

Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα
Καλαμάτας
Σχολή Τεχνολογίας Γεωπονίας
Τμήμα Τεχνολογίας Γεωργικών Προϊόντων

Τίτλος Πτυχιακής Εργασίας:

**<< ΟΙ ΠΟΛΥΚΥΚΛΙΚΟΙ ΑΡΩΜΑΤΙΚΟΙ
ΥΔΡΟΓΟΝΑΝΘΡΑΚΕΣ ΣΤΑ ΤΡΟΦΙΜΑ, ΝΟΜΟΘΕΣΙΑ
ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ>>**

ΟΥΡΑΝΟΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΒΑΡΖΑΚΑΣ ΘΕΟΔΩΡΟΣ

2013

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στον Επίκουρο Καθηγητή κ. Θεόδωρο Βαρζάκα για τη δυνατότητα που μου έδωσε να πραγματοποιήσω την πτυχιακή μου εργασία.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω το Γενικό Χημείο του Κράτους και ιδιαιτέρως τον κύριο Νικόλαο Ζούλη και την κυρία Κυριακή Μπεργελέ για την πολύτιμη βοήθεια που μου προσέφεραν για την περάτωση της παρούσας εργασίας.

Τέλος, θέλω να εκφράσω ένα τεράστιο ευχαριστώ στην οικογένεια μου, για τη στήριξη που μου έδειξε όλα αυτά τα χρόνια των σπουδών μου.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

I. Πρόλογος

1. ΠΟΛΥΚΥΚΛΙΚΟΙ ΑΡΩΜΑΤΙΚΟΙ ΥΔΡΟΓΟΝΑΝΘΡΑΚΕΣ	7
1.1. Μοριακή δομή των ΠΑΥ	7
1.2. Φυσικές και χημικές ιδιότητες των ΠΑΥ	13
1.2.1. Ονοματολογία	13
1.2.2. Φυσικές και χημικές ιδιότητες των ΠΑΥ που επηρεάζουν την παρουσία τους στα τρόφιμα	15
 2. ΠΗΓΕΣ ΠΑΥ ΣΕ ΤΡΟΦΙΜΑ	 18
2.1. Ανάπτυξη των ΠΑΥ κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας ή του μαγειρέματος τροφίμων	18
2.1.1. Φαγητό ψημένο στα κάρβουνα	19
2.1.2. Καπνιστά τρόφιμα	19
2.1.3. Φυτικά έλαια	20
2.1.4. Καφές, τσάι	20
2.1.5. Ανθρώπινο γάλα	20
2.2. Μέτρα για τη μείωση της μόλυνσης των τροφίμων με ΠΑΥ	21
2.3. Σχετικές συγκεντρώσεις των ΠΑΥ στα τρόφιμα (σχετικές αναλογίες των ΠΑΥ στα τρόφιμα ως προς το BaP)	22
2.4. Εκτιμήσεις πρόσληψης ΠΑΥ	24
 3. ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΤΗΣ ΝΟΜΟΘΕΣΙΑΣ	 26
3.1. Ισχύουσα νομοθεσία για τους ΠΑΥ στα τρόφιμα	26
3.2. Τροποποίηση κανονισμού	27

4. ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ, ΚΑΤΑΝΟΜΗ, ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΑΠΕΚΚΡΙΣΗ ΤΩΝ ΠΑΥ	33
4.1. Απορρόφηση μέσω της γαστρεντερικής οδού	33
4.2. Κατανομή	34
4.3. Απέκκριση	34
4.4. Μεταβολισμός	35
4.5. Δομικά χαρακτηριστικά των ΠΑΥ που επηρεάζουν το μεταβολισμό τους	36
 5. ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΤΩΝ ΠΟΛΥΚΥΚΛΙΚΩΝ ΑΡΩΜΑΤΙΚΩΝ ΥΔΡΟΓΟΝΑΝΘΡΑΚΩΝ ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΟ	 39
5.1. Οδοί έκθεσης σε ΠΑΥ	39
5.2. Επιπτώσεις αναλόγως της οδού έκθεσης	40
5.2.1. Έκθεση μέσω της αναπνοής	40
5.2.2. Έκθεση μέσω του στόματος	42
5.2.3. Έκθεση μέσω του δέρματος	43
5.3. Τοξικότητα των ΠΑΥ	44
 6. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	 47
6.1. Αντιδραστήρια	49
6.1.1. Συσκευές και βοηθητικά μέσα	49
6.1.2. Προετοιμασία δείγματος και σκευών	50
6.2. Μέθοδος F/O	50
6.2.1. Εκχύλιση κατανομής υγρών φάσεων	50
6.2.2. Εκχύλιση στερεάς φάσης-στήλη C18	51
6.2.3. Εκχύλιση στερεάς φάσης-στήλη FLORISIL	51
6.3. Μέθοδος S	52
6.3.1. Εκχύλιση μετά από σαπωνοποίηση	52
6.3.2. Εκχύλιση στερεάς φάσης-στήλη C18	53
6.3.3. Εκχύλιση στερεάς φάσης-στήλη FLORISIL	54
6.4. Μέθοδος DF	54
6.4.1. Εκχύλιση εν θερμώ	54
6.4.2. Εκχύλιση στερεάς φάσης-στήλη C18	54
6.4.3. Εκχύλιση στερεάς φάσης-στήλη FLORISIL	54
6.5. Μέθοδος PE	54

6.5.1. Εκχύλιση μετά από σαπωνοποίηση	54
6.5.2. Κατεργασία με οξικό οξύ	55
6.5.3. Διπλή εκχύλιση στερεάς φάσης-στήλη C18	56
6.5.4. Διπλή εκχύλιση στερεάς φάσης-στήλη FLORISIL	57
6.5.5. Εκχύλιση στερεάς φάσης-στήλη NH2	57
6.6. Ανάλυση προτύπου διαλύματος βαθμονόμησης	58
6.7. Ποσοτικοί υπολογισμοί-Υπολογισμός περιεκτικότητας ΠΑΥ σε άγνωστο δείγμα	58
6.8. Διόρθωση ως προς την ανάκτηση	59
7. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ	61
7.1. Συζήτηση αποτελεσμάτων	78
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	85

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Οι Πολυκυκλικοί Αρωματικοί Υδρογονάνθρακες (ΠΑΥ) είναι μία ομάδα οργανικών ενώσεων, οι οποίες περιέχουν δύο ή περισσότερους αρωματικούς δακτυλίους, αποτελούμενους από C και H.

Για το γενικό πληθυσμό, οι κύριες οδοί πρόσληψης ΠΑΥ είναι η τροφή και ο εισπνεόμενος αέρας. Οι ΠΑΥ εισέρχονται στο περιβάλλον μέσω της ατμόσφαιρας από τις διάφορες ατελείς καύσεις και πυρολύσεις οργανικής ύλης κατά τη διάρκεια βιομηχανικών διεργασιών και άλλων ανθρώπινων δραστηριοτήτων. Οι ΠΑΥ ανιχνεύθηκαν σε διάφορα τρόφιμα, κυρίως λαχανικά, ως αποτέλεσμα της απόθεσης αιωρούμενων στην ατμόσφαιρα σωματιδίων που περιέχουν ΠΑΥ ή της καλλιέργειάς τους σε μολυσμένα εδάφη, και σε ψάρια, μύδια και αστακούς από μολυσμένα ύδατα (π.χ. από διαρροές πετρελαίου). Βρέθηκαν επίσης σε φυτικά έλαια και μαργαρίνη.

