σ28	Σ29	Σ30	
Na	0.21	0.46	0.90	1.27	0.24	0.15	0.47	0.34	2.60	1.08	0.74	0.81	0.25	1.74	1.73	0.13	0.57	0.40	0.70	2.09	2.24	0.70	0.13	0.16	0.29	0.54	0.41	0.61	0.26	0.22	
Acl	0.54	0.39	0.38	0.36	0.82	0.68	0.24	0.40	0.51	0.73	1.33	1.36	0.49	1.80	0.78	0.53	0.69	0.41	0.31	2.10	0.21	0.63	1.28	0.45	0.90	0.10	1.42	1.42	0.51	0.54	
Ac	1.13	<0.02	0.06	<0.02	0.02	<0.02	1.11	1.06	1.63	0.72	0.82	0.93	0.55	0.73	0.75	0.91	1.22	1.57	1.28	0.78	0.92	0.93	1.07	1.58	1.95	1.25	1.32	0.87	1.40	1.30	
Fl	4.59	1.60	0.51	2.63	1.04	1.10	1.76	1.57	1.59	1.77	1.30	1.73	2.16	0.88	0.68	2.15	2.75	1.55	1.63	1.14	1.37	1.06	1.82	2.36	3.47	1.52	1.78	1.39	2.00	1.72	
Phe	1.46	0.82	0.98	0.80	0.80	0.91	2.51	2.12	3.19	1.09	1.00	0.71	1.61	0.61	0.75	3.78	1.59	1.69	0.53	0.79	0.55	0.50	2.67	1.72	4.25	0.62	1.17	0.62	0.75	1.91	
An	0.25	0.06	0.12	0.08	0.08	0.09	0.29	0.27	0.47	0.13	0.15	0.09	0.38	0.08	0.07	0.69	0.23	0.29	0.07	0.09	0.05	0.06	0.43	0.32	0.98	0.07	0.21	0.08	0.10	0.32	
Fa	0.54	0.31	0.46	0.36	0.33	0.35	1.16	0.98	1.44	0.52	0.35	0.39	0.55	0.24	0.25	1.65	0.62	0.54	0.22	0.28	0.22	0.22	0.87	0.62	1.05	0.18	0.83	0.28	0.30	0.57	
Py	0.55	0.24	0.37	0.20	0.24	0.29	0.91	0.68	1.03	0.37	0.30	0.37	0.45	0.24	0.22	1.25	0.54	0.46	0.16	0.24	0.20	0.17	0.71	0.46	0.97	0.16	0.61	0.22	0.24	0.48	
BcFl	0.05	0.02	<0.02	<0.02	<0.02	0.03	0.04	0.07	0.02	0.03	0.02	0.03	0.05	0.02	0.02	0.10	0.04	0.03	0.02	<0.02	<0.02	<0.02	0.05	<0.02	0.04	<0.02	<0.02	0.02	0.02	0.03	
BaA	0.06	<0.02	0.14	<0.02	<0.02	0.04	0.18	0.18	0.24	0.07	0.04	0.05	0.06	0.02	0.03	0.23	0.05	0.05	0.02	<0.02	<0.02	0.02	0.11	0.06	0.10	0.02	0.10	0.02	0.02	0.08	
Chr	0.09	0.06	0.07	0.05	0.06	0.08	0.2	0.17	0.24	0.08	0.05	0.07	0.07	0.04	0.04	0.24	0.08	0.06	0.03	0.05	0.04	0.05	0.17	0.07	0.15	0.03	0.14	0.04	0.04	0.12	
Cpp	<0.02	0.02	<0.02	0.04	<0.02	0.04	<0.02	<0.02	0.02	<0.02	<0.02	0.02	<0.02	<0.02	<0.02	0.05	0.05	<0.02	0.02	<0.02	<0.02	<0.02	0.07	<0.02	0.03	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	
5MeChr	0.03	0.09	0.10	0.03	0.05	0.06	0.1	0.08	0.12	0.04	0.05	0.04	0.07	0.03	0.04	0.12	0.06	0.08	0.04	0.03	0.04	0.05	0.07	0.07	0.07	<0.02	0.05	0.03	0.03	<0.02	
BbFa	0.05	0.04	0.05	0.02	0.03	0.08	0.11	0.08	0.12	0.05	0.05	0.05	0.05	0.03	0.03	0.22	0.05	0.07	0.02	0.02	0.02	0.05	0.10	0.07	0.10	<0.02	0.12	0.02	<0.02	0.06	
BkFa	0.02	0.03	0.07	0.02	0.03	0.02	0.07	0.06	0.08	0.02	0.02	0.02	<0.02	<0.02	<0.02	0.05	0.02	0.03	0.04	0.02	<0.02	<0.02	0.04	0.02	0.03	<0.02	0.06	0.02	<0.02	0.02	
BjFa	<0.02	0.03	0.03	0.02	0.03	0.02	0.04	0.03	0.04	0.03	0.02	0.02	0.02	<0.02	<0.02	0.04	<0.02	0.02	0.02	0.02	<0.02	0.03	0.03	0.02	0.02	<0.02	0.04	0.02	<0.02	0.02	
BaP	0.05	0.02	0.04	0.02	0.03	0.03	0.15	0.11	0.15	0.05	0.03	0.05	0.04	<0.02	<0.02	0.12	0.04	0.03	0.02	0.02	<0.02	0.02	0.07	0.04	0.06	<0.02	0.10	<0.02	0.02	0.04	
BeP	0.06	0.04	0.04	0.03	0.03	0.05	0.1	0.08	0.11	0.05	0.05	0.05	0.05	0.03	<0.02	0.22	0.04	0.06	0.02	<0.02	0.02	0.04	0.11	0.05	0.10	0.02	0.09	0.02	0.02	0.06	
Per	0.02	0.02	0.05	<0.02	0.02	0.03	0.07	0.04	0.06	0.03	<0.02	0.02	<0.02	<0.02	0.02	0.03	<0.02	<0.02	0.02	<0.02	<0.02	<0.02	0.05	0.02	<0.02	<0.02	0.03	<0.02	<0.02	<0.02	
IP	0.03	<0.02	0.03	<0.02	0.02	<0.02	0.07	0.05	0.07	0.03	0.02	0.03	0.02	<0.02	<0.02	0.06	0.02	<0.02	<0.02	0.02	<0.02	<0.02	0.03	0.03	<0.02	0.03	<0.02	0.06	0.02	<0.02	0.02
DBahA	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	0.02	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
BghiP	0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	0.09	0.07	0.09	0.05	<0.05	0.05	<0.05	<0.05	<0.05	0.09	<0.05	<0.05	0.02	<0.05	<0.05	0.05	0.06	<0.05	<0.05	<0.05	0.07	<0.05	<0.05	<0.05	
DBaI	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	
DBaeP	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10
DBaI	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10
DBahP	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10

Πίνακας 21: Μέσες ανώτερες συγκεντρώσεις ΠΑΥ, διάμεσες τιμές και εύρος τιμών συγκεντρώσεων ($\mu\text{g kg}^{-1}$ προϊόντος)

ΠΑΥ	Μέση ανώτερη συγκέντρωση	Διάμεση τιμή συγκεντρώσεων	Ελάχιστη τιμή συγκέντρωσης	Μέγιστη τιμή συγκέντρωσης
Na	0.75	0.51	0.13	2.60
AcI	0.74	0.54	0.10	2.10
Ac	0.93	0.93	<LOQ	1.95
Fl	1.75	1.62	0.51	4.59
Phe	1.42	0.99	0.50	4.25
An	0.22	0.13	0.05	0.98
Fa	0.56	0.43	0.18	1.65
Py	0.44	0.37	0.16	1.25
BcFl	0.03	0.02	<LOQ	0.10
BaA	0.07	0.05	<LOQ	0.24
Chr	0.09	0.07	0.03	0.24
Cpp	0.03	0.02	<LOQ	0.07
5MeChr	0.06	0.05	<LOQ	0.12
BbFa	0.06	0.05	<LOQ	0.22
BkFa	0.03	0.02	<LOQ	0.08
BjFa	0.03	0.02	<LOQ	0.04
BaP	0.05	0.04	<LOQ	0.15
BeP	0.06	0.05	<LOQ	0.22
Per	0.03	0.02	<LOQ	0.07
IP	0.03	0.02	<LOQ	0.07
DBahA	0.05	0.05	<LOQ	0.05
BghiP	0.05	0.05	<LOQ	0.09
DBaiP	0.10	0.10	<LOQ	0.10
DBaeP	0.10	0.10	<LOQ	0.10
DBaiP	0.10	0.10	<LOQ	0.10
DBahP	0.10	0.10	<LOQ	0.10

Τα ναφθαλένιο, ακεναφθυλένιο, φλουορένιο, φαινανθρένιο, ανθρακένιο, φλουορανθένιο, πυρένιο και χρυσένιο ανιχνεύθηκαν σε όλα τα δείγματα των τροφίμων. Οι υψηλότερες συγκεντρώσεις αντιστοιχούν στο φλουορένιο και το φαινανθρένιο, με μέσες ανώτερες τιμές συγκεντρώσεων τα 1,75 και 1,42 $\mu\text{g kg}^{-1}$ αντιστοίχως. Ακολουθούν τα ακεναφθένιο με 0,93 $\mu\text{g kg}^{-1}$, ναφθαλένιο και ακεναφθυλένιο με 0,75 και 0,74 $\mu\text{g kg}^{-1}$, το φλουορανθένιο με 0,56 $\mu\text{g kg}^{-1}$, το πυρένιο με 0,44 $\mu\text{g kg}^{-1}$ και το ανθρακένιο με 0,22 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Για τις υπόλοιπες ενώσεις οι μέσες συγκεντρώσεις κυμάνθηκαν σε επίπεδα μικρότερα του 0,10 $\mu\text{g kg}^{-1}$, εκτός από τα διβενζ[α,η]ανθρακένιο, διβενζο[α,ι]πυρένιο,

διβενζο[α,ε]πυρένιο, διβενζο[α,ι]πυρένιο, διβενζο[α,η]πυρένιο, τα οποία και δεν ανιχνεύθηκαν σε κανένα δείγμα.

Πίνακας 22: Μέσες ανώτερες και κατώτερες συγκεντρώσεις ΠΑΥ (LB, UB), διάμεσες τιμές και εύρος τιμών συγκεντρώσεων ($\mu\text{g kg}^{-1}$ προϊόντος)

Κωδικός δείγματος	$\Sigma_{26\text{ΠΑΥ}}$		$\Sigma_{16\text{ΠΑΥ}}$		$\Sigma_{15+1\text{ΠΑΥ}}$		$\Sigma_{8\text{ΠΑΥ}}$		$\Sigma_{4\text{ΠΑΥ}}$		B[a]P	
	LB	UB	LB	UB	LB	UB	LB	UB	LB	UB	LB	UB
Σ1	9.78	10.27	9.62	9.67	0.43	0.92	0.35	0.40	0.25	0.25	0.05	0.05
Σ2	4.25	4.81	4.03	4.19	0.31	0.85	0.15	0.29	0.12	0.14	0.02	0.02
Σ3	4.40	4.94	4.18	4.28	0.53	1.07	0.40	0.50	0.30	0.30	0.04	0.04
Σ4	5.93	6.53	5.81	5.97	0.2	0.76	0.11	0.25	0.09	0.11	0.02	0.02
Σ5	3.87	4.43	3.74	3.86	0.25	0.81	0.17	0.29	0.12	0.14	0.03	0.03
Σ6	4.05	4.59	3.82	3.96	0.4	0.92	0.25	0.37	0.23	0.23	0.03	0.03
Σ7	9.67	10.14	9.32	9.37	1.05	1.52	0.87	0.92	0.64	0.64	0.15	0.15
Σ8	8.44	8.91	8.14	8.19	0.9	1.37	0.72	0.77	0.54	0.54	0.11	0.11
Σ9	13.82	14.27	13.45	13.50	1.19	1.64	0.99	1.04	0.75	0.75	0.15	0.15
Σ10	6.94	7.41	6.76	6.81	0.45	0.92	0.35	0.40	0.25	0.25	0.05	0.05
Σ11	6.34	6.88	6.20	6.30	0.3	0.82	0.21	0.31	0.17	0.17	0.03	0.03
Σ12	6.89	7.34	6.71	6.76	0.43	0.88	0.32	0.37	0.22	0.22	0.05	0.05
Σ13	6.87	7.43	6.68	6.80	0.38	0.92	0.24	0.36	0.22	0.22	0.04	0.04
Σ14	6.49	7.11	6.41	6.57	0.14	0.74	0.09	0.25	0.09	0.11	0	0.02
Σ15	5.41	6.03	5.33	5.49	0.16	0.76	0.10	0.26	0.10	0.12	0	0.02
Σ16	12.66	13.11	12.10	12.15	1.32	1.77	1.01	1.06	0.81	0.81	0.12	0.12
Σ17	8.66	9.20	8.47	8.57	0.41	0.93	0.26	0.36	0.22	0.22	0.04	0.04
Σ18	7.34	7.90	7.15	7.27	0.37	0.91	0.24	0.36	0.21	0.21	0.03	0.03
Σ19	5.05	5.63	4.99	5.09	0.15	0.69	0.09	0.19	0.05	0.09	0	0.02
Σ20	7.65	8.29	7.60	7.76	0.12	0.74	0.09	0.25	0.09	0.11	0	0.02
Σ21	5.88	6.54	5.82	6.00	0.10	0.74	0.06	0.24	0.06	0.10	0	0.02
Σ22	4.61	5.14	4.49	4.56	0.30	0.81	0.22	0.29	0.14	0.14	0.02	0.02
Σ23	9.94	10.39	9.56	9.61	0.80	1.25	0.58	0.63	0.45	0.45	0.07	0.07
Σ24	8.09	8.65	7.93	8.05	0.35	0.91	0.26	0.38	0.24	0.24	0.04	0.04
Σ25	14.59	15.11	14.33	14.43	0.63	1.13	0.47	0.57	0.41	0.41	0.06	0.06
Σ26	4.51	5.19	4.49	4.67	0.05	0.71	0.05	0.23	0.05	0.09	0	0.02
Σ27	8.61	9.10	8.40	8.45	0.74	1.23	0.65	0.70	0.46	0.46	0.10	0.10
Σ28	5.70	6.26	5.61	5.73	0.19	0.73	0.12	0.24	0.08	0.10	0.00	0.02
Σ29	5.71	6.33	5.64	5.80	0.13	0.73	0.08	0.24	0.08	0.10	0.02	0.02
Σ30	7.51	8.07	7.40	7.50	0.39	0.93	0.34	0.44	0.30	0.30	0.04	0.04
Μέσος όρος	7.32	7.87	7.14	7.25	0.44	0.97	0.33	0.43	0.26	0.27	0.04	0.05
Διάμεση τιμή	6.88	7.38	6.70	6.78	0.38	0.91	0.25	0.36	0.22	0.22	0.04	0.04
Εύρος τιμών	3.84 - 14.59	4.43 - 15.11	3.74 - 14.33	3.86 - 14.43	0.05 - 1.32	0.69 - 1.77	0.05 - 1.01	0.19 - 1.06	0.05 - 0.81	0.09 - 0.81	0.02 - 0.15	0.02 - 0.15

Στον Πίνακα 22 αναφέρονται τα αθροίσματα των συγκεντρώσεων των ΠΑΥ και η συγκέντρωση του βενζο[α]πυρενίου στα 30 εβδομαδιαία δείγματα διατροφής, εκφρασμένα τόσο ως μέσες κατώτερες (lower bound- LB), όσο και ως μέσες ανώτερες συγκεντρώσεις (upper bound- UB), ο μέσος όρος τους μεταξύ των δειγμάτων, η διάμεση τιμή τους και το εύρος των τιμών τους. Σχετικά με το άθροισμα των συγκεντρώσεων και των 26 ΠΑΥ που προσδιορίστηκαν στα δείγματα ($\Sigma_{26\text{ΠΑΥ}}$) το εύρος των lower bound τιμών υπολογίσθηκε μεταξύ 3,84 και 14,59 $\mu\text{g kg}^{-1}$ και των upper bound μεταξύ 4,43 και 15,11 $\mu\text{g kg}^{-1}$, ενώ οι μέσοι όροι τους ήταν τα 7,32 και 7,87 $\mu\text{g kg}^{-1}$ αντιστοίχως. Για το άθροισμα των συγκεντρώσεων των 16 ΠΑΥ που η ΕΡΑ θεωρεί ως ρύπους άμεσης προτεραιότητας ($\Sigma_{16\text{ΠΑΥ}}$), το εύρος των lower bound τιμών ήταν από 3,74 έως 14,33 $\mu\text{g kg}^{-1}$ και των upper bound μεταξύ 3,86 και 14,43 $\mu\text{g kg}^{-1}$, ενώ οι μέσοι όροι διαμορφώθηκαν στα 7,14 και 7,25 $\mu\text{g kg}^{-1}$ αντιστοίχως.

Αναφορικά με τους 15+1 ΠΑΥ της Ε.Ε., ο μέσος όρος των lower bound $\Sigma_{15+1\text{ΠΑΥ}}$ υπολογίσθηκε στα 0,44 $\mu\text{g kg}^{-1}$, και το εύρος τιμών μεταξύ 0,05 και 1,32 $\mu\text{g kg}^{-1}$, ενώ ο μέσος και των upper bound στα 0,97 $\mu\text{g kg}^{-1}$, με το εύρος να κυμαίνεται μεταξύ 0,69 και 1,77 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Ο μέσος όρος του αθροίσματος των 8 ΠΑΥ- δεικτών- στα τρόφιμα ($\Sigma_{8\text{ΠΑΥ}}$) ήταν 0,25 $\mu\text{g kg}^{-1}$ για τις lower bound συγκεντρώσεις και 0,36 $\mu\text{g kg}^{-1}$ για τις upper bound, ενώ τα αντίστοιχα εύρη τιμών ήταν 0,05 έως 1,01 $\mu\text{g kg}^{-1}$ και 0,19 έως 1,06 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Σχετικά με το άθροισμα των 4 ΠΑΥ, κανένα από τα 30 δείγματα δεν βρέθηκε να ξεπερνά το μέγιστο θεσπισμένο όριο επιτρεπόμενης παρουσίας τους στα τρόφιμα¹³³.

Η χαμηλότερη τιμή ανωτάτου επιτρεπόμενου ορίου για το άθροισμα των 4 ΠΑΥ είναι στο 1,0 $\mu\text{g kg}^{-1}$, έχει οριστεί για τις παιδικές τροφές και προκύπτει από τις lower bound τιμές των συγκεντρώσεων. Στην παρούσα μελέτη περιλαμβάνονται μόνο διατροφικά δείγματα ενηλίκων και ο μέσος όρος του αθροίσματος των 4 ΠΑΥ ($\Sigma_{4\text{ΠΑΥ}}$) του ορίου υπολογίσθηκε στα 0,26 $\mu\text{g kg}^{-1}$ για τις lower bound τιμές και στα 0,27 $\mu\text{g kg}^{-1}$ για τις upper bound τιμές, με τα αντίστοιχα εύρη να κυμαίνονται μεταξύ 0,05 και 0,81 $\mu\text{g kg}^{-1}$ και 0,09 έως 0,81 $\mu\text{g kg}^{-1}$.

Ομοίως, και για το βενζο[α]πυρένιο οι συγκεντρώσεις που προσδιορίστηκαν στα δείγματα ήταν κάτω από το χαμηλότερο ανώτατο επιτρεπόμενο όριο του $1,0 \mu\text{g kg}^{-1}$. Συγκεκριμένα, για τις lower bound τιμές ο μέσος όρος υπολογίσθηκε στα $0,04 \mu\text{g kg}^{-1}$, με εύρος τιμών μεταξύ $0,02$ και $0,15 \mu\text{g kg}^{-1}$, ενώ για τις upper bound οι αντίστοιχες τιμές διαμορφώθηκαν στα $0,05 \mu\text{g kg}^{-1}$ και $0,02 - 0,15 \mu\text{g kg}^{-1}$.

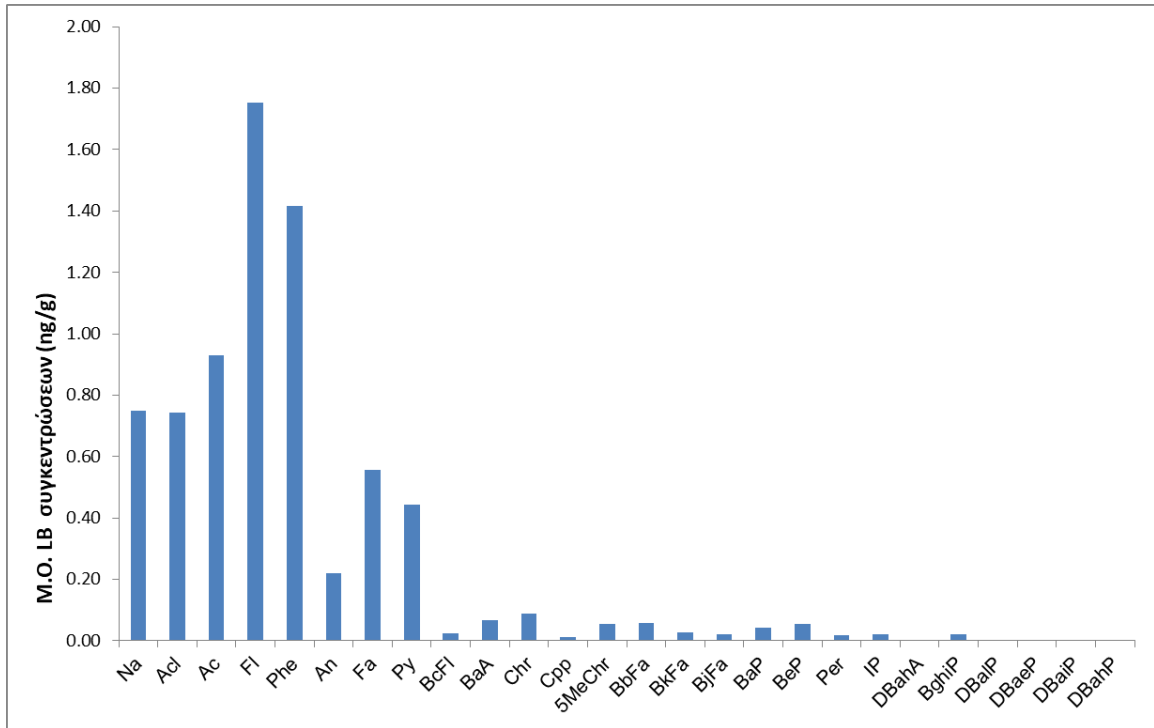
Επομένως, σε κανένα από τα 30 διατροφικά δείγματα που αναλύθηκαν η συγκέντρωση του βενζο[α]πυρενίου και το άθροισμα των συγκεντρώσεων των 4 ΠΑΥ, δεν ξεπέρασε τα μέγιστα επιτρεπτά όρια παρουσίας τους, λαμβάνοντας υπόψη τόσο τις lower bound όσο και τις upper bound τιμές.

Είναι σκόπιμο να αναφέρουμε πως δεν παρουσιάστηκαν μεγάλες διαφορές στα αθροίσματα των συγκεντρώσεων που προέκυψαν από τις lower bound και τις upper bound τιμές, λόγω του χαμηλού ορίου ποσοτικοποίησης της μεθόδου.

8.2 Προφίλ συγκεντρώσεων των ΠΑΥ στα διατροφικά δείγματα και συσχέτιση με το είδος της διατροφής

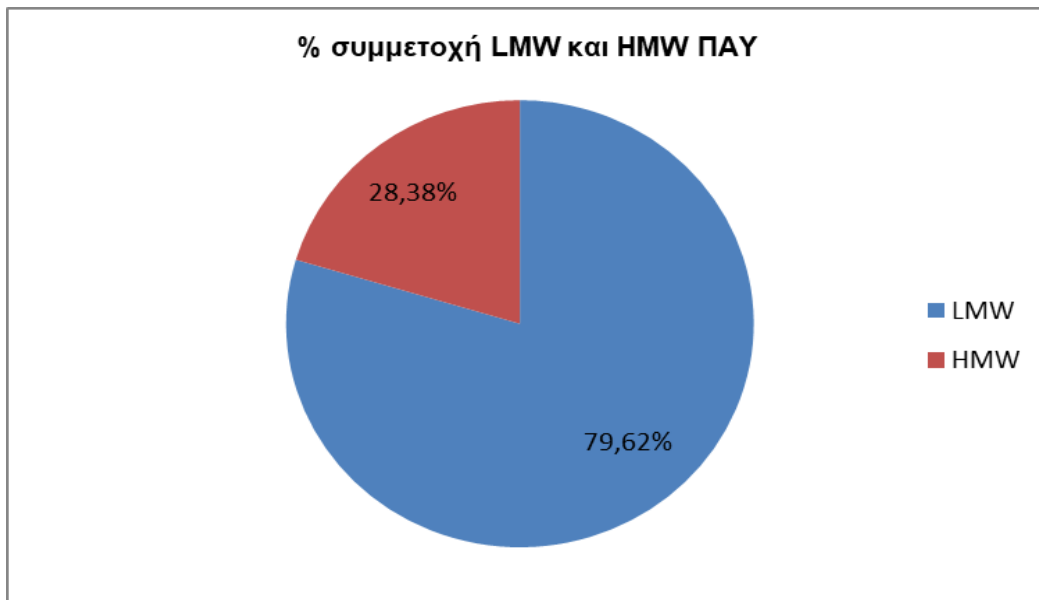
Για την ακριβέστερη διερεύνηση του προφίλ κατανομής των ΠΑΥ στα δείγματα, χρησιμοποιούνται και εδώ όπως προηγουμένως στα μύδια, οι lower bound τιμές, λόγω διαφορετικών τιμών LOD και LOQ μεταξύ των ενώσεων. Η συμβολή των ΠΑΥ μικρού μοριακού βάρους (Low Molecular Weight- LMW), με 2 ή και 3 δακτυλίους στο μόριό τους, στο συνολικό προφίλ επιβάρυνσης των δειγμάτων είναι σημαντικά υψηλότερη σε σύγκριση με εκείνη που προκύπτει από τους ΠΑΥ μεγάλου μοριακού βάρους (High Molecular Weight- HMW), με 4 ή και περισσότερους δακτυλίους στο μόριό τους.

Συγκεκριμένα, όπως έχει ήδη αναφερθεί, τα ναφθαλένιο, ακεναφθυλένιο, φλουορένιο, φαινανθρένιο, ανθρακένιο, φλουορανθένιο, πυρένιο και χρυσένιο ανιχνεύθηκαν σε όλα τα δείγματα των τροφίμων, ενώ τις υψηλότερες συγκεντρώσεις είχε το φλουορένιο και το φαινανθρένιο. Οι συγκριτικοί μέσοι όροι των μέσων lower bound συγκεντρώσεων ανά ΠΑΥ εμφανίζονται στο παρακάτω Σχήμα 11.



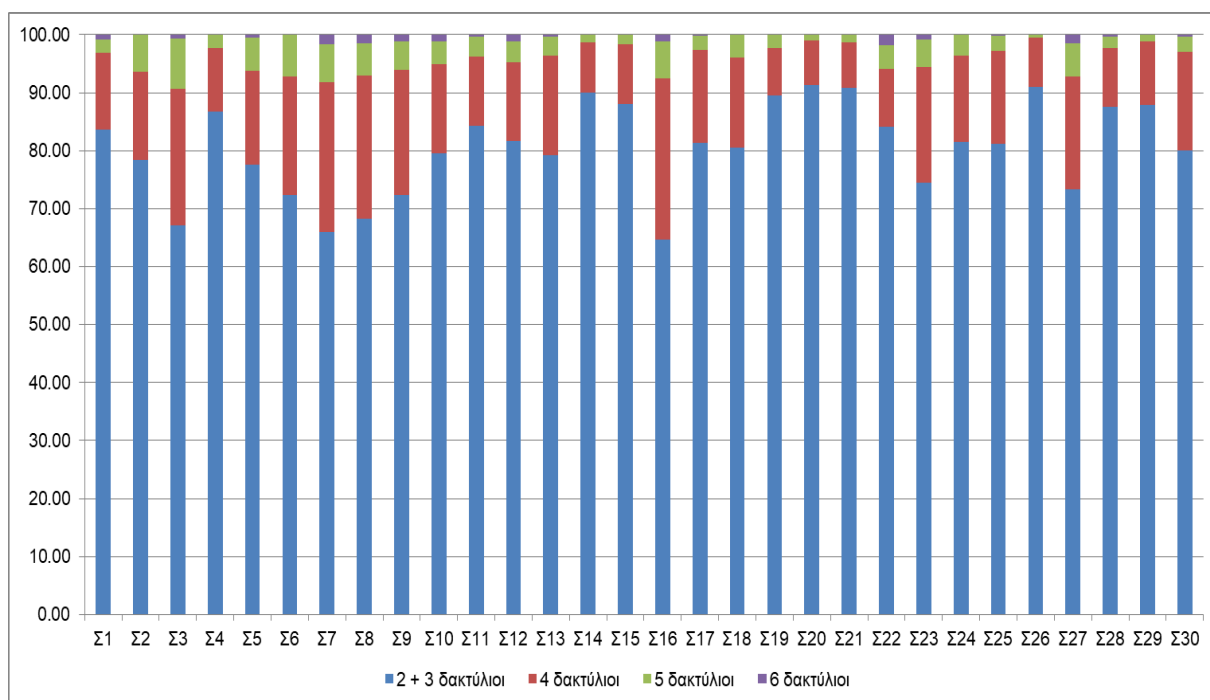
Σχήμα 11: Συμβολή κάθε ΠΑΥ στη συνολική διατροφική πρόσληψη

Συνολικά, οι LMW ΠΑΥ αντιπροσωπεύουν το 79,62% της συνολικής επιβάρυνσης, ενώ οι HMW ΠΑΥ το 20,38%.



Σχήμα 12: Ποσοστιαία συμμετοχή LMW και HMW ΠΑΥ στα δείγματα διατροφής

Η μεγαλύτερη συμμετοχή των LMW ΠΑΥ στο προφίλ των δειγμάτων εξηγεί τις διαφορές στις τιμές μεταξύ $\Sigma_{16\text{ΠΑΥ}}$ και $\Sigma_{15+1\text{ΠΑΥ}}$, καθώς οι ρύποι προτεραιότητας της EPA (16 ΠΑΥ), αποτελούνται τόσο από LMW όσο και από ΗΜW ΠΑΥ, ενώ ο κατάλογος της Ε.Ε. (15+1 ΠΑΥ) περιλαμβάνει ΠΑΥ με 4 δακτυλίους ή περισσότερους, δηλαδή αποκλειστικά ΗΜW ΠΑΥ. Στο Σχήμα 13 διακρίνεται αναλυτικά το προφίλ κατανομής των ΠΑΥ ανά συμμετέχοντα.



Σχήμα 13: % προφίλ κατανομής των ΠΑΥ ανά συμμετέχοντα

Γενικά, δεν παρατηρούνται μεγάλες διακυμάνσεις όσον αφορά το προφίλ των ΠΑΥ μεταξύ των δειγμάτων των συμμετεχόντων. Σε όλα τα δείγματα, η παρουσία των ΠΑΥ με 2 και 3 δακτυλίους είναι η μεγαλύτερη, ενώ από το Σχήμα 13 φαίνεται πως η συμμετοχή των ΠΑΥ με 4 δακτυλίους ποικίλλει μεταξύ των δειγμάτων. Οι ΠΑΥ με 5 δακτυλίους έχουν μικρή συμβολή στο συνολικό προφίλ, με την παρουσία τους να είναι μεγαλύτερη στα δείγματα τα οποία έχουν και υψηλότερο ποσοστό ΠΑΥ με 4 δακτυλίους. Οι ΠΑΥ με 6 δακτυλίους έχουν τη μικρότερη συμμετοχή στη συνολική επιβάρυνση.

Σε γενικές γραμμές, η παρουσία των LMW ΠΑΥ αποδίδεται τόσο στην περιβαλλοντική ρύπανση όσο και στις θερμικές επεξεργασίες στις οποίες υπόκεινται τα τρόφιμα, πχ. καβούρδισμα, κάπνισμα κ.α.¹⁹¹. Έτσι λοιπόν, η επιβάρυνση σε LMW αποδίδεται ως επί το πλείστον στην κατανάλωση

κατηγοριών τροφίμων όπως τα λαχανικά, τα δημητριακά, οι ξηροί καρποί και τα έλαια. Από την άλλη πλευρά, οι ΗΜW ΠΑΥ βρίσκονται κυρίως σε προϊόντα διατροφής όπως ψητά κρέατα, ψάρια, θαλασσινά που έχουν επιβαρυνθεί από το θαλάσσιο περιβάλλον, έλαια τα οποία έχουν κατεργαστεί σε υψηλή θερμοκρασία, πχ. τηγάνισμα και τρόφιμα με υψηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά^{192,193}. Τα δείγματα της παρούσας μελέτης για τη διατροφή αποτελούνται κυρίως από μαγειρεμένα τρόφιμα, επομένως στο συνολικό επίπεδο και την κατανομή των ΠΑΥ στο τελικό προϊόν θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη και η επιβάρυνση λόγω των πρακτικών μαγειρέματος^{73,191}.

Για τη διερεύνηση των πηγών επιβάρυνσης και του προφίλ κατανομής των ΠΑΥ στα δείγματα χρησιμοποιήθηκαν πληροφορίες από τα ημερήσια διατροφικά ημερολόγια που συμπλήρωσαν οι συμμετέχοντες, παράλληλα με τη συλλογή των δειγμάτων.

Αναφορικά με το δείγμα Σ21, στο οποίο κυριαρχούν σε μεγάλο ποσοστό οι LMW ΠΑΥ και οι ΠΑΥ με 4 δακτυλίους και πάνω έχουν μικρό ποσοστό παρουσίας, ο συμμετέχων κατανάλωνε αρκετά φρούτα, λαχανικά και αμυλούχα προϊόντα, ενώ η παρουσία ζωικών προϊόντων ήταν σχετικά περιορισμένη κατά τη διάρκεια της μελέτης. Για τα δείγματα Σ19, Σ20, και αυτά με μεγάλο ποσοστό LMW ΠΑΥ, οι συμμετέχοντες και εδώ κατανάλωσαν αρκετά φρούτα και λαχανικά, αλλά και αρκετές πρωτεΐνες, οι οποίες όμως προέρχονταν κυρίως από γαλακτοκομικές πηγές και αυγά και όχι τόσο από την καθαυτή κατανάλωση κρέατος. Επιχειρώντας να διερευνηθεί το μεγαλύτερο ποσοστό ΠΑΥ με 4 δακτυλίους στα δείγματα Σ3, Σ6, Σ7, Σ8, Σ9, Σ16, Σ23, Σ27 και Σ30 συγκριτικά με τα υπόλοιπα δείγματα, διαπιστώνουμε την πιθανή τους προέλευση από τα διατροφικά ημερολόγια. Ο συμμετέχων Σ3 φάνηκε να καταναλώνει συχνά τηγανισμένες πατάτες (4 φορές/ εβδομάδα), ενώ η διατροφή του περιλάμβανε κρέας ψημένο στα κάρβουνα. Η διατροφή του συμμετέχοντα Σ7 αποτελείτο κυρίως από προϊόντα με βάση το άμυλο, κρέατα και προϊόντα με βάση το κρέας και αρκετά σνακ που περιλάμβαναν σοκολάτα, ενώ η κατανάλωση φυτικών προϊόντων ήταν αρκετά περιορισμένη. Οι συμμετέχοντες Σ8, Σ9, Σ16, Σ23 και Σ27 κατανάλωσαν τουλάχιστον μία φορά κάποιο κρέας ή ψάρι που είχε ψηθεί στα κάρβουνα, με τους Σ16 και Σ23

να τα καταναλώνουν 3 φορές κατά τη διάρκεια της εβδομάδας, κάτι που απεικονίζεται και στο προφίλ κατανομής, με τους ΠΑΥ με 4 δακτυλίους να εμφανίζονται σε εμφανώς υψηλότερο ποσοστό, σε σχέση με τα υπόλοιπα δείγματα. Οι ΠΑΥ με 5 δακτυλίους στα προηγούμενα δείγματα ακολούθησαν την ίδια αυξητική τάση παρουσίας με εκείνους των 4 δακτυλίων, προερχόμενοι πιθανώς από τις ίδιες πηγές, όμως με συγκεντρώσεις αρκετά χαμηλότερες. Κατανάλωση κρέατος ή ψαριού ψημένου στα κάρβουνα υπήρχε και από άλλους συμμετέχοντες (πχ. Σ4, Σ11 και Σ17), ωστόσο είτε ήταν πιο περιορισμένη (λιγότερα γραμμάρια) ή η πλειοψηφία των ομάδων τροφών που κατανάλωσαν ήταν τέτοια ώστε να αντισταθμίζει την τυχόν επιβάρυνση από τα τρόφιμα επιβαρυμένα με ΠΑΥ με 4 δακτυλίους. Για τους υπόλοιπους συμμετέχοντες, το προφίλ κατανομής των ΠΑΥ ήταν παραπλήσιο, κάτι που συσχετίζεται τόσο με το είδος της διατροφής τους, στην οποία δεν υπήρξε κατανάλωση κάποιας ιδιαίτερα επιβαρυμένης ομάδας τροφίμου που πιθανώς θα μπορούσε να μεταβάλλει αρκετά το προφίλ (πχ. καπνιστά τρόφιμα) όσο και με την ποσότητα του φαγητού που καταναλώνεται.

Ωστόσο, η ακριβής συνεισφορά κάθε κατηγορίας τροφίμων στο τελικό επίπεδο των συγκεντρώσεων και στο προφίλ των ΠΑΥ δεν μπορεί να προσδιοριστεί με απόλυτη ακρίβεια με τη μέθοδο της εις διπλούν δίαιτας. Ακόμη και αν τα δείγματα είχαν αναλυθεί ημερησίως και όχι ως ένα αντιπροσωπευτικό εβδομαδιαίο δείγμα, δε θα μπορούσαμε να γνωρίζουμε με απόλυτη ακρίβεια τις κατηγορίες τροφίμων- πηγές των ΠΑΥ στη διατροφή των συμμετεχόντων. Αυτό θα ήταν εφικτό μόνο με μεμονωμένη ανάλυση κάθε τροφίμου που καταναλώνει ο συμμετέχοντας, μαγειρεμένο μάλιστα με τον τρόπο που επιλέγει ο ίδιος. Για μία τέτοια εκτίμηση, ενδεδειγμένη μέθοδος αξιολόγησης αποτελεί η ολική διατροφική μελέτη, ωστόσο η παρούσα προσέγγιση αφορά κυρίως τον υπολογισμό της συνολικής διατροφικής πρόσληψης των ΠΑΥ για μια προκαταρκτική εκτίμηση του πιθανού κινδύνου, για αυτό και προτιμήθηκε η μέθοδος της εις διπλούν δίαιτας.

8.3 Υπολογισμός των επιπέδων συνολικής ημερήσιας διατροφικής πρόσληψης ΠΑΥ των συμμετεχόντων

Τα δεδομένα της παρούσας μελέτης χρησιμοποιήθηκαν για τον υπολογισμό της χρόνιας έκθεσης σε ΠΑΥ μέσω της διατροφής. Οι συγκεντρώσεις των διαφόρων αθροισμάτων των $\Sigma_{\text{ΠΑΥ}}$ του Πίνακα 22 πολλαπλασιάστηκαν με τη μέση ημερήσια κατανάλωση τροφής, που καταγράφηκε από τους συμμετέχοντες στα διατροφικά ημερολόγια (Πίνακας 23), σύμφωνα με τις Εξισώσεις 1 και 2 του Κεφαλαίου 5.6.

Υπολογίσθηκε η μέση κατώτερη και η μέση ανώτερη πρόσληψη ΠΑΥ ανά ημέρα, καθώς και η αντίστοιχη έκθεση ανά κιλό σωματικού βάρους, για κάθε συμμετέχοντα.

Πίνακας 23: Ημερήσια και εβδομαδιαία κατανάλωση τροφίμων συμμετεχόντων

Κωδικός Συμμ.	Βάρος (kg)	Εβδομαδιαία κατανάλωση τροφίμων (g)	Μέση ημερήσια κατανάλωση τροφίμων (g)	Κατανάλωση τροφίμων (g kg ⁻¹ σωματικού βάρους ημέρα ⁻¹)
Σ1	67	5085	726	10,84
Σ2	70	4075	582	8,32
Σ3	75	6256	894	11,92
Σ4	68	4701	672	9,88
Σ5	70	8745	1249	17,85
Σ6	65	3101	443	6,82
Σ7	79	5298	757	9,58
Σ8	66	6145	878	13,30
Σ9	74	8809	1258	16,94
Σ10	72	6847	978	13,59
Σ11	60	6410	916	15,26
Σ12	63	5032	719	11,41
Σ13	75	10329	1476	19,67
Σ14	83	8020	1146	13,80
Σ15	51	5925	846	16,60
Σ16	80	6600	943	11,79
Σ17	85	5053	722	8,49
Σ18	85	3870	553	6,50
Σ19	71	5742	820	11,55
Σ20	76	4797	685	9,02
Σ21	58	6560	937	16,16
Σ22	57	5444	778	13,64
Σ23	70	6267	895	12,79
Σ24	79	6253	893	11,31
Σ25	75	7898	1128	15,04
Σ26	77	6337	905	11,76
Σ27	71	9632	1376	19,38
Σ28	63	7773	1110	17,63
Σ29	57	5699	814	14,28
Σ30	62	3826	547	8,82
M.O.	70,13	6218	888,23	12,66

Η μέση κατώτερη διατροφική πρόσληψη των 26 ΠΑΥ που αναλύθηκαν, υπολογίστηκε στα 6,50 μg ημέρα⁻¹ και η αντίστοιχη έκθεση στα 94,50 ng kg⁻¹ σωματικού βάρους ημέρα⁻¹ (ng kg⁻¹ σ.β. ημ⁻¹). Αν και οι τιμές της κατώτερης πρόσληψης/έκθεσης θεωρούνται πιο κοντά στις πραγματικές τιμές, για τον υπολογισμό της έκθεσης λαμβάνεται υπόψη πως στις εκτιμήσεις έκθεσης του ανθρώπου σε ρύπους εξετάζεται πάντα το «χειρότερο δυνατό σενάριο». Έτσι, παρά την πιθανή υπερεκτίμηση στο αποτέλεσμα, ο μέσος όρος της μέσης ανώτερης διατροφικής πρόσληψης των 26 ΠΑΥ υπολογίστηκε στα 7,16 μg ημ⁻¹ και της αντίστοιχης έκθεσης στα 101,47 ng kg⁻¹ σ.β. ημ⁻¹. Στους Πίνακες 24 και 25 αναφέρονται αναλυτικά για κάθε συμμετέχοντα οι lower και upper bound τιμές για τα αθροίσματα ΠΑΥ ανά μέρα και ανά κιλό βάρους.

Πίνακας 24: Ημερήσια διατροφική πρόσληψη ΠΑΥ

	(μg ημέρα ⁻¹)											
	Σ ₂₆ ΠΑΥ		Σ ₁₆ ΠΑΥ		Σ ₁₅₊₁ ΠΑΥ		Σ ₈ ΠΑΥ		Σ ₄ ΠΑΥ		B[a]P	
	LB	UB	LB	UB	LB	UB	LB	UB	LB	UB	LB	UB
Σ1	7,10	7,46	6,99	7,02	0,31	0,67	0,25	0,29	0,18	0,18	0,04	0,04
Σ2	2,47	2,80	2,35	2,44	0,18	0,49	0,09	0,17	0,07	0,08	0,01	0,01
Σ3	3,93	4,41	3,74	3,83	0,47	0,96	0,36	0,45	0,27	0,27	0,04	0,04
Σ4	3,98	4,38	3,90	4,01	0,13	0,51	0,07	0,17	0,06	0,07	0,01	0,01
Σ5	4,83	5,53	4,67	4,82	0,31	1,01	0,21	0,36	0,15	0,17	0,04	0,04
Σ6	1,79	2,03	1,69	1,75	0,18	0,41	0,11	0,16	0,10	0,10	0,01	0,01
Σ7	7,32	7,65	7,05	7,09	0,79	1,15	0,66	0,70	0,48	0,48	0,11	0,11
Σ8	7,41	7,82	7,15	7,19	0,79	1,20	0,63	0,68	0,47	0,47	0,10	0,10
Σ9	17,40	17,9	16,9	17,0	1,50	2,06	1,25	1,31	0,94	0,94	0,19	0,19
Σ10	6,79	7,25	6,61	6,66	0,44	0,90	0,34	0,39	0,24	0,24	0,05	0,05
Σ11	5,81	6,30	5,68	5,77	0,27	0,75	0,19	0,28	0,16	0,16	0,03	0,03
Σ12	4,95	5,28	4,82	4,86	0,31	0,63	0,23	0,27	0,16	0,16	0,04	0,04
Σ13	10,14	10,9	9,86	10	0,56	1,36	0,35	0,53	0,32	0,32	0,06	0,06
Σ14	7,44	8,15	7,34	7,53	0,16	0,85	0,10	0,29	0,10	0,13	0,00	0,02
Σ15	4,58	5,10	4,51	4,65	0,14	0,64	0,08	0,22	0,08	0,10	0,00	0,02
Σ16	11,9	12,4	11,4	11,5	1,24	1,67	0,95	1,00	0,76	0,76	0,11	0,11
Σ17	6,25	6,64	6,11	6,19	0,30	0,67	0,19	0,26	0,16	0,16	0,03	0,03
Σ18	4,06	4,37	3,95	4,02	0,20	0,50	0,13	0,20	0,12	0,12	0,02	0,02
Σ19	4,14	4,62	4,09	4,18	0,12	0,57	0,07	0,16	0,04	0,07	0,00	0,02
Σ20	5,24	5,68	5,21	5,32	0,08	0,51	0,06	0,17	0,06	0,08	0,00	0,01
Σ21	5,51	6,13	5,45	5,62	0,09	0,69	0,06	0,22	0,06	0,09	0,00	0,02
Σ22	3,59	4,00	3,49	3,55	0,23	0,63	0,17	0,23	0,11	0,11	0,02	0,02
Σ23	8,90	9,30	8,56	8,60	0,72	1,12	0,52	0,56	0,40	0,40	0,06	0,06
Σ24	7,22	7,73	7,08	7,19	0,31	0,81	0,23	0,34	0,21	0,21	0,04	0,04
Σ25	16,5	17,0	16,2	16,3	0,71	1,27	0,53	0,64	0,46	0,46	0,07	0,07
Σ26	4,08	4,70	4,06	4,23	0,05	0,64	0,05	0,21	0,05	0,08	0,00	0,02
Σ27	11,85	12,5	11,6	11,6	1,02	1,69	0,89	0,96	0,63	0,63	0,14	0,14
Σ28	6,32	6,95	6,23	6,36	0,21	0,81	0,13	0,27	0,09	0,11	0,00	0,02
Σ29	4,65	5,15	4,59	4,72	0,11	0,59	0,07	0,20	0,07	0,08	0,02	0,02
Σ30	4,10	4,41	4,04	4,10	0,21	0,51	0,19	0,24	0,16	0,16	0,02	0,02
Μέσος όρος	6.68	7.16	6.51	6.60	0.41	0.88	0.31	0.40	0.24	0.25	0.04	0.05
Διάμεση τιμή	5.66	6.21	5.57	5.70	0.29	0.72	0.19	0.28	0.16	0.16	0.03	0.03
Εύρος τιμών	1.79 - 17.39	2.03 - 17.96	1.69 - 16.93	1.75 - 16.99	0.05 - 1.50	0.41 - 2.06	0.05 - 1.25	0.16 - 1.31	0.04 - 0.94	0.07 - 0.94	0 - 0.19	0.01 - 0.19

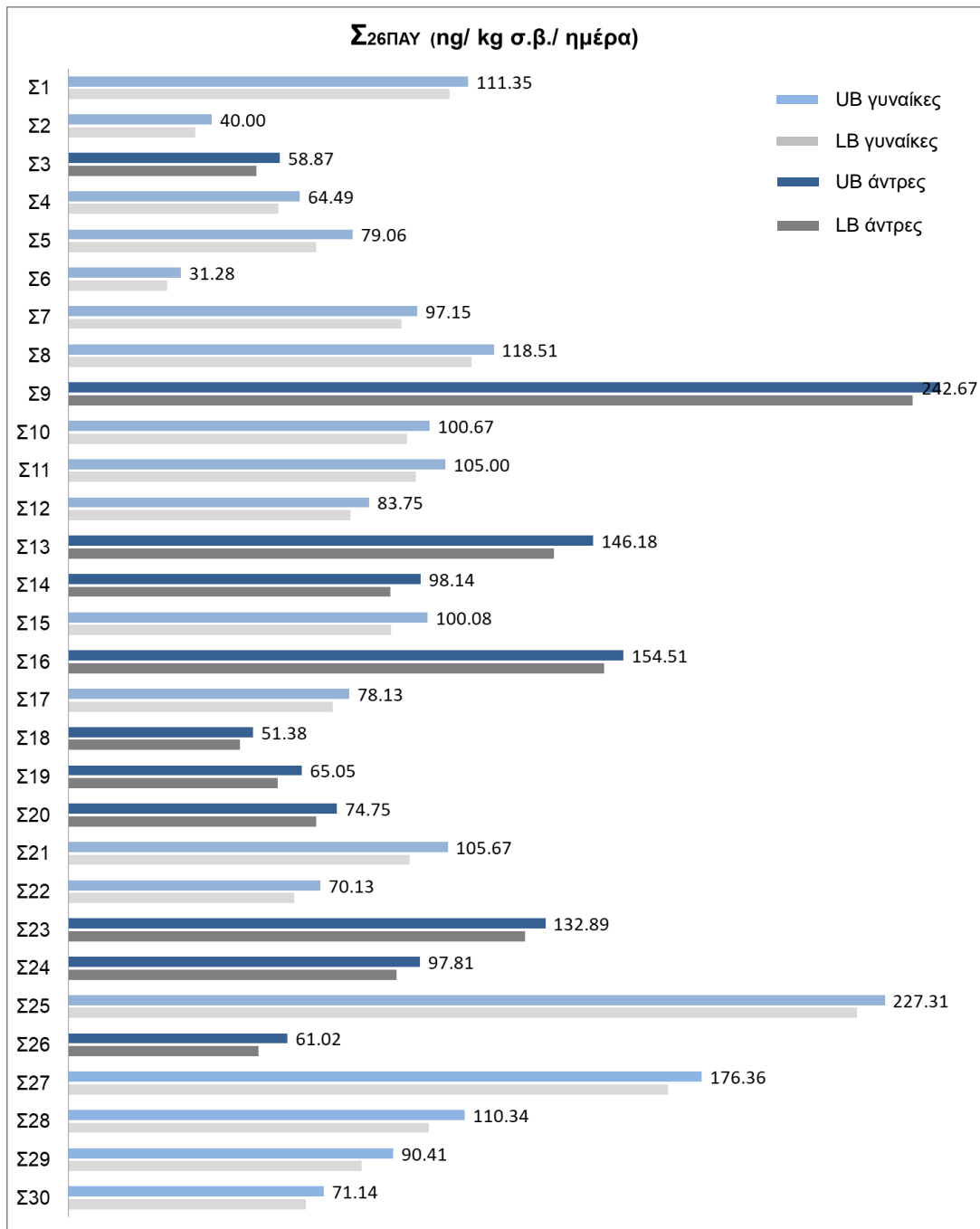
Πίνακας 25: Ημερήσια διατροφική έκθεση σε ΠΑΥ ανα kg σωματικού βάρους