Άλλες, ενδεχομένως μικρότερες οδοί έκθεσης είναι η απορρόφηση από το στόμα ή μέσω του δέρματος σκόνης και απορριμμάτων, πόσιμου νερού, και η χρήση προϊόντων που έχουν μολυνθεί με ΠΑΥ, όπως προϊόντα που περιέχουν πίσσα. Η έκθεση σε αιωρούμενους ΠΑΥ γίνεται τόσο σε εσωτερικούς χώρους όσο και σε εξωτερικούς.

Στα τρόφιμα, οι ΠΑΥ ενδέχεται να σχηματίζονται κατά τη διάρκεια των διαφόρων επεξεργασιών που υφίσταται το τρόφιμο, όπως κάπνισμα, ξήρανση, ψήσιμο, τηγάνισμα.

Το κρέας, το γάλα, τα πουλερικά, και τα αυγά, υπό φυσιολογικές συνθήκες δεν πρέπει να περιέχουν υψηλά επίπεδα ΠΑΥ εξαιτίας του γρήγορου μεταβολισμού των ΠΑΥ στα είδη από τα οποία προέρχονται.

Από τους εκατοντάδες ΠΑΥ ο πιο μελετημένος είναι το βενζο(α)πυρένιο, το οποίο συχνά χρησιμοποιείται ως δείκτης των ΠΑΥ στον εισπνεόμενο αέρα και στα τρόφιμα.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. ΠΟΛΥΚΥΚΛΙΚΟΙ ΑΡΩΜΑΤΙΚΟΙ ΥΔΡΟΓΟΝ/ΚΕΣ

1.1. Μοριακή δομή των ΠΑΥ

Οι ΠΑΥ εξαιτίας των τοξικολογικών τους δράσεων έχουν προσελκύσει το ενδιαφέρον ευρωπαϊκών, διεθνών οργανισμών και κρατικών φορέων, όπως είναι

- ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (WHO) σε συνεργασία με άλλα προγράμματα των Ηνωμένων Εθνών (UN), μέσω
 - του Διεθνούς Προγράμματος για τη Χημική Ασφάλεια (International Program on chemical safety, IPCS) και
 - της Μικτής Επιτροπής Εμπειρογνομόνων FAO/WHO για τα Πρόσθετα των Τροφίμων (JECFA), η οποία ασχολείται και με την αξιολόγηση των ρυπαντών στα τρόφιμα,
 - 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 (Scientific Committee on Food, SCF) και
- η Αμερικανική Υπηρεσία Προστασίας του Περιβάλλοντος (Environmental Pollution Agency, EPA) και η Υπηρεσία για τις Τοξικές Ουσίες του αμερικανικού Υπουργείου Υγείας (ATSDR).

Η πιο πρόσφατη μελέτη από επίσημο οργανισμό, με θέμα τους κινδύνους που διατρέχει η ανθρώπινη υγεία από την παρουσία ΠΑΥ στα τρόφιμα είναι αυτή της Επιστημονικής Επιτροπής για τα Τρόφιμα της Ε.Ε. (SCF), η οποία δημοσιεύθηκε το Δεκέμβριο 2002 (European Commission 2002, http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out154_en.pdf). Η μελέτη αυτή έλαβε υπόψη της τις αξιολογήσεις που πραγματοποίησαν οι προαναφερόμενες διεθνείς ομάδες εμπειρογνομόνων (IARC, US EPA, ATSDR, IPCS, WHO).

Η SCF συμπεριέλαβε στη γνωμοδότησή της 33 ενώσεις ΠΑΥ που παρατίθενται στον Πίνακα 1.1. Οι ενώσεις αυτές επιλέχθηκαν βάσει των διαθέσιμων πληροφοριών από

προηγούμενες μελέτες για το πού βρίσκονται και τις τοξικές τους δράσεις.

Πίνακας 1.1: ΠΑΥ που συμπεριλήφθηκαν στη γνωμοδότηση της SCF.

	Συντομογραφία	ΠΑΥ		Συντομογραφία	ΠΑΥ
1	AC	Ακεναφθένιο	18	CPP	Κυκλοπεντανο(<i>c,d</i>)πυρένιο
2	ACL	Ακεναφθυλένιο	19	DahA	Διβενζο(<i>a,h</i>)ανθρακένιο
3	ATR	Ανθρανθένιο	20	DaeP	Διβενζο(<i>a,e</i>)πυρένιο
4	AN	Ανθρακένιο	21	DahP	Διβενζο(<i>a,h</i>)πυρένιο
5	BaA	Βενζο(<i>a</i>)ανθρακένιο	22	DaiP	Διβενζο(<i>a,i</i>)πυρένιο
6	BaFL	Βενζο(<i>a</i>)φθορένιο	23	DalP	Διβενζο(<i>a,l</i>)πυρένιο
7	BbFL	Βενζο(<i>b</i>)φθορένιο	24	FAN	Φθορανθένιο
8	BbF	Βενζο(<i>b</i>)φθορανθένιο	25	FL	Φθορένιο
9	BghiF	Βενζο(<i>ghi</i>)φθορανθένιο	26	IND	Ινδενο(<i>1,2,3-cd</i>)πυρένιο
10	BjF	Βενζο(<i>j</i>)φθορανθένιο	27	5-MCHR	5-Μεθυλοχρυσένιο
11	BkF	Βενζο(<i>k</i>)φθορανθένιο	28	1-MPH	1-Μεθυλοφαινανθένιο
12	BghiP	Βενζο(<i>ghi</i>)περιλένιο	29	NA	Ναφθαλένιο
13	BcPH	Βενζο(<i>c</i>)φαινανθένιο	30	PE	Περιλένιο
14	BaP	Βενζο(<i>a</i>)πυρένιο	31	PHE	Φαινανθένιο
15	BeP	Βενζο(<i>e</i>)πυρένιο	32	PYR	Πυρένιο
16	CHR	Χρυσένιο	33	TRI	Τριφαινυλένιο
17	COR	Κορονένιο			

Σημειώνεται η SCF δεν έλαβε υπόψη της στη μελέτη ετεροκυκλικές αρωματικές ενώσεις, παρόλο που είναι γνωστό ότι κάποιες από αυτές (όπως καρβαζόλιο, ακριδίνη) καθώς και άλλα παράγωγα των ΠΑΥ (όπως νιτρο-ΠΑΥ και οξυγονωμένοι ΠΑΥ) μπορούν να παραχθούν από την ατελή καύση και από χημικές αντιδράσεις που γίνονται στον περιβάλλοντα χώρο. Οι ενώσεις αυτές συνυπάρχουν με τους ΠΑΥ στον αέρα (και κατά συνέπεια στα τρόφιμα) σε πολύπλοκα μίγματα και το συνολικό μίγμα χαρακτηρίζεται ως Πολυκυκλικές Αρωματικές Ενώσεις (Polycyclic aromatic compounds, PAC). Ωστόσο, τα αποτελέσματα από μελέτες στις οποίες χρησιμοποιήθηκαν πολύπλοκα μίγματα, όπως πίσσα (coal-tar) ή προϊόντα καύσης απεικονίζουν την επιπλέον συμβολή των ενώσεων αυτών στο σύνολο των επιδράσεων των ΠΑΥ.