	(ng kg ⁻¹ σ.β. ημ ⁻¹)											
	Σ ₂₆ ΠΑΥ		Σ ₁₆ ΠΑΥ		Σ ₁₅₊₁ ΠΑΥ		Σ ₈ ΠΑΥ		Σ ₄ ΠΑΥ		B[a]P	
	LB	UB	LB	UB	LB	UB	LB	UB	LB	UB	LB	UB
Σ1	106.04	111.35	104.30	104.84	4.66	9.97	3.79	4.34	2.71	2.71	0.54	0.54
Σ2	35.34	40.00	33.51	34.85	2.58	7.07	1.25	2.41	1.00	1.16	0.17	0.17
Σ3	52.43	58.87	49.81	51.00	6.32	12.75	4.77	5.96	3.57	3.57	0.48	0.48
Σ4	58.56	64.49	57.38	58.96	1.98	7.51	1.09	2.47	0.89	1.09	0.20	0.20
Σ5	69.07	79.06	66.75	68.89	4.46	14.46	3.03	5.18	2.14	2.50	0.54	0.54
Σ6	27.60	31.28	26.03	26.99	2.73	6.27	1.70	2.52	1.57	1.57	0.20	0.20
Σ7	92.64	97.15	89.29	89.77	10.06	14.56	8.34	8.81	6.13	6.13	1.44	1.44
Σ8	112.26	118.51	108.27	108.93	11.97	18.22	9.58	10.24	7.18	7.18	1.46	1.46
Σ9	235.02	242.67	228.73	229.58	20.24	27.89	16.84	17.69	12.75	12.75	2.55	2.55
Σ10	94.28	100.67	91.84	92.52	6.11	12.50	4.75	5.43	3.40	3.40	0.68	0.68
Σ11	96.76	105.00	94.62	96.15	4.58	12.51	3.21	4.73	2.59	2.59	0.46	0.46
Σ12	78.62	83.75	76.56	77.13	4.91	10.04	3.65	4.22	2.51	2.51	0.57	0.57
Σ13	135.16	146.18	131.42	133.79	7.48	18.10	4.72	7.08	4.33	4.33	0.79	0.79
Σ14	89.59	98.14	88.48	90.69	1.93	10.21	1.24	3.45	1.24	1.52	0.00	0.28
Σ15	89.79	100.08	88.46	91.12	2.66	12.61	1.66	4.32	1.66	1.99	0.00	0.33
Σ16	149.21	154.51	142.61	143.20	15.56	20.86	11.90	12.49	9.55	9.55	1.41	1.41
Σ17	73.54	78.13	71.93	72.78	3.48	7.90	2.21	3.06	1.87	1.87	0.34	0.34
Σ18	47.74	51.38	46.51	47.29	2.41	5.92	1.56	2.34	1.37	1.37	0.20	0.20
Σ19	58.34	65.05	57.65	58.81	1.73	7.97	1.04	2.20	0.58	1.04	0.00	0.23
Σ20	68.98	74.75	68.53	69.97	1.08	6.67	0.81	2.25	0.81	0.99	0.00	0.18
Σ21	95.01	105.67	94.04	96.95	1.62	11.96	0.97	3.88	0.97	1.62	0.00	0.32
Σ22	62.90	70.13	61.26	62.22	4.09	11.05	3.00	3.96	1.91	1.91	0.27	0.27
Σ23	127.13	132.89	122.27	122.91	10.23	15.99	7.42	8.06	5.76	5.76	0.90	0.90
Σ24	91.48	97.81	89.67	91.02	3.96	10.29	2.94	4.30	2.71	2.71	0.45	0.45
Σ25	219.49	227.31	215.58	217.08	9.48	17.00	7.07	8.57	6.17	6.17	0.90	0.90
Σ26	53.02	61.02	52.79	54.90	0.59	8.35	0.59	2.70	0.59	1.06	0.00	0.24
Σ27	166.86	176.36	162.79	163.76	14.34	23.84	12.60	13.57	8.91	8.91	1.94	1.94
Σ28	100.47	110.34	98.88	101.00	3.35	12.87	2.12	4.23	1.41	1.76	0.00	0.35
Σ29	81.56	90.41	80.56	82.84	1.86	10.43	1.14	3.43	1.14	1.43	0.29	0.29
Σ30	66.21	71.14	65.24	66.12	3.44	8.20	3.00	3.88	2.64	2.64	0.35	0.35
Μέσος όρος	94.50	101.47	92.19	93.53	5.66	12.47	4.27	5.59	3.34	3.46	0.57	0.63
Διάμεση τιμή	89.69	97.48	88.47	90.23	4.03	11.50	3.00	4.26	2.33	2.50	0.40	0.40
Εύρος τιμών	27.60 - 235.02	31.28 - 242.67	26.03 - 228.73	26.99 - 229.58	0.59 - 20.24	5.92 - 27.89	0.59 - 16.84	2.20 - 17.69	0.58 - 12.75	0.99 - 12.75	0 - 2.55	0.17 - 2.55

Για το άθροισμα των 16 ΠΑΥ η μέση ανώτερη διατροφική πρόσληψη υπολογίσθηκε στα 6,60 $\mu\text{g } \eta\mu^{-1}$ και η έκθεση στα 93,53 $\text{ng } \text{kg}^{-1} \text{ σ.β. } \eta\mu^{-1}$, ενώ για το σύνολο $\Sigma_{15+1\text{ΠΑΥ}}$ στα 0,88 $\mu\text{g } \eta\mu^{-1}$ και 12,47 $\text{ng } \text{kg}^{-1} \text{ σ.β. } \eta\mu^{-1}$ αντιστοίχως. Η πρόσληψη των 8 ΠΑΥ δεικτών ανά ημέρα βρέθηκε στα 0,40 μg και η έκθεση στα 5,59 $\text{ng } \text{kg}^{-1} \text{ σ.β. } \eta\mu^{-1}$, ενώ για τους 4 ΠΑΥ για τους οποίους ισχύουν τα μέγιστα επιτρεπτά όρια παρουσίας, η upper bound πρόσληψη είναι στα 0,25 $\mu\text{g } \eta\mu^{-1}$ και η έκθεση στα 3,46 $\text{ng } \text{kg}^{-1} \text{ σ.β. } \eta\mu^{-1}$. Η πρόσληψη του βενζο[α]πυρενίου υπολογίσθηκε σε αρκετά χαμηλά επίπεδα της τάξεως των 0,05 $\mu\text{g } \eta\mu^{-1}$ και η έκθεση στα 0,63 $\text{ng } \text{kg}^{-1} \text{ σ.β. } \eta\mu^{-1}$.

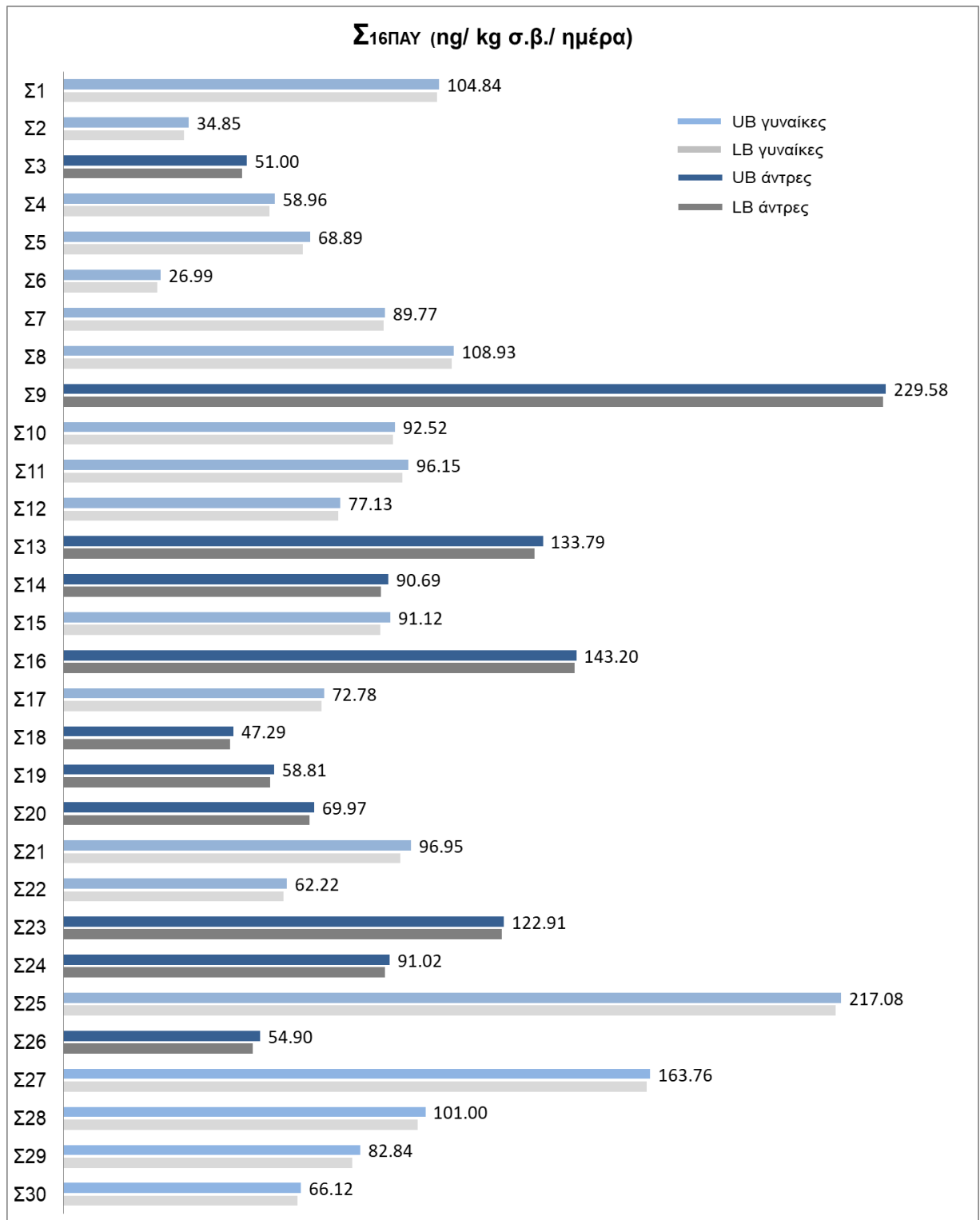
Γενικά, παρατηρήθηκε μεγάλος εύρος στη διατροφική πρόσληψη/έκθεση μεταξύ των συμμετεχόντων. Για παράδειγμα ο συμμετέχων Σ6 βρέθηκε να λαμβάνει 31,28 $\text{ng } \text{kg}^{-1} \text{ σ.β. } \eta\mu^{-1}$ του συνόλου των 26 ΠΑΥ, ενώ η αντίστοιχη τιμή για τον συμμετέχοντα Σ9 ήταν 242,67 $\text{ng } \text{kg}^{-1} \text{ σ.β. } \eta\mu^{-1}$. Ομοίως, μεγάλο εύρος τιμών πρόσληψης παρατηρήθηκε και για τα υπόλοιπα αθροίσματα των ΠΑΥ, όπως πχ. η πρόσληψη για το σύνολο $\Sigma_{4\text{ΠΑΥ}}$ για τον εθελοντή Σ20 ήταν στα 0,99 $\text{ng } \text{kg}^{-1} \text{ σ.β. } \eta\mu^{-1}$, ενώ για τον Σ16 υπολογίσθηκε σχεδόν δεκαπλάσια πρόσληψη, στα 9,55 $\text{ng } \text{kg}^{-1} \text{ σ.β. } \eta\mu^{-1}$. Αυτή η διαφοροποίηση οφείλεται κυρίως στις μεγάλες διαφορές στη συνολική εβδομαδιαία ποσότητα τροφής που καταναλώνουν οι συμμετέχοντες, και όχι τόσο στο προφίλ συγκεντρώσεων μεταξύ των δειγμάτων. Η συνολική εβδομαδιαία κατανάλωση τροφής από τους εθελοντές κυμάνθηκε μεταξύ 4,70 και 10,33 κιλά φαγητού.

Η ημερήσια έκθεση για τις γυναίκες ήταν χαμηλότερη από αυτήν των συμμετεχόντων ανδρών. Για τις γυναίκες, η μέση ανώτερη διατροφική έκθεση στους 26 ΠΑΥ κυμάνθηκε μεταξύ 31,28 και 227,31 $\text{ng } \text{kg}^{-1} \text{ σ.β. } \eta\mu^{-1}$, με μέσο όρο τα 97,94 $\text{ng } \text{kg}^{-1} \text{ σ.β. } \eta\mu^{-1}$, ενώ για τους άντρες το εύρος υπολογίστηκε μεταξύ 51,38 και 242,67 $\text{ng } \text{kg}^{-1} \text{ σ.β. } \eta\mu^{-1}$ και ο μέσος όρος στα 107,57 $\text{ng } \text{kg}^{-1} \text{ σ.β. } \eta\mu^{-1}$. Η διαφορά αυτή θεωρήθηκε αναμενόμενη, καθώς οι άντρες καταναλώνουν κατά μέσο όρο 100 g επιπλέον τροφής την ημέρα, συγκριτικά με τις γυναίκες. Στο Σχήμα 14 παρουσιάζεται τόσο η κατώτερη όσο και η ανώτερη ημερήσια διατροφική έκθεση στους 26 ΠΑΥ για τις γυναίκες και τους άντρες εθελοντές της μελέτης.

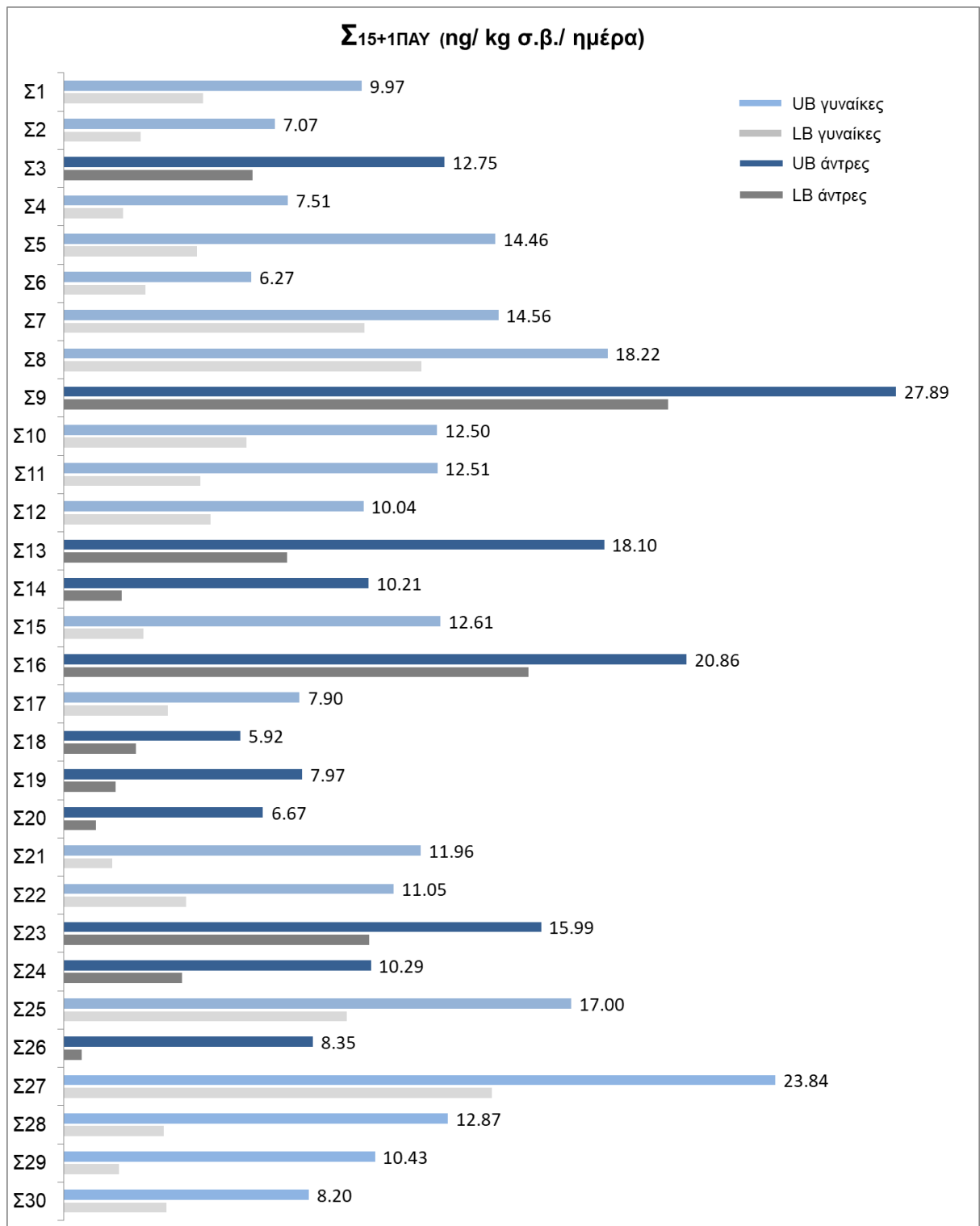


Σχήμα 14: Ημερήσια διατροφική έκθεση στους 26 ΠΑΥ ανά φύλο και συμμετέχοντα

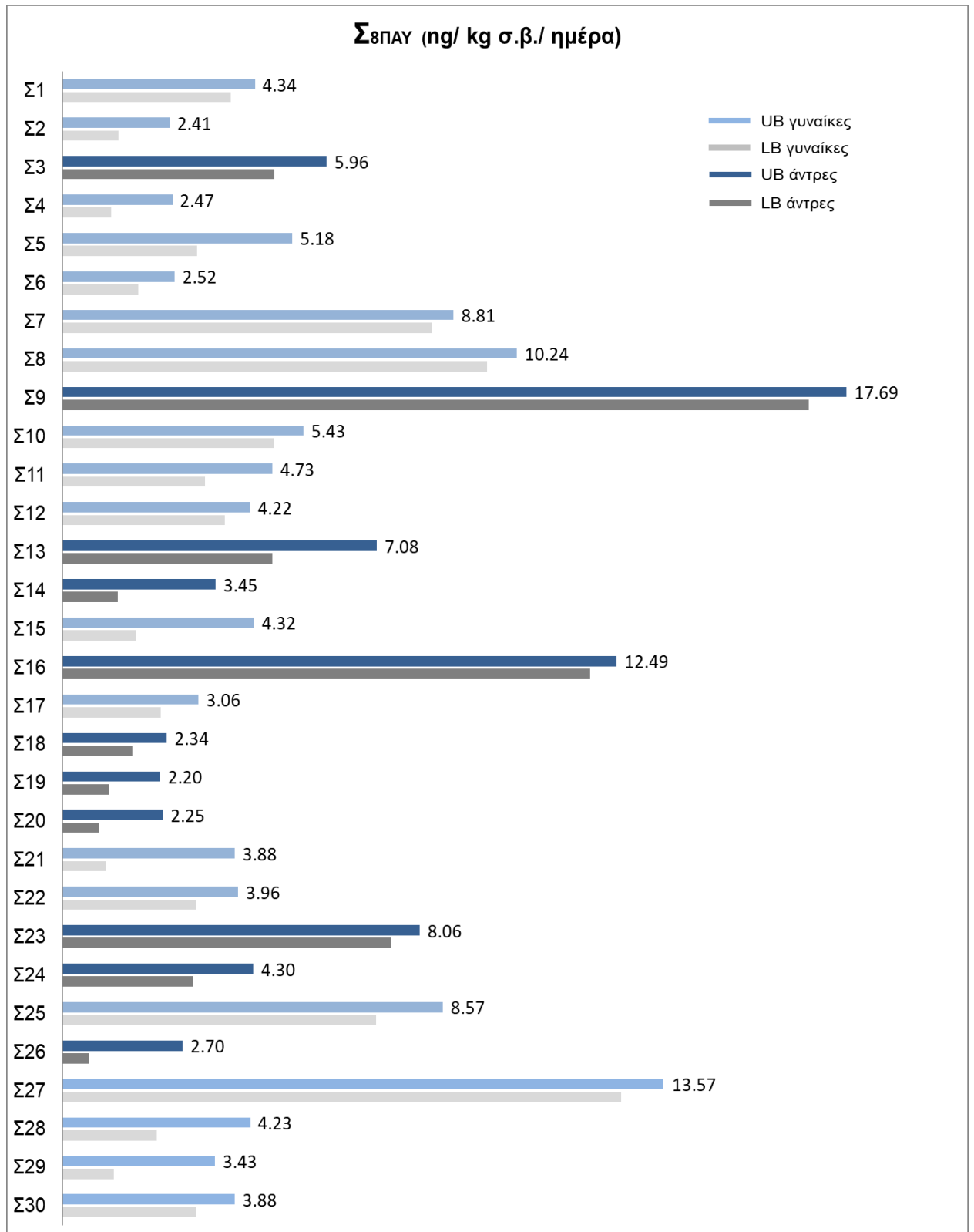
Παρατηρούμε πως δεν υπάρχει σημαντική διαφορά μεταξύ lower και upper bound τιμών έκθεσης. Το ίδιο ισχύει και για την έκθεση στους 16 ΠΑΥ της ΕΡΑ, σε αντίθεση με την έκθεση στους 15+1 ΠΑΥ της Ε.Ε., για τους οποίους παρατηρήθηκε μια διαφορά μεταξύ των lower και upper τιμών έκθεσης.



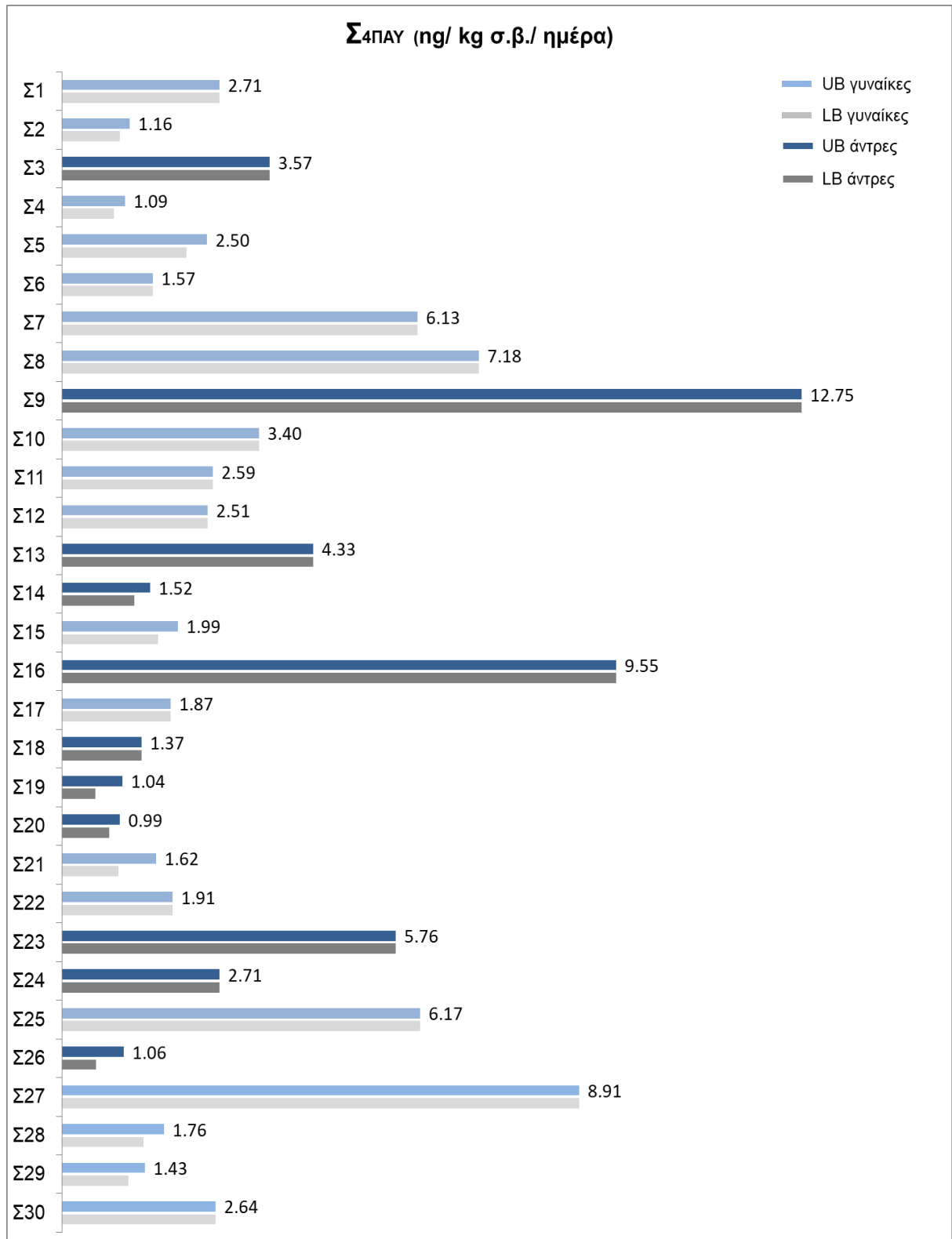
Σχήμα 15: Ημερήσια διατροφική έκθεση στους 16 ΠΑΥ ανά φύλο και συμμετέχοντα



Σχήμα 16: Ημερήσια διατροφική έκθεση στους 15+1 ΠΑΥ ανά φύλο και συμμετέχοντα



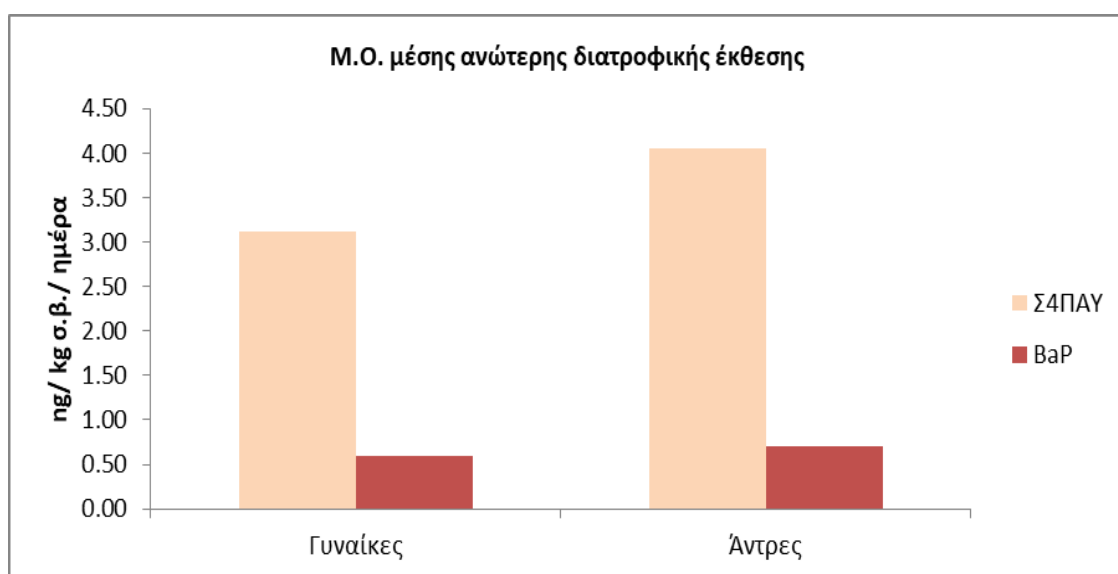
Σχήμα 17: Ημερήσια διατροφική έκθεση στους 8 ΠΑΥ ανά φύλο και συμμετέχοντα



Σχήμα 18: Ημερήσια διατροφική έκθεση στους 4 ΠΑΥ ανά φύλο και συμμετέχοντα

Η διαφοροποίηση αυτή στις lower και upper τιμές στο άθροισμα των 15+1ΠΑΥ οφείλεται στο γεγονός ότι στην πλειονότητά τους οι συγκεκριμένες ενώσεις βρέθηκαν κάτω του LOD.

Ο μέσος όρος της ανώτερης έκθεσης στους 16 ΠΑΥ ήταν για τις γυναίκες τα 90,15 ng kg⁻¹ σ.β. ημ⁻¹ και για τους άντρες τα 99,38 ng kg⁻¹ σ.β. ημ⁻¹, ενώ οι τιμές για τους 15+1 ΠΑΥ διαμορφώθηκαν στα 12,05 ng kg⁻¹ σ.β. ημ⁻¹ για τις γυναίκες και 13,18 ng kg⁻¹ σ.β. ημ⁻¹ για τους άντρες. Η ανώτερη έκθεση στους 8 ΠΑΥ δείκτες ήταν κατά μέσο όρο 5,22 και 6,23 ng kg⁻¹ σ.β. ημ⁻¹ για τις γυναίκες και τους άντρες αντίστοιχα.



Σχήμα 19: Διατροφική έκθεση ανά φύλο στους ΠΑΥ του ορίου

Για τους 4 ΠΑΥ της νομοθεσίας, οι τιμές έκθεσης υπολογίστηκαν στα 3,11 ng kg⁻¹ σ.β. ημ⁻¹ για τις γυναίκες και στα 4,06 ng kg⁻¹ σ.β. ημ⁻¹ για τους άντρες. Το βενζο[α]πυρένιο είχε εύρος τιμών μεταξύ 0,17 και 1,94 ng kg⁻¹ σ.β. ημ⁻¹ για τις γυναίκες και 0,18 με 2,55 ng kg⁻¹ σ.β. ημ⁻¹ για τους άντρες (Σχήμα 19).

Η χαμηλότερη έκθεση για τις γυναίκες στους 26, 16 και 15+1 ΠΑΥ εκτιμήθηκε για τη συμμετέχουσα Σ6, η οποία κατανάλωσε και τη λιγότερη ποσότητα τροφής κατά τη διάρκεια της μελέτης, ενώ για τους 8 και τους 4 τη χαμηλότερη έκθεση είχαν η Σ2 και η Σ4 με παραπλήσιες τιμές και σχετικά χαμηλή πρόσληψη τροφής και για τις δύο. Για τους άντρες, οι συμμετέχοντες Σ26 και Σ18 είχαν τη χαμηλότερη έκθεση, αν και η κατανάλωση τροφής ήταν λίγο περισσότερη από το μέσο όρο, στα 6337 g. Από την άλλη, την υψηλότερη

έκθεση μεταξύ γυναικών στους 26 και 16 ΠΑΥ είχε η συμμετέχουσα Σ25, έκθεση η οποία οφείλεται κυρίως στα υψηλά επίπεδα συγκεντρώσεων ΠΑΥ που προσδιορίστηκαν και εν μέρει στην ποσότητα τροφής που κατανάλωσε (7898 g). Ωστόσο, για τους 15+1, 8 και 4 ΠΑΥ, η υψηλότερη έκθεση βρέθηκε για τη συμμετέχουσα Σ27, γεγονός το οποίο σχετίζεται αποκλειστικά με το είδος της διατροφής, το οποίο περιλαμβάνει περισσότερα τρόφιμα επιβαρυσμένα με ΗΜW ΠΑΥ, κάτι το οποίο διακρίνεται και στο Σχήμα 12 στο προφίλ κατανομής των ΠΑΥ. Ομοίως, ο συμμετέχοντας Σ9 ήταν ο άντρας με την υψηλότερη έκθεση, τόσο λόγω αυξημένων συγκεντρώσεων ΠΑΥ όσο και αυξημένης κατανάλωσης τροφής συγκριτικά με την πλειονότητα των υπολοίπων αντρών. Ο άντρας συμμετέχων Σ13 που κατανάλωσε την περισσότερη τροφή (10.329 g) μεταξύ όλων των εθελοντών, είχε την 3^η κατά σειρά υψηλότερη έκθεση μεταξύ των 11 αντρών για τους 26, 16 και 15+1 ΠΑΥ και 4^η για τους 8 και 4 ΠΑΥ, γεγονός το οποίο καταδεικνύει πως αν και η συνολική έκθεση εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την ποσότητα τροφής που καταναλώνεται, σχετίζεται κυρίως με το είδος της διατροφής και την επιβάρυνση των τροφίμων που επιλέγονται.

8.4 Υπολογισμός διατροφικής έκθεσης σε ΠΑΥ, με βάση τα δεδομένα διατροφικής κατανάλωσης και δεδομένα συγκεντρώσεων

Η αποτελεσματικότητα και η αξιοπιστία των αποτελεσμάτων μιας μεθόδου DDS συγκρίνονται συνήθως με τα αντίστοιχα μια ολικής διατροφικής μελέτης, στην οποία η εκτίμηση της διατροφικής έκθεσης συνδυάζει τα επίπεδα συγκέντρωσης των ρύπων σε διάφορα τρόφιμα με δεδομένα κατανάλωσης τροφίμων, όπως περιγράφηκε στο Κεφάλαιο 5.6. Δεδομένου ότι δεν υπάρχουν επαρκείς δημοσιευμένες μελέτες για τα επίπεδα των ΠΑΥ σε όλες τις κατηγορίες τροφίμων που καταναλώνονται από τον ελληνικό πληθυσμό, αλλά μόνο σε ορισμένα λαχανικά και μύδια, τα δεδομένα συγκεντρώσεων χρησιμοποιήθηκαν από την Έκθεση της EFSA του 2008, για τους ΠΑΥ στα τρόφιμα και τη διατροφή του ευρωπαϊκού πληθυσμού⁷⁵.

Συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκαν οι διάμεσες τιμές των μέσων ανώτερων και κατώτερων συγκεντρώσεων του βενζο[a]πυρενίου, του αθροίσματος των 4 και

των 8 ΠΑΥ που προέκυψαν από την ανάλυση 4.065 τροφίμων προερχόμενα από 13 κράτη μέλη της Ε.Ε. Τα συγκεκριμένα δεδομένα συγκεντρώσεων είχαν χρησιμοποιηθεί από 16 χώρες (Βέλγιο, Βουλγαρία, Τσεχική Δημοκρατία, Δανία, Φινλανδία, Γαλλία, Γερμανία, Ουγγαρία, Ισλανδία, Ιρλανδία, Ιταλία, Ολλανδία, Νορβηγία, Σλοβακία, Σουηδία, Ηνωμένο Βασίλειο), ώστε να εκτιμηθεί η διατροφική έκθεση σε ΠΑΥ, ενώ δεν πραγματοποιήθηκε εκτίμηση για τον ελληνικό πληθυσμό.

Τα δεδομένα για την κατανάλωση τροφίμων στην Ελλάδα ελήφθησαν από τη μελέτη GR-EFSA-LOT2 2014-2015¹⁹⁵ και είναι διαθέσιμα στην ολοκληρωμένη βάση δεδομένων κατανάλωσης τροφίμων της EFSA¹⁹⁶. Χρησιμοποιήθηκαν τα δεδομένα κατανάλωσης για τους ενήλικες, καθώς στη μέθοδο DDS το 100% των συμμετεχόντων ήταν ενήλικες.

Οι κατηγορίες τροφίμων που χρησιμοποιήθηκαν για τα επίπεδα των ΠΑΥ στα τρόφιμα αντιστοιχήθηκαν όσο το δυνατόν περισσότερο με τις αντίστοιχες κατηγορίες δεδομένων κατανάλωσης. Η συμβολή κάθε κατηγορίας τροφίμων στη συνολική πρόσληψη υπολογίστηκε από τη μέση κατανάλωση ολόκληρου του πληθυσμού (all subjects). Για τον πληθυσμό υψηλής κατανάλωσης (high consumers), η πρόσληψη υπολογίστηκε αθροίζοντας το 97,5ο εκατοστημόριο μόνο για καταναλωτές (consumers only) των δύο κύριων ομάδων συνεισφοράς ΠΑΥ στη διατροφή, τα δημητριακά και τα ψάρια-θαλασσινά, με τη μέση κατανάλωση όλων των υπόλοιπων κατηγοριών τροφίμων. Η αντιστοίχιση των ομάδων τροφίμων, τα δεδομένα κατανάλωσης και οι ανώτερες και κατώτερες τιμές συγκεντρώσεων του βενζο[α]πυρενίου και των $\Sigma_{4\text{ΠΑΥ}}$ και $\Sigma_{8\text{ΠΑΥ}}$ ανά κατηγορία φαίνονται στον Πίνακα 26.

Ελλείπει δεδομένων διατροφικής κατανάλωσης, μέχρι τώρα, για τον ελληνικό πληθυσμό, η αξιολόγηση της πρόσληψης ΠΑΥ με αυτό τον τρόπο επιχειρείται τώρα για πρώτη φορά.

Πίνακας 26: Δεδομένα κατανάλωσης τροφίμων και συγκεντρώσεων ΠΑΥ ανά κατηγορία

Κωδ. Ομ.	Ομάδες τροφίμων δεδομένων συγκέντρωσης	Ομάδες τροφίμων δεδομένων κατανάλωσης	Ημερήσια κατανάλωση (g kg ⁻¹ σ.β. ημ ⁻¹)		Συγκεντρώσεις ΠΑΥ (ng g ⁻¹ προϊόντος)					
			Σύνολο πληθυσμού	97,5ο εκατοστημόριο (μόνο για καταναλωτές)	Σ _{8ΠΑΥ}		Σ _{4ΠΑΥ}		BaP	
					LB	UB	LB	UB	LB	UB
1	Δημητριακά	Δημητριακά και προϊόντα με βάση τα δημητριακά	2.65	6.4	1.97	3.08	1.17	1.66	0.20	0.40
2	Σοκολάτα	Σοκολάτα και γλυκά με βάση τη σοκολάτα	0.05	0.05	2.37	2.76	1.61	1.75	0.30	0.32
3	Λίπη και έλαια	Ζωικά και φυτικά λίπη και πρωτογενή παράγωγά τους	0.48	0.48	9.10	9.81	7.04	7.35	0.97	1.00
4α	Λαχανικά και ξηροί καρποί	Αμυλούχες ρίζες, κόνδυλοι και προϊόντα τους	0.79	0.79	1.12	1.95	0.82	1.14	0.16	0.26
4β		Λαχανικά και προϊόντα τους	2.49	2.49	1.12	1.95	0.82	1.14	0.16	0.26
4γ		Καρποί δέντρων	0.03	0.03	1.12	1.95	0.82	1.14	0.16	0.26
4δ		Πρωτογενή παράγωγα από ξηρούς καρπούς και παρόμοιους σπόρους	0.02	0.02	1.12	1.95	0.82	1.14	0.16	0.26
5	Αποξηραμένα φρούτα	Αποξηραμένα φρούτα	0.01	0.01	2.71	3.10	2.53	2.68	0.13	0.17
6	Καφές, κακάο και τσάι	Καφές, κακάο και τσάι	0.26	0.26	0.53	0.54	0.37	0.37	0.07	0.07
7	Αλκοολούχα ποτά	Αλκοολούχα ποτά	1.45	1.45	0.01	0.18	0.01	0.06	0.00	0.01
8	Κρέας	Κρέας και προϊόντα με βάση το κρέας	1.5	1.5	1.77	2.11	1.34	1.48	0.29	0.32
9	Ψάρια και θαλασσινά	Ψάρια, θαλασσινά, αμφίβια, ερπετά και ασπόνδυλα	0.37	4.4	13.23	13.82	11.22	11.46	1.26	1.30
10	Τυριά	Τυριά	0.7	0.7	0.34	0.84	0.28	0.49	0.08	0.13
11	Συμπληρώματα διατροφής και πρόσθετα τροφίμων	Συμπληρώματα διατροφής και πρόσθετα τροφίμων	0.00	0.00	30.03	30.31	23.73	23.84	2.78	2.82
12	Μπαχαρικά	Μπαχαρικά	0.00	0.00	28.19	28.40	23.18	23.27	3.50	3.51

Μπλε υπογράμμιση φέρουν οι δύο κατηγορίες με τη μεγαλύτερη συνεισφορά ΠΑΥ στη διατροφή, που χρησιμοποιούνται για τους υπολογισμούς πρόσληψης του 97,5 εκατοστημορίου. Χρησιμοποιώντας τα δεδομένα του Πίνακα 26 και με βάση την Εξίσωση 2 του Κεφαλαίου 5.6 υπολογίστηκε η μέση ανώτερη και κατώτερη διατροφική έκθεση του ελληνικού πληθυσμού, αθροίζοντας τα αποτελέσματα από όλες τις κατηγορίες τροφίμων και θεωρώντας το μέσο βάρος ενός ενήλικα τα 70 kg¹⁹⁴. Τα συγκεντρωτικά αποτελέσματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 27.

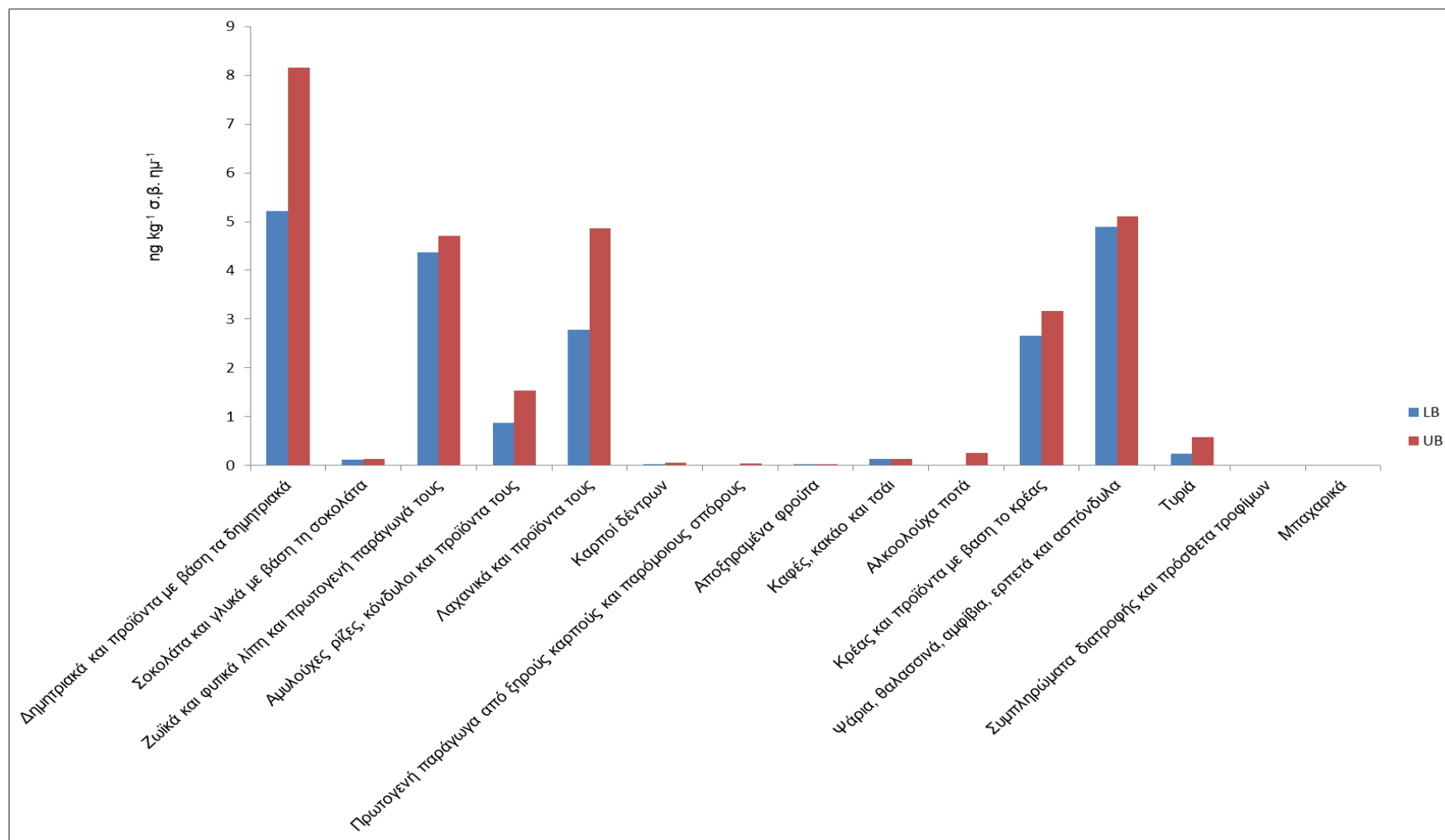
Η μέση ανώτερη διατροφική έκθεση που υπολογίστηκε με αυτήν την προσέγγιση, εκτιμήθηκε στα 28,80 ng kg⁻¹ σ.β. ημ⁻¹ για το σύνολο των 8 ΠΑΥ, στα 18,83 ng kg⁻¹ σ.β. ημ⁻¹ για τους 4 ΠΑΥ και στα 3,51 ng kg⁻¹ σ.β. ημ⁻¹ για βενζο[α]πυρένιο, για ολόκληρο τον πληθυσμό. Η μέση ανώτερη έκθεση για τον πληθυσμό υψηλής κατανάλωσης της κατηγορίας 1- Δημητριακά, εκτιμήθηκε στα 40,35 ng kg⁻¹ σ.β. ημ⁻¹ για το σύνολο των 8 ΠΑΥ, στα 25,05 ng kg⁻¹ σ.β. ημ⁻¹ για τους 4 ΠΑΥ και στα 5,01 ng kg⁻¹ σ.β. ημ⁻¹ για το βενζο[α]πυρένιο, ενώ για τον πληθυσμό υψηλής κατανάλωσης της κατηγορίας 9- Ψάρια και θαλασσινά, οι αντίστοιχες τιμές ήταν στα 84,50, 65,01 και 8,75 ng kg⁻¹ σ.β. ημ⁻¹. Η χρήση των lower έναντι των upper τιμών συγκεντρώσεων, στη συγκεκριμένη προσέγγιση, φάνηκε να μεταβάλλει το αποτέλεσμα της έκθεσης τόσο για το σύνολο του πληθυσμού, αλλά κυρίως για τους καταναλωτές υψηλής κατανάλωσης (Πίνακας 27, 28).

Πίνακας 27: Μέση ανώτερη και κατώτερη ημερήσια διατροφική έκθεση σε ΠΑΥ, ανά κατηγορίες τροφίμων, με βάση τα δεδομένα διατροφικής κατανάλωσης

Κωδ. Ομ.	Σύνολο πληθυσμού (ng kg ⁻¹ σ.β. ημ ⁻¹)						97,5ο εκατοστημόριο (πληθυσμός υψηλής κατανάλωσης) (ng kg ⁻¹ σ.β. ημ ⁻¹)					
	Σ _{8ΠΑΥ}		Σ _{4ΠΑΥ}		BaP		Σ _{8ΠΑΥ}		Σ _{4ΠΑΥ}		BaP	
	LB	UB	LB	UB	LB	UB	LB	UB	LB	UB	LB	UB
1	5.22	8.16	3.10	4.40	0.53	1.06	12.61	19.71	7.49	10.62	1.28	2.56
2	0.12	0.14	0.08	0.09	0.02	0.02	0.12	0.14	0.08	0.09	0.02	0.02
3	4.37	4.71	3.38	3.53	0.47	0.48	4.37	4.71	3.38	3.53	0.47	0.48
4α	0.88	1.54	0.65	0.90	0.13	0.21	0.88	1.54	0.65	0.90	0.13	0.21
4β	2.79	4.86	2.04	2.84	0.40	0.65	2.79	4.86	2.04	2.84	0.40	0.65
4γ	0.03	0.06	0.02	0.03	0.00	0.01	0.03	0.06	0.02	0.03	0.00	0.01
4δ	0.02	0.04	0.02	0.02	0.00	0.01	0.02	0.04	0.02	0.02	0.00	0.01
5	0.03	0.03	0.03	0.03	0.00	0.00	0.03	0.03	0.03	0.03	0.00	0.00
6	0.14	0.14	0.10	0.10	0.02	0.02	0.14	0.14	0.10	0.10	0.02	0.02
7	0.01	0.26	0.01	0.09	0.00	0.01	0.01	0.26	0.01	0.09	0.00	0.01
8	2.66	3.17	2.01	2.22	0.44	0.48	2.66	3.17	2.01	2.22	0.44	0.48
9	4.90	5.11	4.15	4.24	0.47	0.48	58.21	60.81	49.37	50.42	5.54	5.72
10	0.24	0.59	0.20	0.34	0.06	0.09	0.24	0.59	0.20	0.34	0.06	0.09
11	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
12	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

Πίνακας 28: Συνολική μέση ανώτερη και κατώτερη ημερήσια διατροφική έκθεση σε ΠΑΥ με βάση τα δεδομένα διατροφικής κατανάλωσης

(ng kg ⁻¹ σ.β. ημ ⁻¹)	LB	Σ _{8ΠΑΥ}	UB	LB	Σ _{4ΠΑΥ}	UB	LB	BaP	UB
Σύνολο πληθυσμού	21.40		28.80	15.78		18.83	2.52		3.51
Πληθυσμός υψηλής κατανάλωσης Κωδ. Ομ. 1	28.79		40.35	20.17		25.05	3.27		5.01
Πληθυσμός υψηλής κατανάλωσης Κωδ. Ομ. 9	74.72		84.50	61.00		65.01	7.60		8.75



Σχήμα 20: Συμβολή κατηγοριών τροφίμων στη συνολική έκθεση του γενικού πληθυσμού

Για τον γενικό πληθυσμό, τη μεγαλύτερη συμβολή στη συνολική έκθεση φάνηκε να έχει η κατηγορία 1, δημητριακά και προϊόντα με βάση τα δημητριακά, η οποία αποδίδεται στην υψηλή κατανάλωση της συγκεκριμένης ομάδας τροφίμων και ακολούθως η κατηγορία 9, ψάρια, θαλασσινά, αμφίβια και ερπετά, λόγω επιβάρυνσης των τροφίμων αυτής της κατηγορίας. Ακολούθως, η κατηγορία 3, ζωικά και φυτικά λίπη και στη συνέχεια η κατηγορία 4β, λαχανικά και προϊόντα λαχανικών, με μια διαφορά ωστόσο στη lower και upper bound συνολική συμβολή (Σχήμα 20).