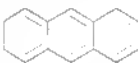
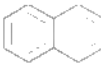
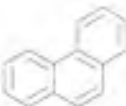
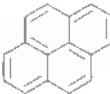
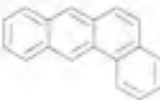
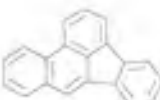
Το συμπέρασμα της Επιτροπής ήταν ότι 15 από τους 33 ΠΑΥ που εξετάστηκαν ήταν μεταλλαξιογόνοι/γονιδιοτοξικοί. Επιπλέον, οι ΠΑΥ αυτοί - εκτός του βενζο[ghi]περιλενίου - εμφάνισαν καρκινογόνο δράση σε διάφορες βιοδοκιμασίες σε πειραματόζωα.

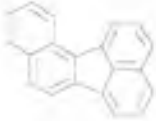
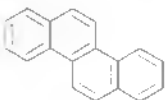
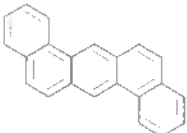
Από τους 15 αυτούς ΠΑΥ, οι 12 είναι ταυτόσημοι με αυτούς που χαρακτηρίστηκαν ως καρκινογόνοι για τον άνθρωπο από τη Διεθνή Υπηρεσία Έρευνας για τον Καρκίνο (IARC) με βάση πειράματα σε ζώα το διάστημα 1973-1987. Η Μικτή Επιτροπή Εμπειρογνομόνων FAO/WHO (JECFA) ζήτησε το 2005 την παρακολούθηση ενός επιπλέον ΠΑΥ, του βενζο[c]φθορενίου. Η Αμερικανική Υπηρεσία για την Προστασία του Περιβάλλοντος (EPA) μετά από μελέτες που έκανε τη δεκαετία του 1970 επικεντρώθηκε σε 16 ΠΑΥ, 8 από τους οποίους συμπεριλαμβάνονται στον κατάλογο της SCF με τους καρκινογόνους ΠΑΥ.

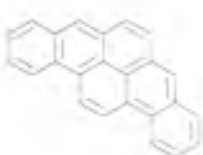
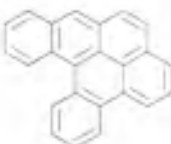
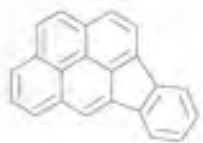
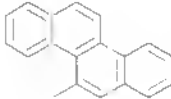
Στον Πίνακα 1.2 σημειώνονται με x οι ΠΑΥ που έχουν χαρακτηριστεί ως γονιδιοτοξικοί από την SCF, ως καρκινογόνοι από την IARC και από τη JECFA και αυτοί που έχουν χαρακτηριστεί ως ύποπτοι στο παρελθόν από την EPA :

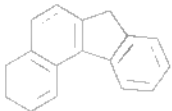
Πίνακας 1.2: ΠΑΥ, μοριακές δομές αυτών και χαρακτηρισμός τους.

α/ α	όνομα	Συντομ ογραφί α	Μοριακή δομή	MB	US- EPA	SCF	IARC	JECFA
1	Ακεναφθένιο	ACP		154 AMU	x			

α/ α	όνομα	Συντομ ογραφί α	Μοριακή δομή	MB	US- EPA	SCF	IARC	JECFA
2	Ακεναφθυλένιο	ACY		152 AMU	x			
3	Ανθρακένιο	ANT		178 AMU	x			
4	Φθορανθένιο	FLT		202 AMU	x			
5	Φθορένιο	FLR		166 AMU	x			
6	Ναφθαλένιο	NAP		128 AMU	x			
7	Φαινανθρένιο	PHE		178 AMU	x			
8	Πυρένιο	PYR		202 AMU	x			
9	Βενζο(α)ανθρακένιο	BaA		228 AMU	x	x	x	x
10	Βενζο(b)φθορανθένιο	BbF		252 AMU	x	x	x	x

α/ α	όνομα	Συντομ ογραφί α	Μοριακή δομή	MB	US- EPA	SCF	IARC	JECFA
11	Βενζο(<i>j</i>)φθορανθένιο	BjF		252 AMU		x	x	x
12	Βενζο(<i>k</i>)φθορανθένιο	BkF		252 AMU	x	x	x	x
13	Βενζο[<i>ghi</i>]περιλένιο	BghiP		276 AMU	x	x		
14	Βενζο[<i>a</i>]πυρένιο	BaP		252 AMU	x	x	x	x
15	Χρυσένιο	CHR		228 AMU	x	x		x
16	Κυκλοπεντανο[<i>cd</i>]πυρένιο	CPP		226 AMU		x		
17	Διβενζο[<i>a,h</i>]ανθρακένιο	DahA		278 AMU	x	x	x	x

α/ α	όνομα	Συντομ ογραφί α	Μοριακή δομή	MB	US- EPA	SCF	IARC	JECFA
18	Διβενζο[<i>a,e</i>]πυρένιο	DaeP		302 AMU		x	x	x
19	Διβενζο[<i>a,h</i>]πυρένιο	DahP		302 AMU		x	x	x
20	Διβενζο[<i>a,i</i>]πυρένιο	DaiP		302 AMU		x	x	x
21	Διβενζο[<i>a,l</i>]πυρένιο	DalP		302 AMU		x	x	x
22	Ινδανο[1,2,3- <i>cd</i>]πυρένιο	IND		276 AMU	x	x	x	x
23	5-Μεθυλοχρυσένιο	5MCH R		242 AMU		x	x	x

α/ α	όνομα	Συντομ ογραφί α	Μοριακή δομή	MB	US- EPA	SCF	IARC	JECFA
24	Βενζο[<i>c</i>]φθορένιο	BcF		216 AMU				x

Παρόλο που οι μελέτες σε πειραματόζωα για ΠΑΥ και κυρίως βενζο(α)πυρένιο, έδειξαν διάφορες τοξικολογικές δράσεις, όπως αιματολογικές δράσεις, επίδραση στην αναπαραγωγή και την ανάπτυξη, αυτό που κυρίως συγκεντρώνει την προσοχή των επιστημόνων είναι η καρκινογόνος και γονιδιοτοξική δράση των ενώσεων αυτών. Ένας αριθμός ΠΑΥ όπως και η πίσσα και η έκθεση στον επαγγελματικό χώρο σε εκπομπές καυσαερίων που περιέχουν τις ενώσεις αυτές είχαν ως αποτέλεσμα καρκινογένεση σε πειραματόζωα, γονιδιοτοξικότητα και μεταλλαξογόνο δράση (WHO 2001, IPCS 1998, ATSDR 1994, Hughes et al. 1993, IARC 1987, IARC 1999).