8.5 Συγκριτική αποτίμηση των δύο μεθόδων

Σε σύγκριση με τα αντίστοιχα αποτελέσματα έκθεσης που προέκυψαν από τη μέθοδο DDS, τα επίπεδα της έκθεσης που υπολογίστηκαν με βάση τα δεδομένα κατανάλωσης ήταν σημαντικά υψηλότερα. Στον Πίνακα 29 παρατίθενται οι τιμές της έκθεσης που υπολογίστηκαν και με τις δύο μεθόδους.

Πίνακας 29: Εκτιμώμενη έκθεση με βάση τις δύο μεθόδους (ng kg^{-1} σ.β. ημ^{-1})

	$\Sigma_{8\text{ΠΔΥ}}$		$\Sigma_{4\text{ΠΔΥ}}$		BaP	
	LB	UB	LB	UB	LB	UB
<u>Μέθοδος DDS</u>						
Μέση τιμή	4.27	5.59	3.34	3.46	0.57	0.63
Διάμεση τιμή	3.00	4.26	2.33	2.50	0.40	0.40
Εύρος τιμών	0.59 - 16.84	2.20 - 17.69	0.58 - 12.75	0.99 - 12.75	0 – 2.55	0.17 - 2.55
<u>Μέθοδος δεδομένων κατανάλωσης</u>						
Γενικός πληθυσμός	21.40	28.80	15.78	18.83	2.52	3.51
97,5ο εκατοστημόριο - Δημητριακά	28.79	40.35	20.17	25.05	3.27	5.01
97,5ο εκατοστημόριο - Ψάρια και θαλασσινά	74.72	84.50	61.00	65.01	7.60	8.75

Παρόλο που στα αποτελέσματα της πρώτης μεθόδου δεν συνεκτιμήθηκε η συνεισφορά από υγρά όπως καφές, τσάι και αλκοολούχα ποτά, η συμβολή τους στη συνολική πρόσληψη ΠΑΥ δεν αναμένεται να αλλάζει δραματικά τα επίπεδα της έκθεσης, όπως άλλωστε φαίνεται στην περίπτωση του υπολογισμού με βάση τα δεδομένα κατανάλωσης (Πίνακας 26). Επιπρόσθετα, στη μέθοδο DDS υπάρχει πιθανότητα υποεκτίμησης στο αποτέλεσμα λόγω αδυναμίας συλλογής όλων των τροφίμων από τους εθελοντές, λόγω αλλαγών στις διατροφικές τους συνήθειες καθώς και λόγω εποχικής διακύμανσης στο είδος της διατροφής.

Ωστόσο, η σημαντική διαφορά στο αποτέλεσμα μεταξύ των δύο προσεγγίσεων αποδίδεται στην υπερεκτίμηση στο αποτέλεσμα της δεύτερης προσέγγισης, λόγω των υψηλών επιπέδων ΠΑΥ των δειγμάτων (στοχευόμενη δειγματοληψία και ανάλυση σε ύποπτων κατηγοριών τροφίμων), καθώς και της χρήσης ευρύτερων κατηγοριών τροφίμων για δεδομένα κατανάλωσης, σε σύγκριση με εκείνες που χρησιμοποιήθηκαν ως αναφορά για τα αναλυτικά αποτελέσματα των ΠΑΥ. Αν μάλιστα λάβουμε υπόψη πως στη δεύτερη προσέγγιση, δεν έχει συμπεριληφθεί η πρόσληψη από όλες τις ομάδες τροφίμων που καταναλώνει ο πληθυσμός, παρά μόνο για τις 12 για τις οποίες ανακτήθηκαν τα αναλυτικά δεδομένα, η εκτιμώμενη ημερήσια έκθεση είναι ακόμη μεγαλύτερη. Επομένως, όπως αναφέρει και η EFSA στην Έκθεσή της τα συγκεκριμένα αποτελέσματα πρέπει να εξετάζονται με ιδιαίτερη προσοχή.

8.6 Αξιολόγηση κινδύνου διατροφικής έκθεσης του γενικού πληθυσμού σε ΠΑΥ - Περιθώρια ασφαλούς έκθεσης

Όπως αναφέρθηκε νωρίτερα, για την αξιολόγηση της επικινδυνότητας της από του στόματος έκθεσης σε οργανικούς ρύπους έχουν προταθεί και χρησιμοποιούνται διάφορες προσεγγίσεις. Για την περίπτωση των ΠΑΥ χρησιμοποιήθηκε η προσέγγιση της δόσης αναφοράς $BMDL_{10}$ (Κεφάλαιο 5.6).

Στον Πίνακα που ακολουθεί παρατίθενται οι τιμές MOE για την έκθεση που υπολογίστηκε τόσο με τη μέθοδο DDS, όσο και με βάση τα διατροφικά δεδομένα κατανάλωσης, για το σύνολο του γενικού πληθυσμού και για τον

πληθυσμό υψηλής κατανάλωσης. Οι τιμές MOE προέκυψαν με βάση την Εξίσωση 3 του Κεφαλαίου 5.6.

Πίνακας 30: Περιθώρια ασφαλούς έκθεσης (MOE) σε ΠΑΥ μέσω της διατροφής

Μέθοδος	LB Μέση ημερήσια έκθεση (ng kg ⁻¹ σ.β. ημ ⁻¹)	UB Μέση ημερήσια έκθεση (ng kg ⁻¹ σ.β. ημ ⁻¹)	BMDL ₁₀ (mg kg ⁻¹ σ.β. ημ ⁻¹)	MOE	
				LB έκθεσης	UB έκθεσης
DDS					
BaP	0.57	0.63	0.07	122807	111111
ΠΑΥ4	3.34	3.46	0.34	101796	98266
ΠΑΥ8	4.27	5.59	0.49	114754	87657
Δεδομένα κατανάλωσης					
<i>Γενικός πληθυσμός</i>					
BaP	2.52	3.51	0.07	27778	19943
ΠΑΥ4	15.78	18.83	0.34	21546	18056
ΠΑΥ8	21.4	28.8	0.49	22897	17014
<i>Πληθυσμός υψηλής κατανάλωσης κατηγορίας 1-Δημητριακά</i>					
BaP	3.27	5.01	0.07	21407	13972
ΠΑΥ4	20.17	25.05	0.34	16857	13573
ΠΑΥ8	28.79	40.35	0.49	17020	12144
<i>Πληθυσμός υψηλής κατανάλωσης κατηγορίας 9-Ψάρια και θαλασσινά</i>					
BaP	8.35	10.25	0.07	9211	8000
ΠΑΥ4	65.39	71.23	0.34	5574	5230
ΠΑΥ8	82.11	96.50	0.49	6558	5799

Οι τιμές MOE που πλησιάζουν ή είναι μικρότερες από 10,000, έχουν οριστεί ως τιμές που υποδηλώνουν ανησυχία για την ανθρώπινη υγεία.

Οι τιμές των MOE που προέκυψαν για τα αποτελέσματα της lower και upper έκθεσης με τη μέθοδο DDS ήταν σχεδόν δεκαπλάσιες από εκείνες που θα υποδήλωναν ανησυχία για την ανθρώπινη υγεία. Οι τιμές των MOE για την έκθεση του γενικού πληθυσμού σε ΠΑΥ, που υπολογίσθηκε με βάση τα δεδομένα κατανάλωσης, ήταν σαφώς μικρότερες, χωρίς ωστόσο να πλησιάζουν την τιμή 10.000, άρα και σε αυτή φαίνεται πως δεν αποτελούν μείζον πρόβλημα. Ομοίως και οι τιμές MOE που αφορούν την lower bound έκθεση του πληθυσμού υψηλής κατανάλωσης της κατηγορίας -Δημητριακά-. Για τον συγκεκριμένο πληθυσμό, οι τιμές MOE που προκύπτουν από την upper bound έκθεση είναι και εκείνες μεγαλύτερες του 10.000, ωστόσο πλησιάζουν σημαντικά την τιμή αυτή, δημιουργώντας πιθανή ανησυχία για την έκθεση που προκύπτει από την υψηλή κατανάλωση της συγκεκριμένης ομάδας τροφίμων.

Στον αντίποδα, φαίνεται πως ο πληθυσμός υψηλής κατανάλωσης της κατηγορίας 9-Ψάρια και θαλασσινά-, ξεπερνά τα περιθώρια ασφαλούς έκθεσης. Οι τιμές των MOE που προέκυψαν ήταν χαμηλότερες του 10.000, και στην περίπτωση του βενζο[α]πυρενίου αλλά και των αθροισμάτων ΠΑΥ, κάτι που καταδεικνύει τον κίνδυνο για την υγεία των συγκεκριμένων καταναλωτών. Ωστόσο, όπως αναφέρθηκε προηγουμένως υπάρχει σημαντική υπερεκτίμηση και σχετική αβεβαιότητα στα αποτελέσματα που προέκυψαν με αυτή τη μέθοδο, και ειδικότερα για τη συγκεκριμένη κατηγορία πληθυσμού, συνεπώς θα πρέπει να πρέπει να εξετάζονται με επιφύλαξη.

Σύμφωνα με τις υπάρχουσες συστάσεις, στα πλαίσια της διαχείρισης κινδύνου που προκύπτει από την πιθανή έκθεση, η διατροφική πρόσληψη σε ΠΑΥ θα πρέπει να περιορίζεται σε όσο το δυνατό χαμηλότερα εφικτά επίπεδα, με βάση την αρχή ALARA (As Low As Reasonable Achievable).

8.7 Σύγκριση των επιπέδων έκθεσης του Ελληνικού πληθυσμού σε ΠΑΥ με εκείνα άλλων χωρών

Η επιτυχής και αξιόπιστη σύγκριση της διατροφικής πρόσληψης και έκθεσης σε ρύπους μεταξύ των χωρών παρουσιάζει αρκετές δυσκολίες. Μεταξύ των παραγόντων που καθιστούν τη σύγκριση δύσκολη είναι οι διαφορές:

- Στο δείγμα του πληθυσμού που εξετάζεται
- Στη μέθοδο διατροφικής αξιολόγησης που επιλέγεται
- Στο σχεδιασμό της δειγματοληψίας
- Στο χρονικό διάστημα συλλογής των δεδομένων
- Στην αναλυτική μέθοδο που χρησιμοποιείται
- Στα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης
- Στις ενώσεις τις οποίες προσδιορίζονται
- Στους υπολογισμούς που διενεργούνται
- Στον τρόπο έκφρασης των αποτελεσμάτων

Λαμβάνοντας υπόψη όλα αυτά, είναι προφανές ότι μια συγκριτική αποτίμηση των επιπέδων έκθεσης μεταξύ των χωρών πρέπει να εξετάζεται και να αξιολογείται με προσοχή.

Υπάρχουν αρκετές μελέτες, που έχουν διενεργηθεί παγκοσμίως, για τα επίπεδα των ΠΑΥ σε διάφορες κατηγορίες τροφίμων. Ωστόσο, οι περισσότερες από αυτές εκτιμούν τη διατροφική επιβάρυνση από μεμονωμένες ομάδες τροφίμων και όχι από το σύνολο της διατροφής. Δημοσιευμένες μελέτες για τα επίπεδα των ΠΑΥ σε τρόφιμα και εκτίμηση της πρόσληψής τους παρουσιάζονται στον Πίνακα 31.

Πίνακας 31: Δημοσιευμένες μελέτες για την διατροφική πρόσληψη ΠΑΥ σε διάφορες χώρες

Χώρα- Έτος	Μέθοδος διατροφικής αξιολόγησης	ΠΑΥ	Αναλυτική τεχνική	Μέση ημερήσια πρόσληψη / έκθεση	Αναφορά
Καταλονία-Ισπανία, 2003	Ανάλυση τροφίμων + δεδομένα κατανάλωσης	16 ΕΡΑ ΠΑΥ	HPLC	Ενήλικοι άντρες: 8,4 $\mu\text{g ημ}^{-1}$ Ενήλικες γυναίκες: 6,3 $\mu\text{g ημ}^{-1}$ Έφηβοι: 8,2 $\mu\text{g ημ}^{-1}$ Παιδιά: 7,4 $\mu\text{g ημ}^{-1}$ Ηλικιωμένοι: 6,3 $\mu\text{g ημ}^{-1}$	198
Καταλονία-Ισπανία, 2008	Ανάλυση τροφίμων + δεδομένα κατανάλωσης	16 ΕΡΑ ΠΑΥ	GC-MS	Ενήλικες : 8,23 και 12,04 $\mu\text{g ημ}^{-1}$ Έφηβοι: 10,16 και 13,83 $\mu\text{g ημ}^{-1}$ Παιδιά: 10,05 και 11,18 $\mu\text{g ημ}^{-1}$ Ηλικιωμένοι: 6,89 και 9,19 $\mu\text{g ημ}^{-1}$ (τιμές για γυναίκες και άντρες αντιστοίχως)	199
Καταλονία-Ισπανία, 2010	Ανάλυση τροφίμων + δεδομένα κατανάλωσης	16 ΕΡΑ ΠΑΥ	HRGC-HRMS	Ενήλικες : 3,92 και 6,70 $\mu\text{g ημ}^{-1}$ Έφηβοι: 5,60 και 8,28 $\mu\text{g ημ}^{-1}$ Παιδιά: 5,44 και 6,05 $\mu\text{g ημ}^{-1}$ Ηλικιωμένοι: 2,68 και 3,56 $\mu\text{g ημ}^{-1}$ (τιμές για γυναίκες και άντρες αντιστοίχως)	200
Καταλονία-Ισπανία, 2012	Μέθοδος εις διπλούν διαίτας	16 ΕΡΑ ΠΑΥ	GC-MS	Ενήλικες άντρες: 59,2 $\mu\text{g ημ}^{-1}$	155
Ολλανδία, 1989	Ολική διατροφική μελέτη	17 ΠΑΥ	HPLC	Ενήλικες άντρες: 5 $\mu\text{g ημ}^{-1}$ (κατώτερη πρόσληψη) και 17 $\mu\text{g ημ}^{-1}$ (ανώτερη πρόσληψη)	201
Ηνωμένο Βασίλειο, 1991	Ανάλυση τροφίμων + δεδομένα	12 ΠΑΥ	HPLC	Ενήλικες: 3.70 $\mu\text{g ημ}^{-1}$	202

	κατανάλωσης				
Γαλλία, 2013	Ολική διατροφική μελέτη	15+1 Ε.Ε. ΠΑΥ σε τρόφιμα, 4 ΠΑΥ για διατροφική πρόσληψη	GC-MS/MS	Έκθεση ενηλίκων σε ΠΑΥ4: 1,48 ng kg ⁻¹ σ.β. ημ ⁻¹ Έκθεση παιδιών σε ΠΑΥ4: 2,26 ng kg ⁻¹ σ.β. ημ ⁻¹	157
Σουηδία, 2014	Ανάλυση τροφίμων + δεδομένα κατανάλωσης	4 ΠΑΥ	GC-MS	Μέση πρόσληψη BaP ενηλίκων: 0,05 μg ημ ⁻¹ Μέση πρόσληψη ΠΑΥ4 ενηλίκων: 0,28 μg ημ ⁻¹	158
Ιταλία, 1994	Ανάλυση τροφίμων + δεδομένα κατανάλωσης	9 ΠΑΥ	HPLC	Ενήλικες: 3 μg ημ ⁻¹	203
Νάπολη- Ιταλία, 2010	Διατροφικό ημερολόγιο συχνότητας και μέθοδος εις διπλούν δίαιτας	16 ΕΡΑ ΠΑΥ σε τρόφιμα, BaP, ΠΑΥ2, ΠΑΥ4, ΠΑΥ8 για διατροφική πρόσληψη	HPLC	Διάμεσες τιμές έκθεσης παιδιών 7-9 ετών: BaP 5 ng kg ⁻¹ σ.β. ημ ⁻¹ ΠΑΥ2 10 ng kg ⁻¹ σ.β. ημ ⁻¹ ΠΑΥ4 28 ng kg ⁻¹ σ.β. ημ ⁻¹ ΠΑΥ8 54 ng kg ⁻¹ σ.β. ημ ⁻¹	204
Τσέχικη Δημοκρατία, 2020	Μέθοδος εις διπλούν δίαιτας	20 ΠΑΥ	GC-MS	Έκθεση εγγύων γυναικών σε 20 ΠΑΥ: 110 και 180 ng kg ⁻¹ σ.β. ημ ⁻¹ 4 ΠΑΥ: 4,44 και 7,81 ng kg ⁻¹ σ.β. ημ ⁻¹	156
Κορέα, 2007	Ανάλυση τροφίμων + δεδομένα κατανάλωσης	BaP	HPLC	Ενήλικες: 12,45 μg ημ ⁻¹	205
Ταϊγιουάν- Κίνα, 2010	Ανάλυση τροφίμων + δεδομένα κατανάλωσης	16 ΕΡΑ ΠΑΥ	GC-MS	Χρήση TEF για υπολογισμούς πρόσληψης Διάμεσες τιμές ισοδύναμων του BaP Ενήλικες : 49 και 57,1 μg ημ ⁻¹ Έφηβοι: 44 και 51,1 μg ημ ⁻¹	206

				Παιδιά: 35,5 και 39,2 $\mu\text{g ημ}^{-1}$ Ηλικιωμένοι: 44,5 και 53,2 $\mu\text{g ημ}^{-1}$ (τιμές για γυναίκες και άντρες αντιστοίχως)	
Ταϊγιουάν- Κίνα, 2014	Μέθοδος εις διπλούν διαίτας - 24h	16 ΕΡΑ ΠΑΥ	GC-MS	Χρήση TEF για υπολογισμούς πρόσληψης Διάμεσες τιμές ισοδύναμων του BaP Ενήλικες άντρες : 50,39 $\mu\text{g ημ}^{-1}$ Ενήλικες γυναίκες : 91,82 $\mu\text{g ημ}^{-1}$	207
Πεκίνο- Κίνα, 2015	Ανάλυση τροφίμων + δεδομένα κατανάλωσης	16 ΕΡΑ ΠΑΥ	GC-MS	Χρήση TEF για υπολογισμούς πρόσληψης 8 ηλικιακά γκρουπς: 241 - 574 ng kg^{-1} σ.β. $\eta\mu^{-1}$	208
Ουάσινγκτον- ΗΠΑ, 2001	Διατροφικό ημερολόγιο συχνότητας + ανάλυση τροφίμων + δεδομένα κατανάλωσης	BaP	HPLC	31% ενηλίκων: 0,04 - 0,06 $\mu\text{g ημ}^{-1}$ 27% ενηλίκων: 0,061 - 0,18 $\mu\text{g ημ}^{-1}$	209

Τα δεδομένα από τις έρευνες που έχουν δημοσιευτεί δείχνουν ότι στο προφίλ κατανομής των ΠΑΥ στα τρόφιμα, οι μικρού μοριακού βάρους ενώσεις είναι εκείνες που κυριαρχούν, όπως φάνηκε και στα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης. Μεγαλύτερη συμβολή στη συνολική επιβάρυνση έχουν τα δημητριακά, λόγω αυξημένης κατανάλωσης, τα ψάρια και θαλασσινά, λόγω περιβαλλοντικής επιβάρυνσης καθώς και ορισμένα λίπη και έλαια, λόγω θερμικής επεξεργασίας. Αρκετές είναι και οι μελέτες που παρουσίασαν αποτελέσματα υψηλών συγκεντρώσεων σε καπνιστά τρόφιμα, όπως τυριά¹⁰³ και ψάρια²¹⁰, καθώς και σε κρέατα ψημένα στα κάρβουνα, ωστόσο η συμβολή τους στο συνολικό προφίλ επιβάρυνσης δεν είναι μεγάλη, λόγω μη συστηματικής κατανάλωσης.

Συγκρίνοντας αρχικά τα αποτελέσματα της μεθόδου υπολογισμού βάσει των δεδομένων κατανάλωσης της παρούσας μελέτης με τα αντίστοιχα δεδομένα της EFSA, σχετικά με την έκθεση του ευρωπαϊκού πληθυσμού, βρέθηκαν σε παρόμοια επίπεδα. Η μέση ανώτερη τιμή έκθεσης βρέθηκε για τους 8 ΠΑΥ στα 28,8 ng kg⁻¹ σ.β. ημ⁻¹, για τους 4 ΠΑΥ τα 18,83 ng kg⁻¹ σ.β. ημ⁻¹ και για το βενζο[α]πυρένιο στα 3,51 ng kg⁻¹ σ.β. ημ⁻¹, ενώ οι αντίστοιχες τιμές της EFSA, για τη διάμεση τιμή της μέσης έκθεσης μεταξύ των Ευρωπαϊκών χωρών ήταν τα 28,8, 19,5 και 3,9 ng kg⁻¹ σ.β. ημ⁻¹. Ωστόσο, υπάρχει υπερκτίμηση στα αποτελέσματα αυτής της μεθόδου, αλλά και σε εκείνων της EFSA, επομένως τα δεδομένα παρατίθενται και συγκρίνονται με επιφύλαξη.

Η μέση ανώτερη διατροφική πρόσληψη με βάσει τη μέθοδο DDS υπολογίστηκε ως εξής:

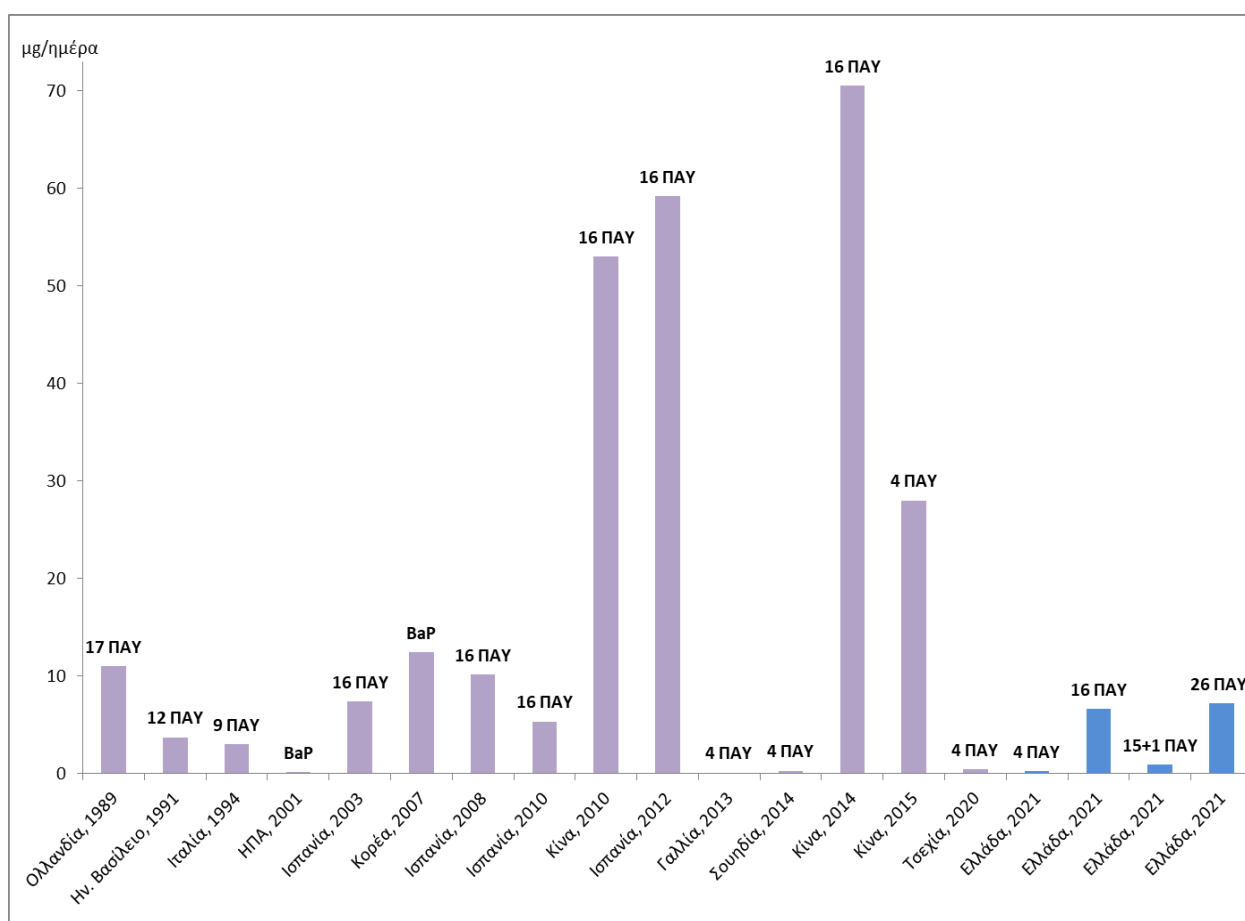
$\Sigma_{26\text{ΠΑΥ}} = 7,16 \mu\text{g } \eta\mu^{-1}$, $\Sigma_{16\text{ΠΑΥ}} = 6,60 \mu\text{g } \eta\mu^{-1}$, $\Sigma_{15+1\text{ΠΑΥ}} = 0,88 \mu\text{g } \eta\mu^{-1}$, $\Sigma_{8\text{ΠΑΥ}} = 0,40 \mu\text{g } \eta\mu^{-1}$, $\Sigma_{4\text{ΠΑΥ}} = 0,25 \mu\text{g } \eta\mu^{-1}$ και βενζο[α]πυρένιο = 0,05 μg ημ⁻¹,

ενώ η αντίστοιχη μέση ανώτερη διατροφική έκθεση:

$\Sigma_{26\text{ΠΑΥ}} = 101,47 \text{ ng kg}^{-1} \text{ σ.β. } \eta\mu^{-1}$, $\Sigma_{16\text{ΠΑΥ}} = 93,53 \text{ ng kg}^{-1} \text{ σ.β. } \eta\mu^{-1}$, $\Sigma_{15+1\text{ΠΑΥ}} = 12,47 \text{ ng kg}^{-1} \text{ σ.β. } \eta\mu^{-1}$, $\Sigma_{8\text{ΠΑΥ}} = 5,59 \text{ ng kg}^{-1} \text{ σ.β. } \eta\mu^{-1}$, $\Sigma_{4\text{ΠΑΥ}} = 3,46 \text{ ng kg}^{-1} \text{ σ.β. } \eta\mu^{-1}$ και βενζο[α]πυρένιο = 0,63 ng kg⁻¹ σ.β. ημ⁻¹.