1.2. ΦΥΣΙΚΕΣ ΚΑΙ ΧΗΜΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΩΝ ΠΑΥ (Lee et al. 1981, National Academy Press 1983, Nikolaou et al. 1984).

1.2.1. Ονοματολογία

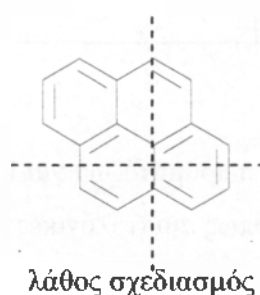
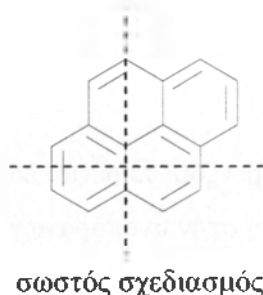
Μερικά από τα εμπειρικά ονόματα των ΠΑΥ αποδίδονται στην αρχική απομόνωση των ενώσεων αυτών από το υπόλειμμα της πίσσας (ναφθαλίνιο), άλλα οφείλονται στο χρώμα τους (χρυσένιο) και άλλα στο σχήμα των μορίων τους (κορωνένιο).

Οι κανόνες ονοματολογίας και γραφής των ΠΑΥ σύμφωνα με το σύστημα IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) είναι οι εξής:

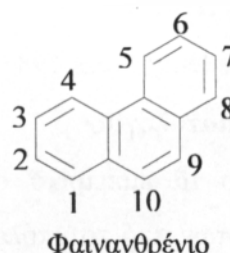
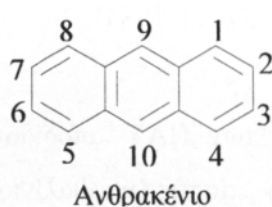
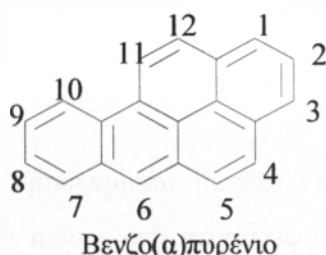
1. Όπου είναι δυνατόν οι δακτύλιοι σχεδιάζονται με τις δύο πλευρές κάθετες.
2. Ανεξάρτητα από το μέγεθός τους, η πλειονότητα των δακτυλίων τοποθετούνται σε οριζόντια σειρά.

3. Το υπόλοιπο του μορίου σχεδιάζεται κατά προτεραιότητα στο πάνω δεξιό τεταρτημόριο και κατά δεύτερο λόγο στο κάτω αριστερό τεταρτημόριο (το μέσο της πρώτης σειράς λαμβάνεται ως κέντρο του κύκλου).

Παράδειγμα:

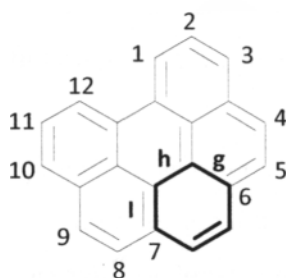


4. Η αρίθμηση αρχίζει από το πρώτο άτομο άνθρακα που αποτελεί μέρος συμπυκνωμένου δακτυλίου (αλλά δεν συμμετέχει και σε άλλο δακτύλιο), στο δεξιό δακτύλιο της πάνω σειράς και συνεχίζεται κατά τη φορά των δεικτών του ρολογιού γύρω από το μόριο (το φαινανθρένιο και το ανθρακένιο αποτελούν εξαιρέσεις).

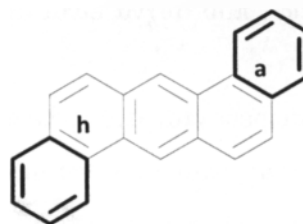


5. Τα άτομα που αποτελούν μέρος συμπυκνωμένου δακτυλίου ονομάζονται με τα γράμματα a, b, c, κλπ με την προσθήκη του αριθμού του προηγούμενου ατόμου.
6. Ορισμένα εμπειρικά ονόματα παραμένουν. Για τα υπόλοιπα, το όνομα του συμπυκνωμένου δακτυλίου ορίζεται από ένα πρόθεμα του σταθερού μέρους (βενζο-, κυκλοπεντα-) ακολουθούμενο από πλάγιο γράμμα ή γράμματα που δείχνουν το δεσμό ή τους δεσμούς του κυρίου μέρους του μορίου στους οποίους παρουσιάζεται η σύντηξη. Τα συνδεδεμένα συστατικά πρέπει να είναι όσο το δυνατό πιο απλά. Ο δεσμός ανάμεσα στο C1 και το C2 ονομάζεται a. Οι υπόλοιποι δεσμοί C-C στην περιφέρεια του μορίου ονομάζονται

με τα γράμματα της αλφαβήτας ακολουθώντας τη φορά του ρολογιού, ανεξάρτητα αν έχουν ή δεν έχουν άτομα υδρογόνου, ενώ ακολουθεί το όνομα της κύριας ένωσης π.χ. βενζο(a)ανθρακένιο. Αν οι συμπυκνωμένοι δακτύλιοι στο κύριο μέρος του δακτυλίου είναι περισσότεροι του ενός, τα πλάγια γράμματα χωρίζονται με κόμμα, π.χ. βενζο(g,h,i)περιλένιο, διβενζο(a,h)ανθρακένιο.

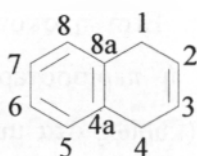


βενζο(g,h,i)περιλένιο



διβενζο(a,h)ανθρακένιο

7. Η υδρογόνωση δείχνεται με το πρόθεμα διυδρο- ακολουθούμενο από το όνομα του αντίστοιχου ακόρεστου υδρογονάνθρακα π.χ 1,4 διυδ로나φθαλίνιο.



1, 4-διυδ로나φθαλίνιο

8. Η ρίζα CH₂ στο δακτύλιο δείχνεται με το γράμμα H, ενώ προηγείται ο κατάλληλος αριθμός, π.χ. 1H –βενζο(d,e)ανθρακένιο.

1.2.2. Φυσικές και χημικές ιδιότητες των ΠΑΥ που επηρεάζουν την παρουσία τους στα τρόφιμα

Όλοι οι ΠΑΥ εκτός από ορισμένα υδρογονωμένα παράγωγα, βρίσκονται σε στερεή μορφή, σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Τα μεγάλα μοριακά τους βάρη, καθώς και η έλλειψη πολικών υποκαταστατών στα μόριά τους, τους καθιστά λιποφίλικές ενώσεις, δυσδιάλυτες στο νερό.

Η ύπαρξη υψηλής ενέργειας π-δεσμικών τροχιακών και σχετικά χαμηλής ενέργειας π*-αντιδεσμικών τροχιακών στα μόρια των ΠΑΥ έχει ως αποτέλεσμα την απορρόφηση ορατής ή υπεριώδους ακτινοβολίας με τη μετάβαση ενός ηλεκτρονίου από π σε π*-τροχιακό, που δίνει χαρακτηριστικό φάσμα απορρόφησης ή φθορισμού.

Επίσης τα υψηλής ενέργειας π-ηλεκτρόνια των ΠΑΥ είναι διαθέσιμα για σχηματισμό δεσμού με ενώσεις που διαθέτουν κενά τροχιακά χαμηλής ενέργειας. Έτσι οι ΠΑΥ σχηματίζουν σύμπλοκες ενώσεις, που συχνά είναι αρκετά σταθερές ώστε να ταυτοποιηθούν από το σημείο τήξεώς τους.

Οι ΠΑΥ συσσωρεύονται στους λιπώδεις ιστούς φυτών και ζώων. Δεν έχουν την τάση να συσσωρεύονται στους ιστούς των φυτών με υψηλή περιεκτικότητα σε νερό και η μεταφορά τους από το έδαφος στις ρίζες των φυτών είναι περιορισμένη. Ο ρυθμός μεταφοράς ποικίλει και επηρεάζεται επίσης από τα χαρακτηριστικά του εδάφους, το φυτό και την παρουσία άλλων ρυπαντών. Οι ΠΑΥ προσροφώνται ισχυρά στο οργανικό μέρος του εδάφους και δεν εισχωρούν σε βάθος στα περισσότερα εδάφη, περιορίζοντας σε σημαντικό βαθμό τη στράγγισή τους στα υπόγεια ύδατα.

Ορισμένοι ΠΑΥ είναι ελαφρώς πτητικοί, ωστόσο οι περισσότεροι από αυτούς τείνουν να προσροφώνται στην οργανική σωματιδιακή ύλη. Έτσι η σκόνη της ατμόσφαιρας είναι μία σημαντική οδός μεταφοράς τους. ΠΑΥ με 5 ή περισσότερους αρωματικούς δακτυλίους βρίσκονται κυρίως πάνω στη σωματιδιακή ύλη (κυρίως στα μικρά σωματίδια <2.5 μm όπως είναι η καπνιά και η αιωρούμενη στάχτη). ΠΑΥ με 2 ή 3 δακτυλίους βρίσκονται σχεδόν εξ ολοκλήρου στην αέρια φάση και αυτοί με 4 δακτυλίους σε ενδιάμεση κατάσταση.

Κατά συνέπεια, τα φυτά με μεγάλα φύλλα, τα βοοειδή και τα πουλερικά που μπορεί να προσλάβουν σωματιδιακή ύλη από το έδαφος μέσω της τροφής τους υπόκεινται σε μόλυνση από τους ΠΑΥ που είναι προσροφημένοι στη σωματιδιακή ύλη.

Όταν σωματιδιακή ύλη προσπέσει στα επιφανειακά ύδατα, μεταφέρεται σε αιώρημα και έτσι οι προσροφημένοι ΠΑΥ καταλήγουν στο τρεχούμενο νερό ή στις θαλάσσιες ιζηματογενείς αποθέσεις. Οι ΠΑΥ προσδένονται ισχυρά στις ιζηματογενείς αυτές αποθέσεις οι οποίες αποτελούν μία αποθήκη για τις ενώσεις αυτές οι οποίες κάτω από κατάλληλες συνθήκες μπορούν να απελευθερωθούν. Οι οργανισμοί που ζουν στις ιζηματογενείς αποθέσεις και αυτοί που διηθούν το θαλασσινό νερό είναι οι πιο ευαίσθητοι σε μόλυνση από ΠΑΥ.

Οι ΠΑΥ είναι ενώσεις σχετικά αδρανείς. Οι αντιδράσεις που δίνουν είναι κυρίως αντιδράσεις ηλεκτρονιόφιλης αρωματικής υποκατάστασης και όχι προσθήκης, γιατί υπάρχει η τάση διατήρησης των κυκλικών συζυγιακών συστημάτων. Πολλά από τα πρωτογενή προϊόντα των αντιδράσεων αυτών αντιδρούν περαιτέρω προς σχηματισμό κινονών ή άλλων προϊόντων διασπάσεως. Οι ΠΑΥ με γραμμική διάταξη δακτυλίων εμφανίζουν μεγαλύτερη χημική δραστηριότητα απ' αυτούς των οποίων οι δακτύλιοι σχηματίζουν γωνία. Η χημική δραστηριότητα των ΠΑΥ αυξάνεται με την αύξηση του αριθμού των δακτυλίων.

Ωστόσο οι ΠΑΥ είναι φωτοευαίσθητοι και μπορούν να οξειδωθούν. Ο χρόνος ημίσειας ζωής τους στον αέρα κυμαίνεται από λίγες ώρες μέχρι λίγες ημέρες, ενώ στο έδαφος κυμαίνεται από λίγους μήνες μέχρι αρκετά χρόνια. Η αβιοτική αποικοδόμηση μπορεί να απομακρύνει το 2-20 % των ΠΑΥ με 2-3 δακτυλίους σε μολυσμένα εδάφη. Οι ΠΑΥ με 4 ή περισσότερους δακτυλίους είναι σταθεροί στο περιβάλλον αλλά συχνά είναι ισχυρά προσροφημένοι στην οργανική ύλη. Κατά την αποικοδόμηση της οργανικής ύλης ενδέχεται να σχηματιστούν οξειδωμένα παράγωγα τα οποία τείνουν να συμμετάσχουν σε βιοχημικές πορείες. Αντίδραση με οξείδια του αζώτου και νιτρικό οξύ στην ατμόσφαιρα μπορεί να σχηματίσει νιτρο- παράγωγα, τα οποία μπορούν να μολύνουν την τροφή.

Έτσι, ενώ οι πρόδρομες ενώσεις ενδέχεται να μην μπορούν να ανιχνευτούν στα τρόφιμα που είναι μολυσμένα με ΠΑΥ, τα προϊόντα αποικοδόμησής τους ή τα παράγωγά τους-ορισμένα από τα οποία είναι ιδιαίτερα τοξικά - ενδέχεται να είναι παρόντα.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. ΠΗΓΕΣ ΠΑΥ ΣΕ ΤΡΟΦΙΜΑ (European Commission 2002, IPCS 1998, Hughes et al.1993, IARC 1987).

Τα τρόφιμα ενδέχεται να έχουν μολυνθεί από περιβαλλοντικούς ΠΑΥ που είναι παρόντες στον αέρα (μόλυνση από απόθεση), στο έδαφος (μόλυνση από μεταφορά), στο νερό (απόθεση ή μεταφορά), ή που δημιουργούνται κατά την επεξεργασία και το μαγείρεμα του τροφίμου. Οι θαλάσσιοι οργανισμοί όπως και οι περισσότεροι ζωντανοί οργανισμοί έχουν μεγάλη ικανότητα βιο-μετατροπής των ΠΑΥ. Εξαιρέση αποτελούν τα δίθυρα μαλάκια τα οποία διηθούν μεγάλη ποσότητα θαλασσινού νερού και εξαιτίας της μικρής μεταβολικής τους ικανότητας απέναντι στους ΠΑΥ, ενδέχεται να τους συσσωρεύσουν.