Συγκρίνοντας αυτές τις τιμές, με τα δεδομένα του Πίνακα 28, για τη **διατροφική έκθεση σε ΠΑΥ**, παρατηρούμε πως η μέση ανώτερη έκθεση που

εκτιμήθηκε για τον **ενήλικο ελληνικό πληθυσμό** ήταν **χαμηλότερη** από τις αντίστοιχες **άλλων χωρών**, πέρα από εκείνη που προσδιορίστηκε για τον πληθυσμό της Γαλλίας¹⁵⁷, η οποία ήταν ακόμη χαμηλότερη, και της Σουηδίας¹⁵⁸, η οποία ήταν σχεδόν ίση. Στο Σχήμα 21 απεικονίζεται η πρόσληψη που υπολογίσθηκε σε κάθε μελέτη για τις διάφορες χώρες, καθώς και ο αριθμός των ΠΑΥ που προσδιορίστηκαν. Σε όσες μελέτες τα αποτελέσματα δόθηκαν σε ng kg^{-1} σ.β. ημ^{-1} , θεωρήθηκε ως μέσο βάρος ενηλίκων τα 70 kg για τη μετατροπή σε μg ημ^{-1} . Εξαιρέθηκε η μελέτη των Cirillo et al. (2010), μιας και αναφέρεται σε πρόσληψη από παιδιά ηλικίας 7-9 ετών²⁰⁴.



Σχήμα 21: Συγκριτικά επίπεδα διατροφικής πρόσληψης ΠΑΥ ενηλίκων ανά χώρα

Οι τιμές της πρόσληψης/έκθεσης που προέκυψαν από τη μέθοδο DDS της παρούσας μελέτης, ήταν εμφανώς χαμηλότερες αλλά παρόμοιες με εκείνες που έχουν προκύψει από τις συστηματικές μελέτες για τη διατροφική έκθεση του πληθυσμού της Καταλονίας^{198,199,200}. Ωστόσο, διαφοροποίηση

παρατηρήθηκε με τα αποτελέσματα των Martorell et al. (2012)¹⁵⁵, οι οποίοι εκτίμησαν την έκθεση του πληθυσμού της Καταλονίας, με τη μέθοδο της εις διπλούν δίαιτας, σε αρκετά υψηλότερα επίπεδα της τάξεως των $\Sigma_{16\text{PAHY}} = 59,2 \text{ } \mu\text{g } \eta\text{m}^{-1}$, τιμή σχεδόν 9 φορές μεγαλύτερη από τα $6,60 \text{ } \mu\text{g } \eta\text{m}^{-1}$ που βρέθηκαν σε αυτή τη μελέτη. Για τις υπόλοιπες ευρωπαϊκές χώρες, Ιταλία, Ολλανδία, Ηνωμένο Βασίλειο, Τσεχία, η διατροφική έκθεση έχει εκτιμηθεί υψηλότερη από της Ελλάδας. Στη μελέτη από την Τσεχία, για την έκθεση έγγυων γυναικών, χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της εις διπλούν δίαιτας, η οποία αν και έδειξε υψηλότερα αποτελέσματα έκθεσης, ήταν συγκρίσιμα με αυτά της παρούσας μελέτης. Η σύγκριση με τα δεδομένα έκθεσης του Κινέζικου πληθυσμού δεν είναι αξιόπιστη, μιας και στις μελέτες που έχουν διεξαχθεί στη συγκεκριμένη χώρα, γίνεται χρήση ισοδύναμων TEF για την εκτίμηση της διατροφικής έκθεσης, κάτι το οποίο δεν εφαρμόζεται στην Ευρώπη. Παρόλα αυτά, φαίνεται να κυμαίνεται σε αρκετά υψηλότερη επίπεδα, συγκριτικά με τα ελληνικά δεδομένα. Τέλος, η πρόσληψη του βενζο[a]πυρενίου από δείγμα του πληθυσμού της Ουάσινγκτον στις ΗΠΑ, ήταν σε παρόμοια επίπεδα με του ελληνικού πληθυσμού.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ

Η παρούσα διδακτορική διατριβή αποτελεί μέρος μιας γενικότερης ερευνητικής δραστηριότητας, που αποσκοπεί στη συσχέτιση της περιβαλλοντικής ρύπανσης με τα επίπεδα των ανθεκτικών ρύπων στα τρόφιμα και τις επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία. Στο πλαίσιο αυτό, πραγματοποιήθηκε η ανάπτυξη και εφαρμογή κατάλληλων μεθόδων εκτίμησης διατροφικής πρόσληψης καθώς και αναλυτικών μεθόδων για τον προσδιορισμό των επιπέδων 26 ΠΑΥ σε τρόφιμα που καταναλώνονται από τον γενικό ελληνικό πληθυσμό, ώστε να εκτιμηθεί η πρόσληψή τους μέσω της διατροφής και να αξιολογηθεί ο πιθανός κίνδυνος της έκθεσης σε αυτούς.

9.1 Ανάπτυξη μεθόδου για τον ποσοτικό προσδιορισμό των ΠΑΥ

Για την ανάπτυξη της κατάλληλης ευαίσθητης μεθόδου προσδιορισμού των 26 ΠΑΥ σε δείγματα τροφίμων, δοκιμάσθηκαν διάφορα πρωτόκολλα εργασίας και παράμετροι των τεχνικών ανάλυσης. Το συνηθισμένο στάδιο της σαπωνοποίησης που πραγματοποιείται σε αρκετά πρωτόκολλα εργασίας και σε αναλύσεις ρουτίνας, φάνηκε να καταστρέφει ένα ποσοστό των ΠΑΥ, με αποτέλεσμα τις χαμηλές ανακτήσεις αυτών. Έτσι, αναπτύχθηκαν άλλες μέθοδοι εκχύλισης και καθαρισμού, ανάλογα με το ποσοστό λίπους των δειγμάτων και με επαρκή χρωματογραφικό καθαρισμό λόγω πολυπλοκότητας του υποστρώματος.

Όσον αφορά στην αεριοχρωματογραφική μέθοδο, ο αποτελεσματικός διαχωρισμός των κρίσιμων ισομερών ομάδων ΠΑΥ, επετεύχθη με την επιλογή της στήλης Select PAH, έναντι της κλασσικής στήλης DB-5MS, που χρησιμοποιείται ευρέως και με τη βελτιστοποίηση λοιπών παραμέτρων, όπως το θερμοκρασιακό πρόγραμμα, η ταχύτητα ροής του φέροντος αερίου κτλ. Ο επαρκής χρωματογραφικός διαχωρισμός είναι απαραίτητος για την επιτυχή εφαρμογή της νομοθεσίας.

Εξετάστηκαν τα κριτήρια ποιότητας της μεθόδου, ώστε να θεωρηθεί αξιόπιστη, εξειδικευμένα και κατάλληλη για τη μέτρηση συγκεντρώσεων στο υπόβαθρο, ενώ για την επικύρωση της μεθόδου πραγματοποιήθηκαν

αναλύσεις σε δείγματα διεργαστηριακών δοκιμών με γνωστές τιμές στόχους. Λαμβάνοντας υπόψη τόσο τα ποιοτικά χαρακτηριστικά της μεθόδου, όπως τα χαμηλά LOD και LOQ, τις υψηλές ανακτήσεις, αλλά και άλλες παραμέτρους, όπως ο χρόνος και η ευκολία εκτέλεσης του αναλυτικού πρωτοκόλλου, συγκριτικά με τις κλασσικές μεθόδους προκατεργασίας ΠΑΥ στα τρόφιμα, η αναλυτική μέθοδος που αναπτύχθηκε θεωρείται κατάλληλη για αναλύσεις ρουτίνας καθώς και για τη συστηματική παρακολούθηση των επιπέδων των ΠΑΥ στα τρόφιμα.

9.2 Επίπεδα ΠΑΥ στα μύδια

Η μέθοδος που αναπτύχθηκε εφαρμόστηκε για τον προσδιορισμό των επιπέδων των ΠΑΥ σε 51 δείγματα μυδιών συλλεγμένα από υδατοκαλλιέργειες που βρίσκονται στην Περιφέρεια Κεντρικής Μακεδονίας και συγκεκριμένα στο Θερμαϊκό και Στρυμονικό κόλπο, σε τρεις δειγματοληπτικές περιόδους κατά το διάστημα 2018- 2019. Τα μύδια επιλέχθηκαν σαν «δείκτες» ρύπανσης του υδάτινου οικοσυστήματος.

Ανιχνεύθηκαν ΠΑΥ σε όλα τα δείγματα μυδιών, με τους ΠΑΥ μικρού μοριακού βάρους, όπως το φλουορένιο, το φλουορανθένιο, το πυρένιο και το φαινανθρένιο να είναι οι κυρίαρχοι σε όλα τα δείγματα. Οι συγκεντρώσεις των $\Sigma_{26}\text{ΠΑΥ}$ στα μύδια κυμαίνονταν από 1,37 έως 25,59 $\mu\text{g kg}^{-1}$ v.β. Κανένα από τα 51 δείγματα που αναλύθηκαν δεν υπερέβη το θεσμοθετημένο όριο της Ε.Ε. για τα επίπεδα των ΠΑΥ στα δίθυρα μαλάκια. Παρατηρήθηκε εποχιακή διακύμανση των τιμών των συγκεντρώσεων, με τα μύδια από τη χειμερινή περίοδο δειγματοληψίας να έχουν τα υψηλότερα επίπεδα συγκέντρωσης για το άθροισμα των 26 ΠΑΥ, γεγονός που φαίνεται να οφείλεται στα διαφορετικά στάδια του κύκλου ζωής των δίθυρων μαλακίων, καθώς και σε εποχιακές διακυμάνσεις βιοτικών και αβιοτικών παραγόντων που σχετίζονται με τους μηχανισμούς μεταβολισμού των ΠΑΥ. Δεν παρατηρήθηκε σημαντική χωρική διακύμανση στα μέσα επίπεδα των συγκεντρώσεων των ΠΑΥ μεταξύ των τριών τοποθεσιών δειγματοληψίας, ενώ οι μοριακοί διαγνωστικοί λόγοι που εφαρμόστηκαν για την πιθανή αναγνώριση της προέλευσης των ΠΑΥ, έδειξαν τόσο πηγές πετροχημικής όσο και πυρολυτικής προέλευσης. Οι τιμές

συγκεντρώσεων που ανιχνεύθηκαν στην παρούσα εργασία είναι χαμηλότερες και από εκείνες που έχουν δημοσιευθεί για τα μύδια άλλων Μεσογειακών χωρών.

9.3 Διατροφική έκθεση του γενικού πληθυσμού σε ΠΑΥ και εκτίμηση κινδύνου

Στη παρούσα μελέτη, πραγματοποιήθηκε για πρώτη φορά εκτίμηση της διατροφικής πρόσληψης των 15+1 ΠΑΥ που έχουν χαρακτηριστεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση και την EFSA ως μεταλλαξιογόνοι/γονιδοτοξικοί και καρκινογόνοι, των 16 ΠΑΥ που έχουν χαρακτηριστεί ως ρύποι προτεραιότητας από την EPA για τον γενικό πληθυσμό, καθώς και του βενζο[ε]πυρενίου και του περυλενίου.

Η μελέτη πραγματοποιήθηκε με τη συμμετοχή 30 εθελοντών, κατοίκων της Αττικής. Προσδιορίστηκαν τα επίπεδα των ΠΑΥ σε δείγματα γευμάτων, που συλλέχθηκαν με τη βοήθεια των συμμετεχόντων και σύμφωνα με τη μέθοδο της Εισ Διπλούν Δίαιτας (DDS), με βάση την οποία έγινε και η εκτίμηση της ημερήσιας κατά κεφαλήν πρόσληψης ΠΑΥ. Η συγκεκριμένη μέθοδος φάνηκε να πλεονεκτεί έναντι των άλλων μεθόδων, μιας και η διερεύνηση των επιπέδων των ρύπων γίνεται στο τελικό γεύμα που καταναλώνει κάποιος και λαμβάνει υπόψη την επιβάρυνση που πιθανώς να έχει από το μαγείρεμα και τεχνικές συντήρησης, που στην περίπτωση των ΠΑΥ φαίνεται να παίζουν σημαντικό ρόλο στα επίπεδά τους στο τελικό προϊόν.

Σχετικά με τα αποτελέσματα, το άθροισμα των συγκεντρώσεων και των 26 ΠΑΥ που προσδιορίστηκαν στα δείγματα είχε εύρος lower bound τιμών μεταξύ 3,84 και 14,59 $\mu\text{g kg}^{-1}$ και upper bound μεταξύ 4,43 και 15,11 $\mu\text{g kg}^{-1}$, ενώ, σε κανένα από τα 30 διατροφικά δείγματα που αναλύθηκαν η συγκέντρωση του βενζο[α]πυρενίου και το άθροισμα των συγκεντρώσεων των 4 ΠΑΥ, δεν ξεπέρασαν τα μέγιστα επιτρεπτά επίπεδα παρουσίας που έχουν θεσπιστεί για οποιαδήποτε κατηγορία τροφίμων δεν ξεπέρασε τα μέγιστα επιτρεπτά επίπεδα παρουσίας τους. Αν και σε όλα τα δείγματα, η παρουσία των ΠΑΥ με 2 και 3 δακτυλίους ήταν η μεγαλύτερη, φάνηκε πως το προφίλ συγκεντρώσεων ΠΑΥ σχετίζεται άμεσα με το είδος της διατροφής.

Η ημερήσια διατροφική πρόσληψη υπολογίστηκε από τον πολλαπλασιασμό των συγκεντρώσεων των ΠΑΥ με τη μέση ημερήσια κατανάλωση τροφής, η οποία καταγράφηκε από τους συμμετέχοντες στα διατροφικά τους ημερολόγια, καθώς και την αντίστοιχη πρόσληψη ανά κιλό σωματικού βάρους, για κάθε συμμετέχοντα. Για τον γενικό ενήλικο πληθυσμό στην Ελλάδα, η μέση ανώτερη ημερήσια πρόσληψη 26 ΠΑΥ υπολογίστηκε στα $7,16 \mu\text{g} \eta\text{m}^{-1}$ και η έκθεση στα $101,47 \text{ ng kg}^{-1} \sigma.\beta. \eta\text{m}^{-1}$ και του βενζο[α]πυρενίου στα $0,05 \mu\text{g} \eta\text{m}^{-1}$ και $0,63 \text{ ng kg}^{-1} \sigma.\beta. \eta\text{m}^{-1}$ αντιστοίχως. Παρατηρήθηκε μεγάλο εύρος στη διατροφική πρόσληψη/έκθεση μεταξύ των συμμετεχόντων, η οποία οφείλεται τόσο στο είδος, όσο και στην ποσότητα της τροφής η οποία καταναλώνεται. Η ημερήσια έκθεση για τις γυναίκες ήταν χαμηλότερη από αυτήν των συμμετεχόντων ανδρών.

Παράλληλα, υπολογίστηκε η διατροφική έκθεση με βάση τα διατροφικά δεδομένα κατανάλωσης για τη χώρα μας και τις συγκεντρώσεις της Έκθεσης της EFSA του 2008, για τους ΠΑΥ στα τρόφιμα και τη διατροφή του ευρωπαϊκού πληθυσμού. Η ημερήσια έκθεση υπολογίστηκε από τον πολλαπλασιασμό της μέσης συγκέντρωσης των ΠΑΥ σε κάθε ομάδα τροφίμων, με την τιμή της ημερήσιας κατανάλωσης των τροφίμων. Με αυτήν την προσέγγιση, η μέση ανώτερη ημερήσια έκθεση εκτιμήθηκε στα $28,80 \text{ ng kg}^{-1} \sigma.\beta. \eta\text{m}^{-1}$ για το σύνολο των 8 ΠΑΥ και στα $3,51 \text{ ng kg}^{-1} \sigma.\beta. \eta\text{m}^{-1}$ για το βενζο[α]πυρενίο, αν και υπάρχει πιθανότητα υπερεκτίμηση στο αποτέλεσμα της συγκεκριμένης μεθόδου.

Ωστόσο, και με τις δύο προσεγγίσεις, τα περιθώρια ασφαλούς έκθεσης (MOE) που υπολογίστηκαν δεν έδειξαν να υπάρχει κίνδυνος και ανησυχία για τη διατροφική έκθεση σε ΠΑΥ, για τον γενικό πληθυσμό.

Η διατροφική έκθεση του γενικού πληθυσμού ενηλίκων στην Ελλάδα σε ΠΑΥ ήταν στις περισσότερες περιπτώσεις μικρότερη από τις αντίστοιχες άλλων χωρών, γεγονός που αποδίδεται τόσο στη χαμηλή περιβαλλοντική ρύπανση, λόγω έλειψης εκτεταμένης βιομηχανικής δραστηριότητας ή πρακτικών που επιβαρύνουν σημαντικά το περιβάλλον με ΠΑΥ συγκριτικά με εκείνες άλλων χωρών, όσο και στις πρακτικές μαγειρέματος και συντήρησης που επιλέγονται, οι οποίες φαίνεται πως δεν επιβαρύνουν τόσο το τελικό προϊόν.

Επιπρόσθετα, η βελτιστοποιημένη αναλυτική τεχνική MS/MS που χρησιμοποιήθηκε, επέτρεψε την ακριβέστερη ποσοστικοποίηση των ΠΑΥ και ένα πιο έγκυρη εκτίμηση, συγκριτικά με τις μεθόδους HPLC και την MS, που έχουν εφαρμοστεί για τη διατροφική αξιολόγηση άλλων χωρών, οι οποίες ενδεχομένως να έχουν οδηγήσει σε λανθασμένους συνυπολογισμούς, λόγω αυξημένου θορύβου του υποβάθρου.

9.4 Μελλοντικοί στόχοι- προτάσεις

Η εκτίμηση της έκθεσης σε περιβαλλοντικούς ρύπους μέσω της διατροφής είναι ένα σημαντικό εργαλείο στο πλαίσιο της βιοπαρακολούθησης και της επιδημιολογικής έρευνας. Οι κατάλληλες αναλυτικές μέθοδοι σε συνδυασμό με αξιόπιστες μεθόδους εκτίμησης της πρόσληψης, μπορούν να δώσουν σαφή εικόνα για τα επίπεδα όχι μόνο μιας ομάδας χημικών ρύπων, αλλά ενός συνόλου ρύπων και τα δεδομένα αυτά να συνδυαστούν με δεδομένα συγκεντρώσεων των ενώσεων αυτών και των μεταβολιτών τους σε βιολογικά δείγματα, ώστε η παρουσία τους να συσχετιστεί με την κατάσταση της υγείας. Στις κλασσικές αυτές ερευνητικές προσεγγίσεις, φαίνεται πως τα ανερχόμενα υπολογιστικά πακέτα και μοντέλα και οι μετρήσεις μεταβολομικής θα παίξουν καθοριστικό ρόλο τα επόμενα χρόνια. Κάποιες σκέψεις-προτάσεις για το μέλλον θα μπορούσαν να είναι:

- Εκτίμηση της πρόσληψης/έκθεσης ΠΑΥ στη διατροφή περισσότερων συμμετεχόντων, ώστε να ληφθούν υπόψη τυχόν φαινόμενα εποχικότητας, ηλικιακές συνήθειες διατροφής κ.α.
- Σύγκριση των αποτελεσμάτων της παρούσας μελέτης με δεδομένα που θα προκύψουν από μια Ολική Διατροφική Μελέτη
- Συσχέτιση των επιπέδων ΠΑΥ στα τρόφιμα με εκείνα στο αίμα και τα βιολογικά υγρά του ελληνικού πληθυσμού, καθώς και των μεταβολιτών τους, για την ολοκληρωμένη μελέτη του exposome
- Διερεύνηση των επιπέδων και άλλων ρύπων στη διατροφή, όπως διοξίνες, βαρέα μέταλλα κτλ., με την εφαρμογή της μεθόδου DDS, για

μια πιο ολοκληρωμένη παρακολούθηση της συνεργιστικής δράσης που ενδέχεται να έχει το σύνολο των χημικών ρύπων

- Χρήση νέων τεχνολογιών και εργαλείων, με μεγαλύτερη ακρίβεια και δυνατότητες αξιολόγησης του κινδύνου που επιφέρει η παρουσία των χημικών ρύπων σε όλα τα στάδια της ζωής του ανθρώπου
- Θέσπιση από τους φορείς ημερήσιας ή εβδομαδιαίας ανεκτής πρόσληψης ΠΑΥ, για την προάσπιση της δημόσιας υγείας.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΟΡΟΛΟΓΙΑΣ

Πίνακας 32: Πίνακας ορολογίας με τις αντιστοιχίσεις των ελληνικών και ξενόγλωσσων όρων

Ξενόγλωσσος όρος	Ελληνικός Όρος
Polycyclic Aromatic Hydrocarbons	Πολυκυκλικοί Αρωματικοί Υδρογονάνθρακες
Persistent Organic Pollutants	Ανθεκτικοί Οργανικοί Ρύποι
World Health Organization	Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας
United Nations	Ηνωμένα Έθνη
International Program on chemical safety	Διεθνές Πρόγραμμα για τη Χημική Ασφάλεια
Joint FAO-WHO Expert Committee Report on Food Additives	Μικτή Επιτροπή Εμπειρογνομόνων FAO/WHO για τα Πρόσθετα των Τροφίμων
International Agency on Research in Cancer	Διεθνής Υπηρεσία για την Έρευνα του Καρκίνου
Europe Union	Ευρωπαϊκή Ένωση
European Food Safety Authority	Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων
Scientific Committee on Food	Επιστημονικής Επιτροπής για τα Τρόφιμα
Environmental Protection Agency	Αμερικανική Υπηρεσία Προστασίας του Περιβάλλοντος
Agency for Toxic Substances and Disease Registry	Υπηρεσία για τις Τοξικές Ουσίες του αμερικανικού Υπουργείου Υγείας
Association of Official Analytical Chemists	Ένωσης των Επίσημων Αναλυτικών Χημικών
International Organization for Standardization	Διεθνής Οργανισμός Τυποποίησης
Daily/ Weekly Intake	Ημερήσια/ Εβδομαδιαία Πρόσληψη
Food Frequency Questionnaire	Ημιποσοτικό διατροφικό ερωτηματολόγιο συχνότητας
Total Diet Study	Ολική διατροφική μελέτη
Duplicate Diet Study	Μέθοδος εις διπλούν διαίτας
Gas Chromatography	Αέρια Χρωματογραφία
Tandem Mass Spectrometry	Φασματομετρία Μάζας σε σειρά
High Resolution Mass Spectrometry	Φασματομετρία Μάζας Υψηλής Διαχωριστικής Ικανότητας
Exposome	Εκθεσίωμα
Matrix	Μήτρα
Background	Υπόβαθρο
Splitless injector	Εισαγωγέας μη διαμοιρασμού
Selected Reaction Monitoring	Τεχνική παρακολούθησης επιλεγμένων αντιδράσεων
Multiple Ion Detection	Μέθοδος πολλαπλής ανίχνευσης ιόντων
Ion ratio	Λόγος ιόντων
Low Molecular Weight/ High Molecular Weight PAHs	ΠΑΥ Μικρού Μοριακού Βάρους/ Μεγάλου Μοριακού Βάρους
Margins of Exposure	Περιθώρια ασφαλούς έκθεσης

ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ – ΑΡΚΤΙΚΟΛΕΞΑ – ΑΚΡΩΝΥΜΙΑ

Ακρωνύμια και ανάπτυξή τους

ΕΚΠΑ	Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών
ΕΚΕΦΕ Δημόκριτος	Εθνικό Κέντρο Έρευνας Φυσικών Επιστημών Δημόκριτος
ΕΦΑΜΑΔ	Εργαστήριο Φασματομετρίας Μάζας και Ανάλυσης Διοξινών
ΕΕ	Ευρωπαϊκή Ένωση
PAHs	Polycyclic Aromatic Hydrocarbons
POPs	Persistent Organic Pollutants
WHO	World Health Organization
UN	United Nations
IPCS	International Program on chemical safety
JECFA	Joint FAO-WHO Expert Committee Report on Food Additives
IARC	International Agency on Research in Cancer
EU	Europe Union
EFSA	European Food Safety Authority
SCF	Scientific Committee on Food
EPA	Environmental Protection Agency
ARSDR	Agency for Toxic Substances and Disease Registry
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
ISO	International Organization for Standardization
DI- WI	Daily Intake- Weekly Intake
FFQ	Food Frequency Questionnaire
DDS	Duplicate Diet Study
TDS	Total Diet Study
HRGC- HRMS	High Resolution Gas Chromatography Mass Spectrometry
HPLC-FLD	High Performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detection
SRM	Selected Reaction Monitoring
MID	Multiple Ion Detection
LMW/ HMW	Low Molecular Weight/ High Molecular Weight
ALARA	As Low As Reasonable Achievable
MOE	Margins of exposure

ΑΝΑΦΟΡΕΣ

1. Harvey, R. G., Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. Wiley- VCH, Chicago, 1997.
2. T. Wenzl, R. Simon, J. Kleiner, E. Anklam. Analytical methods for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in food and the environment needed for new food legislation in the European Union. Trends in Analytical Chemistry 2006, 25(7): 716-725.
3. H. I. Abdel- Shafy, M. S. M. Mansour. A review on polycyclic aromatic hydrocarbons: Source, environmental impact, effect on human health and remediation. Egyptian Journal of Petroleum 2016, 25(1): 107-123.
4. F. Wania, D. Mackay. Tracking the Distribution of Persistent Organic Pollutants. Environmental Science & Technology 1996, 30(9): 390-396.
5. United Nations Environment Programme, Why do persistent organic pollutants matter? <https://www.unenvironment.org/explore-topics/chemicals-waste/what-we-do/persistent-organic-pollutants/why-do-persistent-organic>.
6. United Nations Economic Commission for Europe (UNECE), European Monitoring and Evaluation Programme (EMEP), Convention on Long-Range Transboundary Air Pollution, Geneva, 1979, <http://www.unece.org/env/lrtap/welcome.html>.
7. UNECE, Protocol to the 1979 Convention on long-range transboundary air pollution on Persistent Organic Pollutants, Aarhus, 1998, <https://www.unece.org/fileadmin/DAM/env/lrtap/full%20text/1998.POPs.e.pdf>.
8. United Nations, UNEP, Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants, <http://chm.pops.int/>.
9. World Health Organization (WHO) - Regional Office for Europe. Air quality guidelines for Europe. WHO Regional Publications, Copenhagen, 1987, European Series, No. 91: 105–117.

10. H. A. Favre, W. H. Powell. Nomenclature of Organic Chemistry. IUPAC Recommendations and Preferred Name, Cambridge, UK: The Royal Society of Chemistry, 2013.
11. F. S. Ehrenhauser. PAH and IUPAC Nomenclature, Polycyclic Aromatic Compounds 2015, 35: 161–176.
12. WHO- International Agency for Research on Cancer (IARC). Some Non-heterocyclic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Some Related Exposures, IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Lyon, 2010.
13. K. Srogi. Monitoring of environmental exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons: a review. Environmental Chemical Letters 2007, 5(4): 169–195.
14. E. Clar. Polycyclic Hydrocarbons. New York, NY: Academic Press, 1964.
15. G. Portella, J. Poater, M. Sola. Assessment of Clars's aromatic π -sextet rule by means of PDI, NICS and HOMA indicators of local aromaticity. Journal of Physical Organic Chemistry 2005, 18: 785- 791.
16. U.S. National Library of Medicine, Toxicology Data Network, Hazardous Substances Data Bank, <https://toxnet.nlm.nih.gov/newtoxnet/hsdb.htm>.
17. S. M. Bamforth, I. Singleton. Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons: current knowledge and future directions. Journal of Chemical Technology and Biotechnology 2005, 80(18): 723- 736.
18. C. Chai et al. Contamination, source identification, and risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons in the soils of vegetable greenhouses in Shandong, China. Ecotoxicology and Environmental Safety 2017, 142: 181- 188.
19. Y. Zhang, S. Tao. Global atmospheric emission inventory of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) for 2004. Atmospheric Environment 2009, 43(4): 812-819.

20. A. Masih, A. Taneja. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) concentrations and related carcinogenic potencies in soil at a semi-arid region of India. *Chemosphere* 2006, 65(3): 449- 456.
21. Mastral A. M., Callen M. S. A review on polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) emissions from energy generation. *Environmental Science and Technology* 2000, 34: 3051- 3057.
22. Fernández P., Grimalt J. O., Vilanova R. M. Atmospheric gas-particle partitioning of polycyclic aromatic hydrocarbons in high mountain regions of Europe. *Environmental Science and Technology* 2002, 36: 1162- 1168.
23. Pedersen P., Ingwersen J., Nielsen T., Larsen E. Effects of fuel, lubricant, and engine operating parameters on the emission of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environmental Science and Technology* 1980, 14: 71-79.
24. Baek S. O., Field R. A., Goldstone M. E., Kirk P. W., Lester J. N., Perry R. A review of atmospheric Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Sources, Fate and Behavior Massachusetts. *Water, Air and Soil Pollution* 1991, 60: 279-300.
25. Westerholm R., Li H. A multivariate statistical analysis of fuel-related polycyclic aromatic hydrocarbon emissions from heavy-duty diesel vehicles. *Environmental Science and Technology* 1994, 28: 965- 972.
26. Tolosa, I., Bayona, J.M., Albaiges. Aliphatic and polycyclic aromatic hydrocarbons and sulfur/oxygen derivatives in Northwestern Mediterranean sediments: spatial and temporal variability fluxes and budgets. *Environmental Science and Technology* 1996, 30: 2495– 2503.
27. Budzinski H., Jones I., Bellocq J. Evaluation of sediment contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons in the Gironde estuary. *Marine Chemistry* 1997, 58(1): 85- 97.
28. Iavorivska L., Boyer E., DeWalle D. Atmospheric deposition of organic carbon via precipitation. *Atmospheric Environment* 2016, 146: 153- 163.

29. Gustafson E., Dickhut M. Particle/gas concentrations and distributions of PAHs in the atmosphere of southern Chesapeake Bay. *Environmental Science and Technology* 1997, 31: 140- 147.
30. Bomboi M., Hernandez A. Hydrocarbons in urban runoff: Their contribution to the wastewaters. *Water Research* 1991, 25(5): 557- 565.
31. Wake H. Oil refineries: a review of their ecological impacts on the aquatic environment, *Estuarine. Coastal and Shelf Science* 2005, 62: 131–140.
32. Lee D.H., Porta M., Jacobs Jr. D.R., Vandenberg L.N. Chlorinated Persistent Organic Pollutants, Obesity and Type 2 Diabetes. *Endocrine Reviews* 2014, 35: 557- 601.
33. Rockens E, Dumollin J, Matheussen C. PM10 dust and chemical characterization of aerosols in Flanders, Belgium. *Air Pollution* 2000, 8: 699– 707.
34. [ATSDR] Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological profile for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), Atlanta, GA: US Department of Health and Human Services, 1995.
35. Phillips DH. DNA adducts in human tissues: biomarkers of exposure to carcinogens in tobacco smoke. *Environmental Health Perspectives* 1996, 104 (3): 453– 8.
36. Sullivan B., Krieger R. *Clinical environmental health and toxic exposures*, 2nd ed., PA: Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2001, pp. 1241.
37. Skupinska K, Misiewicz I, Kasprzycka-Guttman T. Polycyclic aromatic hydrocarbons: physiochemical properties, environmental appearance and impact on living organisms. *Acta Poloniae Pharmaceutica* 2004, 61(3): 233– 40.
38. Thundiyil J.G., Solomon G.M., Miller M.D. Trans-generational exposures: persistent chemical pollutants in the environment and breast milk. *Pediatric Clinics of North America* 2007, 54: 81–101.

39. Jira W. A GC/MS Method for the Determination of Carcinogenic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH) in Smoked Meat Products and Liquid Smokes. *European Food Research and Technology* 2004, 218: 208– 212
40. Martena, J., Grutters M., De Groot H., Konings E., Rietjens I. Monitoring of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH) in Food Supplements Containing Botanicals and Other Ingredients on the Dutch Market. *Food Additives & Contaminants: Part A* 2011, 28: 925– 942.
41. Miller E.C. Some current perspectives on chemical carcinogenesis in human and experimental animals: presidential address. *Cancer Research* 1978, 38: 1479- 1496.
42. Storer J.S., DeLeon I., Millikan L.E., et al. Human absorption of crude coal tar products. *Archives of Dermatology* 1984, 120: 874-877.
43. Grimmer G., Jacob J., Schmoldt A., Metabolism of benz(a)anthracene in hamster lung cells in culture in comparison to rat liver microsomes., In: Cooke M, Dennis AJ, eds. *Polynuclear aromatic hydrocarbons: Mechanisms, methods and metabolism*. OH: Battelle Press, Columbus, 1985 pp. 521-532.
44. Hall M., Grover L., Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: metabolism, activation and tumor initiation. In: Cooper S., Grover L., *Chemical carcinogenesis and mutagenesis*, Springer- Verlag, Berlin, 1990, pp. 327-372.
45. IPCS. Selected Non-heterocyclic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Environmental Health Criteria*. International Programme on Chemical Safety, World Health Organization, Geneva, 1998.
46. Williams R.T. *Detoxication mechanisms. The metabolism and detoxication of drugs, toxic substances and other organic compounds*, 2nd ed. London, Chapman & Hall, 1959, pp 768.
47. Xue W., Warshawsky D. Metabolic activation of polycyclic and heterocyclic aromatic hydrocarbons and DNA damage: A review. *Toxicology and Applied Pharmacology* 2005, 206: 73- 93.

48. K. Hemminki, A. Dipple, D. Segerbäck, F.F. Kadlubar, D. Shuker, H. Bartsch (Eds.). Reactions of polycyclic aromatic hydrocarbons with DNA Adducts: Identification and Biological Significance, IARC Scientific Publication, Lyon, France, 1994, pp. 107- 129.
49. S.L. Ralston, H.H. Lau, A. Seidel, A. Luch, K.L. Platt, W.M. Baird. The potent carcinogen dibenzo[a,l]pyrene is metabolically activated to fjord-region 11,12-diol 13,14-epoxides in human mammary carcinoma MCF-7 cell cultures, *Cancer Res.* 1994, 54: 887-890.
50. E.L. Cavalieri, E.G. Rogan. The approach to understanding aromatic hydrocarbon carcinogenesis. The central role of radical cations in metabolic activation. *Pharmacol Ther.* 1992, 55: 183-194.
51. T.M. Penning, S.T. Ohnishi, T. Ohnishi, R.G. Harvey. Generation of reactive oxygen species during the enzymatic oxidation of polycyclic aromatic hydrocarbon dihydrodiols catalyzed by dihydrodiol dehydrogenase. *Chemical Research in Toxicology* 1996, 9: 84-92.
52. Y.-J. Surh, A. Liem, E.C. Miller. Metabolic activation of the carcinogen 6-hydroxymethyl- benzo[a]pyrene: formation of an electrophilic sulfuric acid ester and benzylic DNA adducts in rat liver in vivo and in reaction in vitro. *Carcinogenesis* 1989, 10: 1519-1528.
53. Nebert D.W., Roe A.L., Dieter M.Z., Solis W.A., Yang Y., Dalton T.P. Role of the aromatic hydrocarbon receptor and [Ah] gene battery in the oxidative stress response, cell cycle control, and apoptosis. *Biochemical Pharmacology* 2000, 59(1): 65-85.
54. Matikainen, T., Perz, G.I., Jurisicova, A., Pru, J.K., Schlezinger, J.J., Ryu, H.-Y., Laine, J., Sakai, T., Korsmeyer, S.J., Casper, R.F., Sherr, D.H., Tilly, J.L. Aromatic hydrocarbon receptor driven Bax gene expression is required for premature ovarian failure caused by biohazardous environmental chemicals. *Nature Genetics* 2001, 28: 355-359.
55. Mathias G. Occupational Dermatoses. In: *Occupational Medicine-Third edition.* Mosby-Year book Inc., St. Louis, 1994, pp. 93-131.

56. Zmirou D, Masclet P, Boudet C, Dor F, Dechenaux J. Personal exposure to atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons in a general adult population and lung cancer risk assessment. *Journal Occupational Environmental Medicine* 2000, 42: 121-126.
57. Petry T, Schmid P, Schlatter C. The use of toxic equivalency factors in assessing occupational and environmental health risk associated with exposure to airborne mixtures of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *Chemosphere* 1996, 32: 639-648.
58. Grimmer G, Brune H, Dettbarn G, Naujack KW, Mohr U, Wenzel- Hartung R. Contribution of polycyclic aromatic compounds to the carcinogenicity of sidestream smoke of cigarettes evaluated by implantation into the lungs of rats. *Cancer Letters* 1988, 43: 173-177.
59. Pott P. Cancer scroti, Chirurgical observations relative to the Cataract, the Polypus of the nose, the Cancer of the Scrotum, the different kinds of ruptures, and the mortifications of the toes and feet., Hawes L, Clarke W, Collins R editions, London, 1775, pp. 63-68.
60. Al-Saleh, I., Alsabbahen, A., Shinwari, N., Billedo, G., Mashhour, A., Al-Sarraj, Y., El Din Mohamed, G., Rabbah, A. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) as determinants of various anthropometric measures of birth outcome. *Science of the Total Environment* 2013, 444: 565–578.
61. Koike, E., Yanagisawa R., Takano H. Toxicological effects of polycyclic aromatic hydrocarbons and their derivatives on respiratory cells. *Atmospheric Environment* 2014, 8: 1-8.
62. Van den Berg M., Birnbaum L., Bosveld A.T., Brunstrom B., Cook P. , Feeley M., Giesy J.P., Hanberg A., Hasegawa R., Kennedy S.W., Kubiak T., Larsen J.C., van Leeuwen F.X., Liem A.K., Nolt C., Peterson R.E., Poellinger L., Safe S., Schrenk D., Tillitt D., Tysklind M., Younes M., Waern F., Zacharewski T. Toxic equivalency factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, PCDFs for humans and wildlife. *Environmental Health Perspective* 1998, 106: 775-792

63. Nisbeth, I.C. and LaGoy, P.K. Toxic equivalency factors (TEFs) for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH). *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 1992, 16, pp. 290-300.
64. Larsen, J.C. and Larsen, P.B. Chemical Carcinogens. In: *Air Pollution and Health* (Hester, R.E. and Harrison, R.M.). *Issues in Environmental Sciences and Technology*, 10, The Royal Society of Chemical, Cambridge, 1998.
65. Culp S.J., Gaylor D.W., Sheldon W.G., Goldstein L.S., Beland F.A. A comparison of the tumours induced by coal tar and benzo[a]pyrene in a 2-year bioassay. *Carcinogenesis* 1998, 19: 117-124.
66. Scientific Committee on Food (SCF), Opinion of the Scientific Committee on Food on the risks to human health of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in food, European Commission http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/index_en.html
67. Zhong W., Wang M. Some polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetables from northern China. *Journal of Environmental Science and Health - Part A Toxic/ Hazardous Substances and Environmental Engineering* 2002, 37(2): 287-296.
68. Rojo M.C., Camargo M.C.R., Toledo M.C.F. Polycyclic aromatic hydrocarbons in Brazilian vegetables and fruits. *Food Control* 2003, 14 (1), 49–53.
69. Wennrich L., Popp P., Zeibig M. Polycyclic aromatic hydrocarbon burden in fruit and vegetable species cultivated in allotments in an industrial area. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 2002. 82 (10), 667–690.
70. Ashraf M.W., Taqvi S.I.H., Solangi A.R., Qureshi U.A. Distribution and risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetables grown in Pakistan. *Hindawi Publishing Corporation J. Chem.* 2013.
71. Janska, M., Hajslova, J., Tomaniova, M., Kocourek, V., Vavrova, M. Polycyclic aromatic hydrocarbons in fruits and vegetables grown in the

Czech Republic, Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 2006, 77: 492-499.

72. Abou-Arab A.A.K., Abou-Donia M.A.M., El-Dars F.M.S.E., Ali O.I.M., Hossam A.G. Levels of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHS) in some Egyptian vegetables and fruits and their influences by some treatments. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences 2014, 3: 277-293.
73. G. Perelló, R. Martí-Cid, V. Castell, J. M. Llobet, J. L. Domingo. Concentrations of polybrominated diphenyl ethers, hexachlorobenzene and polycyclic aromatic hydrocarbons in various foodstuffs before and after cooking, Food and Chemical Toxicology 2009, 47: 709–715.
74. Akpambang V.O.E., Purcaro G., Lajide L., Amoo I.A., Conte L.S., Moret S. Polycyclic aromatic hydrocarbons in some Nigerian roasted plant foods. Frontiers in Food and Nutrition Research 2015, 1: 1-5.
75. EFSA, Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the European Commission on Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Food, The EFSA Journal 724 (2008): 1–114.
76. Ciecierska M., M. Obiedzinski. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Bakery Chain, Food Chemistry 2013a, 141: 1–9.
77. R. Kobayashia, R. A. Okamoto, R. L. Maddalenac, N. Y. Kadoa. Polycyclic aromatic hydrocarbons in edible grain: A pilot study of agricultural crops as a human exposure pathway for environmental contaminants using wheat as a model crop. Environmental Research 2008, 107: 145–151.
78. Salgueiro L.R., García-Falcón M.S., Martínez-Carballo E., Simal-Gándara J. Effects of toasting procedures on the levels of polycyclic aromatic hydrocarbons in toasted bread. Food Chemistry 2008, 108(2): 607–615.
79. Orecchio S., Papuzza V. Levels, fingerprint and daily intake of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in bread baked using wood as fuel. Journal of Hazardous Materials 2009, 164: 876–883.

80. Kis D., Super D., Rozman V., Juric T., Voca N., Guberac, V. A comparative analysis of Corn drying in Stabil 3000 dry kiln using different energy sources. *Agriculturae Conspectus Scientificus* 2009, 74(3): 205–207.
81. Vainiotalo S., Matveinen K. Cooking fumes as a hygienic problem in the food and catering industries. *American Industrial Hygiene Association Journal* 1993, 54(7): 376-382.
82. Pérez C., López de Carain A., Bello J. Modulation of mutagenic activity in meat samples after deep-frying in vegetable oils. *Mutagenesis* 2002, 17(1): 63-66.
83. Larsson B.K., Sahlberg P., Eriksson A.T., Busk L.A. Polycyclic aromatic hydrocarbons in grilled food. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1983, 31(4): 867-873.
84. Farhadian A., Jinap S., Hanifah H.N., Zaidul I.S. Effects of meat preheating and wrapping on the levels of polycyclic aromatic hydrocarbons in charcoal-grilled meat. *Food Chemistry* 2011, 124(1): 141–146.
85. Howard J.W., Fazio T. Analytical methodology and reported findings of polycyclic, aromatic hydrocarbons in foods. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists* 1980, 63(5): 1077–1104.
86. Wang G., A. S. Lee, M. Lewis, B. Kamath, R. K. Archer. Accelerated Solvent Extraction and Gas Chromatography/ Mass Spectrometry for Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Smoked Food Samples, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1999, 47: 1062–1066.
87. Purcaro G., S. Moret, L. S. Conte. Optimisation of Microwave Assisted Extraction (MAE) for Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAH) Determination in Smoked Meat. *Meat Science* 2009, 81: 275–280.
88. V. Tornero, G. Hanke. Chemical contaminants entering the marine environment from sea-based sources: A review with a focus on European seas, *Marine Pollution Bulletin* 2016, 112: 17–38.

89. M. Ferrante, G. Zanghì, A. Cristaldia, C. Copata, A. Grasso, M. Fiorea, S. S. Signorellic, P. Zuccarello, G. O. Contia. PAHs in seafood from the Mediterranean Sea: An exposure risk assessment. *Food and Chemical Toxicology* 2018, 115: 385–390.
90. M. Ramalhosa, P. Paíga, S. Morais, S. Ramos, C. Matos, M. Pinto Oliveira. Polycyclic aromatic hydrocarbon levels in three pelagic fish species from Atlantic Ocean: Inter-specific and inter-season comparisons and assessment of potential public health risks. *Food and Chemical Toxicology* 2012, 50: 162–167.
91. A. Stołyhwo, Z. E. Sikorski. Polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked fish – a critical review. *Food Chemistry* 2005, 91: 303–311.
92. Varlet V., T. Serot, F. Monteau, B. L. Bizec, C. Prost. Determination of PAH Profiles by GC–MS/MS in Salmon Processed by Four Cold-Smoking Techniques. *Food Additives & Contaminants* 2007, 24: 744–757.
93. Forsberg N. D., G. R. Wilson, K. A. Anderson. Determination of Parent and Substituted Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in High-Fat Salmon Using a Modified QuEChERS Extraction, Dispersive SPE and GC–MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2011, 59: 8108–8116.
94. Perugini M., Visciano P., Manera M., Turno G., Lucisano A., Amorena M. Polycyclic aromatic hydrocarbons in marine organisms from the Gulf of Naples Tyrrhenian Sea. *Journal of Agricultural Food and Chemistry* 2007. 55 (5): 2049–2054.
95. Sapozhnikova Y., S. J. Lehotay. Multi-Class, Multi-Residue Analysis of Pesticides, Polychlorinated Biphenyls, Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, Polybrominated Diphenyl Ethers and Novel Flame Retardants in Fish using Fast, Low-Pressure Gas Chromatography–Tandem Mass Spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 2013, 758: 80–92.
96. R. Livingstone. Recent developments in marine invertebrate organic xenobiotic metabolism, *Toxicol. Ecotoxicol* 1994. News 1: 88–95.

97. K. Kasiotis, C. Emmanouil, P. Anastasiadou, A. Psyllou, A. Papadopoulos, O. Okay, K. Machera. Organic pollution and its effects in the marine mussel *Mytilus galloprovincialis* in Eastern Mediterranean coasts. *Chemosphere* 2015, 119: 145–152.
98. Tsangaris C., Hatzianestis I., Catsiki V.A., Kormas K.A., Stroglyoudi E., Neofitou C., Andral B., Galgani F. Active biomonitoring in Greek coastal waters: application of the integrated biomarker response index in relation to contaminant levels in caged mussels. *Science of Total Environment* 2011, 412: 359–365.
99. Valavanidis A., Vlachogianni T., Triantafillaki S., Dassenakis M., Androutsos F., Scoullou, M. Polycyclic aromatic hydrocarbons in surface seawater and in indigenous mussels (*Mytilus galloprovincialis*) from coastal areas of the Saronikos Gulf (Greece). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 2008, 79:733–739.
100. Naccari C., Cristani M., Giofrè F., Ferrante M., Siracusa L., Trombetta D. PAHs concentration in heat-treated milk samples. *Food Research International* 2011, 44 (3):716–724.
101. Aguinaga N., Campillo N., Viñas P., Hernández-Córdoba M. A headspace solid phase microextraction procedure coupled with gas chromatography–mass spectrometry for the analysis of volatile polycyclic aromatic hydrocarbons in milk samples, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 2008, 391 (3): 753–758.
102. M. Suchanova, J. Hajaslova, M. Tomaniova, V. Kocourek, L. Babicka. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Smoked Cheese. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2008, 88: 1307–1317.
103. Esposito M., Citro A., Marigliano L., Urbani V., Seccia G., Marotta M. P., & de Nicola C. Influence of different smoking techniques on contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons in traditional smoked Mozzarella di Bufala Campana. *International Journal of Dairy Technology* 2015, 68 (1): 97–104.