Η επεξεργασία των φαγητών (όπως είναι το ψήσιμο και το κάπνισμα) και το μαγείρεμα σε υψηλές θερμοκρασίες (ψήσιμο, τηγάνισμα) είναι οι κυριότερες πηγές ΠΑΥ. Επίπεδα της τάξης των 200μg/kg τροφής βρέθηκαν για κάθε ΠΑΥ σε καπνιστό ψάρι και κρέας. Σε κρέας ψημένο σε μπάρμπεκιου, μετρήθηκαν 130μg/kg, ενώ οι μέσες τιμές υποβάθρου για κάθε ΠΑΥ σε μη μαγειρεμένα τρόφιμα κυμαίνονται από 0,01-1 μg/kg (European Commission 2002).

Σε περιοχές που είναι μακριά από αστικές και βιομηχανικές δραστηριότητες, τα επίπεδα των ΠΑΥ σε μη επεξεργασμένα τρόφιμα παρέχουν τη μόλυνση του υποβάθρου, από μεταφερόμενα αιωρούμενα σωματίδια ΠΑΥ από απόσταση που προέρχονται από ρύπανση και από φυσικές εκπομπές (ηφαίστεια και πυρκαγιές σε δάση).

2.1. Ανάπτυξη των ΠΑΥ κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας ή του μαγειρέματος τροφίμων

Ο τρόπος σχηματισμού των ΠΑΥ κατά τη διάρκεια των διαφόρων επεξεργασιών των τροφίμων δεν είναι επακριβώς γνωστός και είναι πιθανό να υπάρχουν αρκετοί μηχανισμοί σχηματισμού ΠΑΥ, όπως η πυρόλυση του λιωμένου λίπους καθώς αυτό πέφτει πάνω στην πηγή θερμότητας και η πυρόλυση των τροφίμων εξαιτίας του μαγειρέματος σε υψηλή θερμοκρασία (πάνω από 200°C).

Σύγκριση των επιπέδων ΠΑΥ σε φιλέτο πάπιας το οποίο υφίστανται διάφορες επεξεργασίες και τρόπους μαγειρέματος για 0,5 – 1,5 ώρες, έδειξε ότι δείγματα χωρίς δέρμα ψημένα στα κάρβουνα περιείχαν το υψηλότερο επίπεδο ολικών ΠΑΥ (320 μg/kg), ακολουθούμενα από κρέας με δέρμα ψημένο στα κάρβουνα (300 μg/kg), καπνισμένα (210

μg/kg), ψημένα (130 μg/kg), στον ατμό(8.6 μg/kg) και αρωματισμένα με άρωμα καπνού (0.3 μg/kg) (European Commission 2002).

Μόλυνση του νερού ενδέχεται να οδηγήσει στην πρόσληψη ΠΑΥ μέσω του πόσιμου νερού ή των μαγειρεμένων τροφίμων. Τα επίπεδα αυτά είναι συνήθως κάτω από 1 mg/L πόσιμου νερού ωστόσο αυτά μπορούν να αυξηθούν αν χρησιμοποιούνται δεξαμενές φύλαξης ή σωλήνες ύδρευσης με επικάλυψη ασφάλτου ή πίσσας.

2.1.1. Φαγητό ψημένο στα κάρβουνα

Ο σχηματισμός ΠΑΥ κατά τη διάρκεια του ψησίματος στα κάρβουνα έχει βρεθεί ότι εξαρτάται από το περιεχόμενο του κρέατος σε λίπος, τη διάρκεια του μαγειρέματος και τη χρησιμοποιούμενη θερμοκρασία. Για παράδειγμα ένα ξεροψημένο στα κάρβουνα αρνίσιο λουκάνικο περιέχει συνολική ποσότητα από έξι ΠΑΥ (που θεωρούνται από το IARC ως καρκινογόνοι) 14 μg/kg (European Commission 2002).

Η παρουσία ΠΑΥ μελετήθηκε σε αρκετά δείγματα κρέατος και ψαριού που ψήθηκαν σε δύο μπάρμπεκιου αερίου με διαφορετική γεωμετρία. Σε αντίθεση με το οριζόντιο μπάρμπεκιου, το κατακόρυφο εμποδίζει την πτώση του λίπους πάνω στην πηγή θερμότητας και τα επίπεδα των ΠΑΥ ήταν 10-30 φορές χαμηλότερα από αυτά στο οριζόντιο σύστημα.

2.1.2. Καπνιστά τρόφιμα

Τα στοιχεία που έχουν δημοσιευτεί για την παρουσία των ΠΑΥ σε καπνιστά τρόφιμα ποι κίλουν σε μεγάλο βαθμό. Ο κύριος λόγος για την ασυμφωνία που παρατηρείται είναι οι διαφορές στον τρόπο καπνίσματος. Οι διαφορές αυτές περιλαμβάνουν τον τύπο και τη σύνθεση του ξύλου, τον τύπο της γεννήτριας (εσωτερικής ή εξωτερικής), την επάρκεια οξυγόνου, τη θερμοκρασία του καπνίσματος και τη διάρκειά του.

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 12 ΠΑΥ που μετρήθηκαν, σε σχέση με ιχθυηρά που καπνίστηκαν σε παραδοσιακές εγκαταστάσεις καπνίσματος, όπου ο καπνός παράγεται σε άμεση επαφή με το προϊόν (European Commission 2002).

Συγκεκριμένα, η μέση περιεκτικότητα των ιχθυηρών σε βενζο(α)πυρένιο ήταν για το παραδοσιακό κάπνισμα 1.2 μg/kg ενώ για τις σύγχρονες εγκαταστάσεις καπνίσματος 0.1 μg/kg.

Η πρόσληψη ΠΑΥ μπορεί να προέρχεται επίσης από τη χρήση αρωμάτων καπνού στα τρόφιμα.

2.1.3. Φυτικά έλαια

Τα φυτικά έλαια και τα λίπη 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 όπως είναι τα προϊόντα με βάση τα δημητριακά, τα μπισκότα και οι πίτες.

Η παρουσία ΠΑΥ σε φυτικά έλαια (συμπεριλαμβανομένου και του ελαίου από υπολείμματα ελιάς) οφείλεται κυρίως στις διαδικασίες ξήρανσης των καρπών, κατά τις οποίες τα αέρια της καύσης ενδέχεται να έρθουν σε επαφή με τους καρπούς. Τα επίπεδα ΠΑΥ σε ανεπεξέργαστα βρώσιμα έλαια ποικίλουν σε μεγάλο βαθμό και το ραφινάρισμα (απόσμηση) μειώνει τη συγκέντρωση των ενώσεων χαμηλού Μ.Β. όπως είναι το φθορανθένιο, ενώ δεν έχει παρατηρηθεί το ίδιο και για τους υψηλού Μ.Β. ΠΑΥ. Το επίπεδο των τελευταίων ενδέχεται να μειωθεί μετά από επεξεργασία με ενεργό άνθρακα. Αυτή η μέθοδος καθαρισμού χρησιμοποιείται ευρέως.

2.1.4. Καφές, τσάι (European Commission 2002, IPCS 1998).

Το καβούρδισμα και η ξήρανση των κόκκων του καφέ και των φύλλων του τσαγιού αυξάνει το επίπεδο των ΠΑΥ. Σύμφωνα με μία φινλανδική μελέτη ο καβουρδισμένος αλεσμένος καφές και τα αποξηραμένα φύλλα τσαγιού περιέχουν υψηλά επίπεδα ΠΑΥ, 100-200 $\mu\text{g/kg}$ και 480-1400 $\mu\text{g/kg}$ αντίστοιχα. Ωστόσο, ΠΑΥ δεν έχουν ανιχνευτεί σε ροφήματα τσαγιού ή καφέ. Άλλες μελέτες έδειξαν ότι η περιεκτικότητα σε ΠΑΥ παρασκευασμάτων καφέ ανέρχεται μόλις σε λίγα mg/L .

2.1.5. Ανθρώπινο γάλα (European Commission 2002, IPCS 1998).

Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε στη Γερμανία το 1984 σε ανθρώπινο γάλα βρέθηκαν ΠΑΥ σε συγκεντρώσεις που κυμαίνονταν από 5-15 mg/kg γάλακτος. Το βενζο(α)πυρένιο ανιχνεύτηκε σε συγκέντρωση 6.5 mg/kg (δεν είναι γνωστός ο αριθμός των δειγμάτων).

Σε μία αυστριακή μελέτη, το βενζο(α)πυρένιο δεν ανιχνεύτηκε σε κανένα από τα 41 δείγματα ανθρώπινου γάλακτος από την περιοχή Τυρόλο (όριο ανίχνευσης 0,1-1 $\mu\text{g/kg}$).

2.2. Μέτρα για τη μείωση της μόλυνσης των τροφίμων με ΠΑΥ (European Commission 2002).

Η ποσότητα των ΠΑΥ που σχηματίζονται κατά τη διάρκεια του μαγειρέματος ή της επεξεργασίας των τροφίμων εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τις συνθήκες που επικρατούν. Η άμεση επαφή των καρπών ελαίων ή δημητριακών με τα προϊόντα της καύσης πρέπει να αποφεύγεται, καθώς έχει βρεθεί ότι οδηγεί στο σχηματισμό ΠΑΥ.

Απλές πρακτικές όπως η προτίμηση φτωχών σε λίπος κρεάτων και ιχθυηρών, η αποφυγή επαφής των τροφίμων με τις φλόγες κατά τη διάρκεια του ψήσιματος, η χρήση μικρότερης ποσότητας λίπους στο ψήσιμο, και το μαγείρεμα σε χαμηλότερη θερμοκρασία για περισσότερο χρόνο, έχουν ως αποτέλεσμα τη σημαντική μείωση της μόλυνσης των τροφίμων με ΠΑΥ. Το ψήσιμο με την πηγή θερμότητας να βρίσκεται από πάνω μπορεί να μειώσει σημαντικά τα επίπεδα των ΠΑΥ. Το λίπος δεν πρέπει να πέφτει πάνω σε ανοιχτή φωτιά για να μη μεταφέρονται στο τρόφιμο ΠΑΥ από τους δημιουργούμενους καπνούς.

Η χρήση χαμηλής έως μέτριας φωτιάς και η απομάκρυνση του κρέατος από την πηγή θερμότητας μπορούν να μειώσουν σημαντικά το σχηματισμό ΠΑΥ.

Το πόσο νόστιμο είναι ένα φαγητό δε συνδέεται απαραίτητα με πόσο ξεροψημένο είναι. Έτσι δεν είναι απαραίτητο να ξεροψήνονται τα φαγητά για να γίνουν νόστιμα. Ωστόσο, το μαγείρεμα δεν πρέπει να παραλείπεται ποτέ, γιατί εκτός των άλλων συμβάλει και στην αδρανοποίηση βακτηρίων και ενδογενών τοξινών που ενδεχομένως υπάρχουν στο τρόφιμο.

Η μόλυνση με ΠΑΥ των καπνιστών τροφίμων μπορεί να μειωθεί σημαντικά με την αντικατάσταση του άμεσου καπνίσματος (όπου ο καπνός παράγεται στο θάλαμο καπνίσματος, στα παραδοσιακά εργοστάσια καπνιστών προϊόντων) με το έμμεσο κάπνισμα. Το τελευταίο γίνεται από μία εξωτερική γεννήτρια καπνού η οποία λειτουργεί αυτόματα κάτω από αυστηρά ελεγχόμενες συνθήκες σε σύγχρονες βιομηχανοποιημένες εγκαταστάσεις καπνίσματος.

Επίσης η χρήση των αρωμάτων καπνού θεωρείται σε γενικές γραμμές ότι προκαλεί μικρότερη μόλυνση με ΠΑΥ από την παραδοσιακή διαδικασία καπνίσματος. Το άρωμα καπνού (γνωστό επίσης και ως «υγροποιημένος καπνός») παράγεται από συμπυκνωμένο καπνό ο οποίος διαχωρίζεται σε κλάσματα και καθαρίζεται για την απομάκρυνση των περισσότερων ΠΑΥ.

Η κηρώδης επιφάνεια των λαχανικών και των φρούτων μπορεί να συγκεντρώσει ΠΑΥ μικρού Μ.Β. κυρίως μέσω της προσρόφησης στην επιφάνειά τους. Οι συγκεντρώσεις των ΠΑΥ

είναι σε γενικές γραμμές μεγαλύτερες στην επιφάνεια του φυτού (φλοιός, εξωτερικά φύλλα) από ότι στα εσωτερικά τμήματα αυτού.

Συμπερασματικά, το πλύσιμο ή το ξεφλούδισμα μπορεί να μειώσει σε σημαντικό ποσοστό το σύνολο των ΠΑΥ. Σωματίδια που περιέχουν υψηλού Μ.Β. ΠΑΥ και τα οποία παραμένουν στην επιφάνειά τους μπορούν εύκολα να απομακρυνθούν με το πλύσιμο, ενώ οι μικρού Μ.Β. ενώσεις, οι οποίες βρίσκονται στην αέρια φάση μπορούν να διαπεράσουν την κηρώδη επιφάνεια των φρούτων και των λαχανικών και η απομάκρυνσή τους με το νερό δεν είναι αποτελεσματική.

Κατά συνέπεια, τα φυτά με μεγάλα φύλλα, τα βοοειδή και τα πουλερικά που μπορεί να προσλάβουν σωματιδιακή ύλη από το έδαφος μέσω της τροφής τους υπόκεινται σε μόλυνση από τους ΠΑΥ που είναι προσροφημένοι στη σωματιδιακή ύλη.

2.3. Σχετικές συγκεντρώσεις των ΠΑΥ στα τρόφιμα (σχετικές αναλογίες των ΠΑΥ στα τρόφιμα ως προς το BaP) (European Commission 2002).