104. Luzardo P., Rodríguez-Hernández A, Quesada-Tacoronte Y., Ruiz-Suárez N., Almeida-González M., Henríquez- Hernández A., Boada, L. D. Influence of the method of production of eggs on the daily intake of polycyclic aromatic hydrocarbons and organochlorine contaminants: An independent study in the Canary Islands (Spain). *Food and Chemical Toxicology* 2013, 60: 455–462.
105. Fournier A., Feidt C., Dziurla M.A., Grandclaude C., Jondreville C. Transfer kinetics to egg yolk and modeling residue recovered in yolk of readily metabolized molecules: polycyclic aromatic hydrocarbons orally administered to laying hens. *Chemosphere* 2010, 78:1004–1010.
106. S. Moret, L. S. Conte Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Edible Fats and Oils: Occurrence and Analytical Methods. *Journal of Chromatography A* 2000, 882: 245–253.
107. Ramesh A., Walker S.A., Hood D.B., Guillen M.D., Schneider K., Weyand E.H. Bioavailability and risk assessment of orally ingested polycyclic aromatic hydrocarbons. *International Journal of Toxicology* 2004, 23: 301–333.
108. Costopoulou, D., Vassiliadou, I., Chrysafidis, D., Bergele, K., Tzavara, E., Tzamtzis, V., Leondiadis, L. Determination of PCDD/F, dioxin-like PCB and PAH levels in olive and olive oil samples from areas affected by the fires in summer 2007 in Greece. *Chemosphere* 2010, 79(3): 285–291.
109. P. Simko, V. Khunova, P. Simon, M. Hrubá. Kinetics of sunflower oil contamination with polycyclic aromatic hydrocarbons from contaminated recycled low density polyethylene film, *Journal of Food Science and Technology* 1995, 30: 807.
110. X. Zhao, G. Gong, S. Wu. Effect of storage time and temperature on parent and oxygenated polycyclic aromatic hydrocarbons in crude and refined vegetable oils, *Food Chemistry* 2018, 239: 781–788.
111. Arrebola F. J., A. G. Frenich, M. J. Gonzalez Rodriguez, P. P. Bolanos, and J. Martínez Vidal. Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons

- in Olive Oil by a Completely Automated Headspace Technique Coupled to Gas Chromatography-Mass Spectrometry, *Journal of Mass Spectrometry* 2006, 41: 822–829.
112. Fromberg A., A. Højgard, L. Duedahl-Olesen. Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Vegetable Oils Combining Gel Permeation Chromatography with Solid-Phase Extraction Clean-Up, *Food Additives & Contaminants* 2007, 24: 758–767.
113. M. Ciecierska, M.W. Obiedzinski, Polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetable oils from unconventional sources, *Food Control* 2013b, 30: 556-562.
114. S. Alves da Silva, E. A.F. da Silva Torres, A. Palma de Almeida, G. Sampaio. Polycyclic aromatic hydrocarbons content and fatty acids profile in coconut, safflower, evening primrose and linseed oils, *Food Chemistry* 2018, 245: 798–805.
115. A. Hopia, H. Pysalo, K. Wickstrom. Margarines, Butter and Vegetable Oils as Sources of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, *Journal of the American Oil Chemists' Society* 1986, 63: 889–893.
116. K. An, Y. Liu, H. Liu. Relationship between total polar components and polycyclic aromatic hydrocarbons in fried edible oil, *Food Additives & Contaminants: Part A* 2017, 34(9).
117. M. S. García-Falcón, J. Simal-Gándara. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in alcoholic drinks and the identification of their potential sources, *Food Additives and Contaminants* 2005a, 22(9): 791–797
118. P. Chatonnet, J. Escobessa. Impact of Toasting Oak Barrels on the Presence of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Wine, *J. Agric. Food Chem.* 2007, 55: 10351–10358
119. Houessou J.K., Delteil C., Camel V., Investigation of sample treatment steps for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in ground coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2006, 54(20): 7413-7421.

120. García-Falcón M.S., Cancho-Grande B., Simal-Gándara J. Minimal clean-up and rapid determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in instant coffee. *Food Chemistry* 2005b, 90(4): 643-647.
121. Ishizaki, A., Saito, K., Hanioka, N., Narimatsu, S., & Kataoka, H. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in food samples by automated on-line in-tube solid-phase microextraction coupled with high-performance liquid chromatography-fluorescence detection. *Journal of Chromatography A* 2010, 1217, 5555–5563.
122. J. Pincemaille, C. Schummer, E. Heinen, G. Moris. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked and non-smoked black teas and tea infusions, *Food Chemistry* 2014, 145: 807–813.
123. Dabrova, L., Pulkrabova, J., Kalachova, K., Tomaniova, M., Kocourek, V., & Hajslova, J. Rapid determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in tea using two-dimensional gas chromatography coupled with time of flight mass spectrometry, *Talanta* 2012, 100: 207–216
124. Ziegenhals, K., Speer, K., Jira, W. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in chocolate on the German market. *J. Verbr. Lebensm.* 2009, 4 (2), 128–135.
125. Raters, M., Matissek, R. Quantitation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH4) in cocoa and chocolate samples by an HPLC–FD method. *J. Agric. Food Chem.* 2014, 62 (44): 10666–10671.
126. Zanieri, L., Galvan, P., Checchini, L., Cincinelli, A., Lepri, L., Donzelli, G.P., and Del Bubba, M. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in human milk from Italian women: Influence of cigarette smoking and residential area. *Chemosphere* 2007, 67(7): 1265- 1274.
127. Moret S., G. Purcaro, L. S. Conte. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) Levels in Propolis and Propolis-based Dietary Supplements from the Italian Market, *Food Chemistry* 2010, 122: 333–338.

128. Zuzana Zelinkova & Thomas Wenz. EU marker polycyclic aromatic hydrocarbons in food supplements: analytical approach and occurrence, *Food Additives & Contaminants: Part A* 2015, Vol. 32, No. 11, 1914–1926.
129. Schaarschmidt, S. Public and private standards for dried culinary herbs and species e Part I: Standards defining the physical and chemical product quality and safety. *Food Control* 2016, 70: 339-349.
130. I. Rozentale, A. Yan Lun, D. Zacs, V. Bartkevics. The occurrence of polycyclic aromatic hydrocarbons in dried herbs and spices, *Food Control* 2018, 83: 45-53.
131. European Union, 2005, Commission Regulation (EC) No 208/2005. *Official Journal of European Union* L34/3 208/2005.
132. European Union, 2006, Commission Regulation (EC) No 1881/2006. *Official Journal of European Union* L364 1881/2006.
133. European Union, 2011, Commission Regulation (EU) No 835/2011. *Official Journal of European Union* L214/5 835/2011.
134. European Union, 2014, Commission Regulation (EU) No 1327/2014. *Official Journal of European Union* L 358/13 1327/2014.
135. European Union, 2015, Commission Regulation (EU) No 1125/2015. *Official Journal of European Union* L 184/7 1125/2015.
136. European Union, 2015, Commission Regulation (EU) No 1933/2015. *Official Journal of European Union* L 282/11 1933/2015.
137. European Union, 1998, Council Directive 98/83/EC. *Official Journal of European Union* L330/32 98/83/EC.
138. Wild C.P. Complementing the genome with an "exposome": the outstanding challenge of environmental exposure measurement in molecular epidemiology. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev* 2005, 14(8):1847-50.
139. Rappaport S.M., Smith M.T. Epidemiology. Environment and disease risks. *Science* 2010, 330(6003):460-1.

140. Escher B.I., Hackermüller J., Polte T. et al. From the exposome to mechanistic understanding of chemical-induced adverse effects. *Environ. Int* 2017. 99:97-106.
141. CDC. Third National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals. Atlanta, Georgia: Centers for Disease Control and Prevention; 2005.
142. Jongeneelen FJ, Bos RP, Anzion RB, Theuvs JL, Henderson PT. Biological monitoring of polycyclic aromatic hydrocarbons. Metabolites in urine. *Scand J Work Environ Health* 1986, 12: 137-143.
143. Bentsen-Farmen RK, Botnen IV, Noto H, Jacob J, Ovrebo S. Detection of polycyclic aromatic hydrocarbon metabolites by high pressure liquid chromatography after purification on immunoaffinity columns in urine from occupationally exposed workers, *Occup Environ Health* 1999, 72: 161-168.
144. Hu FB. Dietary pattern analysis: a new direction in nutritional epidemiology, *Curr Opin Lipidol.* 2002, 13(1): 3–9.
145. IPCS- WHO. Principles and methods for the risk assessment of chemicals in food, WHO Library, Environmental health criteria 240, 2009.
146. Conrad J., Nothlings U. Innovative approaches to estimate individual usual dietary intake in large-scale epidemiological studies, *Proc Nutr Soc* 2017, 76: 213–219.
147. J. Pennington. General approaches to estimation of dietary exposure to contaminants, *Food and Nutrition Bulletin* 2004, 25(4): 420-427.
148. WHO. Guidelines for the study of dietary intakes of chemical contaminants, Offset Publication No. 87. Geneva, Switzerland, 1985 http://whqlibdoc.who.int/offset/WHO_OFFSET_87.pdf
149. Black A.E., Goldberg G.R., Jebb S.A., Livingstone M.E., Prentice A.M. Critical evaluation of energy intake data using fundamental principles of energy physiology: 2. Evaluating the results of dietary surveys, *Eur J Clin Nutr* 1991, 45: 583-99.

150. Bakkum A., Bloemberg B, van Staveren W.A., Verschuren M, West CE. The relative validity of a retrospective estimate of food consumption based on a current dietary history and a food frequency list, *Nutr Cancer* 1988, 11: 41-53.
151. Trichopoulou A., Orfanos P., Valanou E., Martimianaki G., Peppas E., Androulidaki A, Anifantis E., Katsoulis M., Kritikou M., Pantzarlis M., Vidalis P., Ziara G., Naska A. The EFSA-funded collection of dietary and related data in the general population aged 10-74 years in Greece, *EFSA Supporting Publications*, 2018, EN 1499, 15(11).
152. A. Naska, A. Lagiou, P. Lagiou. Dietary assessment methods in epidemiological research: current state of the art and future prospects, *F1000Research* 2017, 6: 926-931.
153. M. Pité, H. Pinchen, I. Castanheira, L. Oliveira, M. Roe, J. Ruprich, I. Rehurkova, V. Sirot, A. Papadopoulos, H. Gunnlaugsdóttir. Quality Management Framework for Total Diet Study centers in Europe, *Food Chemistry* 2018, 240: 405– 414.
154. EFSA, GUIDANCE OF EFSA. General principles for the collection of national food consumption data in the view of a pan-European dietary survey, *The EFSA Journal* 2009, 7(12):1435.
155. I. Martorell, A. Nieto, M. Nadal, G. Perelló, R. M. Marcé, J. L. Domingo. Human exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) using data from a duplicate diet study in Catalonia, Spain, *Food and Chemical Toxicology* 2012, 50: 4103–4108.
156. A. Polachova, T. Gramblícká, O. Parízek, R. J. Sram, M. Stupák, J. Hajslova, J. Pulkrabová. Estimation of human exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) based on the dietary and outdoor atmospheric monitoring in the Czech Republic, *Environmental Research* 2020, 182: 108977.
157. B. Veyrand, V. Sirot, S. Durand, C. Pollono, P. Marchand, G. Dervilly-Pinel, A. Tard, J. Leblanc, B. Le Bizec. Human dietary exposure to

- polycyclic aromatic hydrocarbons: Results of the second French Total Diet Study, *Environment International* 2013, 54: 11–17.
158. L. Abramsson-Zetterberg, P. O. Darnerud, S. Wretling. Low intake of polycyclic aromatic hydrocarbons in Sweden: Results based on market basket data and a barbecue study, *Food and Chemical Toxicology* 2014, 74: 107–111.
159. European Union, 2007, Commission Regulation (EC) No 333/2007. *Official Journal of European Union* L88/29 333/2007.
160. European Union, 2011, Commission Regulation (EU) No 836/2011. *Official Journal of European Union* L215/9 836/2011.
161. European Union, 2002, Commission Regulation (EU) No 657/2002. *Official Journal of European Union* L 221/8 657/2002.
162. P. Plaza Bolanos, A. Garrido Frenicha, J. L. Martínez Vidala. Polycyclic aromatic hydrocarbons in food and beverages. Analytical methods and trends, *Journal of Chromatography A* 2010, 1217: 6303–6326.
163. A. Barranco, R. M. Alonso-Salces, E. Corta, L. A. Berrueta, B. Gallo, F. Vicente, M. Sarobe. Comparison of donor–acceptor and alumina columns for the clean-up of polycyclic aromatic hydrocarbons from edible oils, *Food Chemistry* 2004, 86: 465–474.
164. Kao, T. H., S. Chen, C. J. Chen, C. W. Huang, B. H. Chen. Evaluation of Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by the QuEChERS Method and Gas Chromatography–Mass Spectrometry and Their Formation in Poultry Meat As Affected by Marinating and Frying, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2012, 60: 1380–1389.
165. Wise, S. A., L. R. Hilpert, G. D. Byrd, W. E. May. Comparison of Liquid Chromatography with Fluorescence Detection and Gas Chromatography/Mass Spectrometry for the Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Environmental Samples, *Polycyclic Aromatic Compounds* 1990, 1: 81–98.

166. US EPA, United States Environmental Protection Agency Method 1613. Tetra- through Octa-chlorinated Dioxins and Furans by Isotope Dilution HRGC/HRMS, US Environmental Protection Agency: Washington, DC, 1994.
167. Eurachem, The Fitness for Purpose of Analytical Methods: A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics: Second edition, 2014.
168. J. Oostdijk, Separation of 54 PAHs on an Agilent J&W Select PAH GC Column, Agilent Technologies, UK, October 2010, SI- 02232.
169. P. Mottier, V. Parisod, R. Turesky. Quantitative Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Barbecued Meat Sausages by Gas Chromatography Coupled to Mass Spectrometry, J Agric Food Chem 2000, 48(4):1160-6.
170. C. P. Chiu, Y. S. Lin, B. H. Chen. Comparison of GC-MS and HPLC for overcoming matrix interferences in the analysis of PAHs in smoked food, Chromatographia 1997, 44: 497–504.
171. M. D. Guillen, P. Sopelana, G. Palencia Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Olive Pomace Oil, Journal of Agricultural and Food Chemistry 2004, 52: 2123- 2132.
172. M. S. García Falcón, S. González Amigo, M. A. Lage Yusty, M. J. López De Alda Villaizán, J. Simal Lozano/ Determination of Benzo[a]pyrene in lipid-soluble liquid smoke (LSLS) by HPLC-FL, Food Additives & Contaminants 1999, 13(7): 863-870.
173. T. V. Madureira, S. Velhote, C. Santos, C. Cruzeiro, E. Rocha, M. J. Rocha. A step forward using QuEChERS based extraction and gas chromatography- tandem mass spectrometry- levels of priority polycyclic aromatic hydrocarbons in wild and commercial mussel, Environmental Science and Pollution Research 2014, 21: 6089-6098.
174. M. Anastassiades, S. J. Lehotay, D. Stajnbaher, F. J. Schenck. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/

- partitioning and dispersive solid-phase extraction for the determination of pesticide residues in produce, *Journal of AOAC International* 2003, 86: 412-431.
175. Arienzo, M., Toscanesi, M., Trifuoggi, M., Ferrara, L., Stanislao, S., Donadio, C., Grazia, V., Gionata, De V., Carella, F., 2019. Contaminants bioaccumulation and pathological assessment in *Mytilus galloprovincialis* in coastal waters facing the brownfield site of Bagnoli, Italy. *Mar. Poll. Bull.* 140, 341–352.
176. Baumard, P., Budzinski H., Garrigues, P., Narbonne, J.F., Burgeot, T., Michel. X., Bellocq, J., 1999. Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) burden of mussels (*Mytilus* sp.) in different marine environments in relation with sediment PAH contamination, and bioavailability. *Mar. Environ. Res.* 47, 415-439.
177. Mecrogliano, R., Santonicola, S., De Felice, A., Anastasio, A., Murru, N., Ferrante M.C., Cortesi, M.L., 2016. Occurrence and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in mussels from the gulf of Naples, Tyrrhenian Sea, Italy. *Mar. Poll. Bull.* 104, 386-390.
178. Galgani, F., Martínez-Gómez, C., Giovanardi, F., Romanelli, G., Caixach, J., Cento, A., Scarpato, A., BenBrahim, S., Messaoudi, S., Deudero, S., Boulahdid, M., Benedicto, J., Andral, B., 2011. Assessment of polycyclic aromatic hydrocarbon concentrations in mussels (*Mytilus galloprovincialis*) from the Western basin of the Mediterranean Sea. *Environ. Monit. Assess.* 172, 301–17.
179. Karakoltsidis, P.A., Zotos, A., Constantinides, S.M., 1995. Composition of the commercially important mediterranean finfish, crustaceans and molluscs. *J. of food comp. and anal.* 8, 258- 273.
180. Esposito, M., Canzanella, S., Lambiase, S., Scaramuzzo, A., La Nucara, R., Bruno, T., Picazio, G., Colarusso, G., Brunetti, R., Gallo, P. 2020. Organic pollutants (PCBs, PCDD/Fs, PAHs) and toxic metals in farmed mussels from the Gulf of Naples (Italy): Monitoring and human exposure. *Reg. Stud. in Mar. Sci.* 40, 101497.

181. Llobet, J.M.; Falcó, G.; Bocio, A.; Domingo, J.L. Exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons through consumption of edible marine species in Catalonia, Spain. *J. Food. Prot.* 2006, 69, 2493-9.
182. Bihari, N.; Fafandžel, M.; Piškur, V. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Ecotoxicological Characterization of Seawater, Sediment, and Mussel *Mytilus galloprovincialis* from the Gulf of Rijeka, the Adriatic Sea, Croatia. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 2006, 52, 379–387.
183. Kucuksezgin F.; Pazi, I.; Yucel-Gier, G.; Akcali, B.; Galgani, F. Monitoring of heavy metal and organic compound levels along the Eastern Aegean coast with transplanted mussels. *Chemosphere* 2013, 8, 1511-1518.
184. León, V.; Moreno- González, R.; González E.; Martínez, F.; García, V.; Campillo, J. Interspecific comparison of polycyclic aromatic hydrocarbons and persistent organochlorines bioaccumulation in bivalves from a Mediterranean coastal lagoon. *Sci. of the Total Environ.* 2013, 463–464, 975–987.
185. Olenycz, M.; Sokołowski, A.; Niewińska, A.; Wołowicz, M.; Namieśnik, J.; Hummel, H.; Jansen, J. Comparison of PCBs and PAHs levels in European coastal waters using mussels from the *Mytilus edulis* complex as biomonitors. *Oceanologia* 2015, 57, 196-211.
186. Barhoumi, B.; El Megdiche, Y.; Clérandeau, C.; Ameer, W.B.; Mekni, S.; Bouabdallah, S.; Derouiche, A.; Touil, S.; Cachot, J.; Driss, M.R. Occurrence of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in mussel (*Mytilus galloprovincialis*) and eel (*An-guilla anguilla*) from Bizerte lagoon, Tunisia, and associated human health risk assessment. *Cont. Shelf Res.* 2016, 124, 104-116.
187. Glad, M.; Bihari, N.; Jakšić, Ž.; Fafandžel, M. Comparison between resident and caged mussels: Polycyclic aromatic hydrocarbon accumulation and biological response. *Mar. Environ. Res.* 2017, 129, 195-206.

188. Robinson, C.D.; Webster, L.; Martínez-Gómez, C.; Burgeot, T.; Gubbins, M.J.; Thain, J.E.; Vethaak, A.D.; McIntosh, A.D.; Hylland, K. Assessment of contaminant concentrations in sediments, fish and mussels sampled from the North Atlantic and European regional seas within the ICON project. *Mar. Environ. Res.* 2017, 124, 21-31.
189. Bajt, O.; Ramšak, A.; Milun, V.; Andral, B.; Romanelli, G.; Scarpato, A.; Mitrić, M.; Kupusović, T.; Kljajić, Z.; Angelidis, M.; Çullaj, A.; Galgani, F. Assessing chemical contamination in the coastal waters of the Adriatic Sea using active mussel biomonitoring with *Mytilus galloprovincialis*. *Mar. Poll. Bull.* 2019, 141, 283-298.
190. Kucuksezgin, F.; Gonul L.T.; Pazi, I.; Ubay, B.; Guclusoy H. Monitoring of polycyclic aromatic hydrocarbons in trans-planted mussels (*Mytilus galloprovincialis*) and sediments in the coastal region of Nemrut Bay (Eastern Aegean Sea). *Mar. Poll. Bull.* 2020, 157, 111358.
191. Guillén, M.D., Sopelana, P., Palencia, G., 2004. Polycyclic aromatic hydrocarbons and olive Pomace oil. *J Agric Food Chem.* 52, 2123–2132.
192. Guillén, M.D., Sopelana, P., Partearroyo, M.A., 1997. Food as a source of polycyclic aromatic carcinogens. *Rev. Environ. Health* 12, 133–146.
193. dos Santos Fogaça, F.H., Soares, S., Oliveira, M., Alves, R.N., Maulvault, A.L., Barbosa, V.L., Anacleto P., Magalhães, J.A., Bandarra, N.M., Ramalhosa, M.J., Morais, S., Marques, A., 2018. Polycyclic aromatic hydrocarbons bioaccessibility in seafood: Culinary practices effects on dietary exposure. *Env. Res.* 164, 165-172.
194. EFSA, 2019. Risk evaluation of chemical contaminants in food in the context of RASFF notifications: Rapid Assessment of Contaminant Exposure tool (RACE). EFSA Supporting Publications 2019: EN-1625.
195. Trichopoulou, A., Orfanos, P., Valanou, E., Martimianaki, G., Peppas, E., Androulidaki, A., Anifantis, E., Katsoulis, M., Kritikou, M., Pantzarlis, M., Vidalis, P., Ziara, G., Naska, A., 2018. The EFSA-funded collection of

dietary and related data in the general population aged 10-74 years in Greece, EFSA Supporting Publications, EN 1499, 15(11).

196. EFSA Comprehensive European Food Consumption Database-
<https://www.efsa.europa.eu/en/food-consumption/comprehensive-database>
197. Crump, K.S. 1984. An improved procedure for low-dose carcinogenic risk assessment from animal data. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.* 5: 339-348.
198. Falcó, G., Domingo, J.L., Llobet, J.M., Teixidó, A., Casas, C., Müller, L., 2003. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Foods: Human Exposure through the Diet in Catalonia, Spain. *Journal of Food Protection*, Vol. 66, No. 12, 2325–2331.
199. Martí-Cid, R., Llobet, J.M., Castell, V., Domingo, J.L., 2008. Evolution of the dietary exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in Catalonia, Spain. *Food and Chemical Toxicology* 46, 3163–3171.
200. Martorell, I., Nieto A., Nadal M., Perelló, G., Marcé, R.M., Doming, J., 2010. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in foods and estimated PAH intake by the population of Catalonia, Spain: Temporal trend. *Environment International* 36, 424–432.
201. De Vos, R.H., Van Dokkum, W., Schouten, A., De Jong-Berkhout, P., 1990. Polycyclic aromatic hydrocarbons in Dutch total diet samples. *Fd Chem. Toxic.* Vol. 28, No. 4, pp. 263-268.
202. Dennis, M.J., Massey, R.C., Cripps, G., Venn, I., Howarth, N., Lee, G., 1991. Factors affecting the polycyclic aromatic hydrocarbon content of cereals, fats and other food products. *Food additives and contaminants*, 8, 4, 517-530.
203. Lodovici, M., Dolara, P., Casalini, C., Ciappellano, S., Testolin, G., 1995. Polycyclic aromatic hydrocarbon contamination in the Italian diet. *Food additives and contaminants*, 15, 5, 703-713.

204. Cirillo, T., Montuori, P., Mainardi, P., Russo, I., Fasano, E., Triassi, M., Amodio-Cocchieri, R., 2010. Assessment of the dietary habits and polycyclic aromatic hydrocarbon exposure in primary school children. *Food additives and contaminants*, 27, 7, 1025-1039.
205. Lee, B.M., Shim, G.A., 2007. Dietary Exposure Estimation of Benzo[a]pyrene and Cancer Risk Assessment. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 70, 15-16, 1391-1394.
206. Xia, Z., Duan, X., Qiu, W., Wang, B., Tao, S., Jiang, Q., Lu, B., Song, Y., Hu, X., 2010. Health risk assessment on dietary exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Taiyuan, China. *Science of the Total Environment*, 408, 5331–5337.
207. Nie, J., Shi, J., Duan, X., Wang, B., Huang, N., Zhao, X., 2014. Health risk assessment of dietary exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in Taiyuan, China. *Journal of Environmental Sciences* 26, 432–439.
208. Yu, Y., Wang, H., Wang, B., Wang, X., Ren, A., Tao, S., 2015. Risk of human exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons: A case study in Beijing, China. *Environmental Pollution* 205, 70-77.
209. Kazerouni, N., Sinha, R., Hsu, C.H., Greenberg, A., Rothman, N., 2001. Analysis of 200 food items for benzo[a]pyrene and estimation of its intake in an epidemiologic study. *Food and chemical toxicology*, 39, 423-436.
210. Essumang, D.K., Dodoo, D.K., Adjei, J.K., 2013. Effect of smoke generation sources and smoke curing duration on the levels of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) in different suites of fish. *Food and Chemical Toxicology* 58, 86–94.