Η σύγκριση των αποτελεσμάτων από τον προσδιορισμό ΠΑΥ σε διάφορες ομάδες τροφίμων και από διαφορετικές έρευνες καθίσταται ιδιαίτερα δύσκολη λόγω των διαφορετικών ομάδων ΠΑΥ που επιλέγονται. Για το λόγο αυτό η Ευρωπαϊκή Επιτροπή πρότεινε τη χρήση του βενζο(α)πυρενίου, ενός ΠΑΥ που σχεδόν πάντα προσδιορίζεται σε κάθε ανάλυση, ως δείκτη για το επίπεδο των ΠΑΥ στα τρόφιμα.

Γι' αυτό το λόγο εξετάστηκε η σχετική συγκέντρωση των ΠΑΥ σε σχέση με το βενζο(α)πυρένιο σε διάφορα τρόφιμα. Η σχετική αυτή συγκέντρωση προέρχεται από αντιπροσωπευτικές μελέτες που συλλέχθηκαν από τη βιβλιογραφία.

Σαν σχετική συγκέντρωση θεωρήθηκε ο λόγος ανάμεσα σε κάποιον ΠΑΥ και στο βενζο(α)πυρένιο ([ΠΑΥ/BaP]). Για κάθε μεμονωμένο ΠΑΥ η αναλογία ανάμεσα στη μέγιστη και την ελάχιστη τιμή [ΠΑΥ/BaP] ελήφθη ως δείκτης για τη μέγιστη διακύμανση του λόγου σε διάφορα τρόφιμα.

Επίσης για να εξεταστεί αν είναι δυνατή η διάκριση των σχετικών συγκεντρώσεων των ΠΑΥ από διαφορετικές πηγές, έγινε επιλογή και σύγκριση δύο υπό-ομάδων τροφίμων: Αυτών για τα οποία η μόλυνση με ΠΑΥ θεωρείται ότι προέρχεται μόνο από τον ατμοσφαιρικό αέρα και αυτών στα οποία οι ΠΑΥ σχηματίζονται κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας τους.

Τα συμπεράσματα που συνάχθηκαν από τις μελέτες για τη διακύμανση του λόγου [ΠΑΥ]/[BaP] είναι τα ακόλουθα:

✓ Οι ΠΑΥ με το μικρότερο μοριακό βάρος, δηλ. αυτοί με τρεις και τέσσερις δακτυλίους (φθορένιο, ανθρακένιο, φαινανθρένιο, φθορανθένιο και πυρένιο) έδειξαν σημαντικά μεγαλύτερη διακύμανση από τους υψηλότερου μοριακού βάρους ΠΑΥ.

✓ Η διακύμανση για σχεδόν όλους τους ΠΑΥ με το μεγαλύτερο MB (από το βενζοφθορένιο και άνω) ήταν γύρω στον παράγοντα 10, όταν χρησιμοποιούνταν τα δεδομένα από όλες τις πηγές χωρίς καμία επεξεργασία. Ωστόσο, η διακύμανση οφείλεται σε σημαντικό ποσοστό στις διαφορετικές αναλυτικές διαδικασίες που χρησιμοποιήθηκαν στις διάφορες έρευνες και στην πιθανή μικρή ακρίβεια σε κάποιες αναλύσεις και/ή για ορισμένους ΠΑΥ.

✓ Η διακύμανση ελαττώθηκε σημαντικά μετά από απόρριψη των δεδομένων που αποκλίνουν (10% των δεδομένων). Όσον αφορά στις τιμές των καρκινογόνων ΠΑΥ (βενζο(α)ανθρακένιο, βενζο(β)φθορανθένιο, βενζο(κ)φθορανθένιο, βενζο(ι)φθορανθένιο, ινδενο(1,2,3-γδ)πυρένιο, διβενζο(α,η)ανθρακένιο), οι σχετικές τους συγκεντρώσεις σε διάφορα τρόφιμα εμφάνισαν διακύμανση μέχρι έναν παράγοντα 5.

✓ Όταν η σύγκριση των σχετικών συγκεντρώσεων σε διάφορα τρόφιμα βασιζόταν σε αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν στο ίδιο εργαστήριο με την ίδια μέθοδο, οι διακυμάνσεις για τους υψηλού MB ΠΑΥ ήταν μέχρι έναν παράγοντα 5.

✓ Η μέση σχετική συγκέντρωση των μετρηθέντων καρκινογόνων ΠΑΥ (βενζο(α)ανθρακένιο, βενζο(β)φθορανθένιο, βενζο(κ)φθορανθένιο, βενζο(ι)φθορανθένιο, ινδενο(1,2,3-γδ)πυρένιο, διβενζο[α,η]ανθρακένιο) σε τρόφιμα ήταν παρόμοια με αυτό που μετρείται στα καυσαέρια κλιβάνων κοκ και στον αστικό αέρα (διακυμάνσεις μέχρι έναν παράγοντα 2).

✓ Η μέση σχετική συγκέντρωση των μετρηθέντων καρκινογόνων ΠΑΥ στα τρόφιμα είναι επίσης παρόμοια με αυτή στην ασφάλτο, με διακυμάνσεις μίας τάξης μεγέθους. Συγκεκριμένα, για τους καρκινογόνους ΠΑΥ, η αναλογίες ανάμεσα στις τιμές ΠΑΥ/BaP στην ασφάλτο και στα τρόφιμα (μέσες τιμές) κυμαίνονται από 0,5-1,1.

✓ Όταν έγινε σύγκριση ανάμεσα στα επεξεργασμένα τρόφιμα, σε τρόφιμα μολυσμένα μόνο εξαιτίας της απόθεσης ΠΑΥ και σε όλα τα τρόφιμα, παρατηρήθηκαν παρόμοιες σχετικές συγκεντρώσεις εκτός από το ανθρακένιο και το φαινανθρένιο που βρίσκονται σε μεγαλύτερη αφθονία στα επεξεργασμένα τρόφιμα. Όσον αφορά στους μετρηθέντες καρκινογόνους ΠΑΥ, οι

σχετικές συγκεντρώσεις είναι παρόμοιες και οποιεσδήποτε διαφορές κυμαίνονται μέχρι έναν παράγοντα 2.

Φαίνεται λοιπόν πως το βενζο(α)πυρένιο μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης των υψηλού MB ΠΑΥ (από το βενζοφθορένιο και πάνω) στα τρόφιμα. Ωστόσο το βενζο(α)πυρένιο δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης για χαμηλού MB ΠΑΥ.

2.4. Εκτιμήσεις πρόσληψης ΠΑΥ

Η πιο πρόσφατη μελέτη για την πρόσληψη ΠΑΥ σε ευρωπαϊκό επίπεδο έγινε το 2004 και σε αυτή συμμετείχαν 14 χώρες, μεταξύ των οποίων και η Ελλάδα (13 Κράτη Μέλη και η Νορβηγία) (European Commission 2004). Λόγω σημαντικών διαφορών στις ομάδες τροφίμων που εξετάστηκαν, στους ΠΑΥ που μετρήθηκαν, στις αναλυτικές τεχνικές που χρησιμοποιήθηκαν και στα επίπεδα εμπιστοσύνης στην έκφραση των αποτελεσμάτων από διαφορετικά εργαστήρια, τα πορίσματα της μελέτης είναι μόνο ενδεικτικά και πρέπει να αξιολογούνται με ιδιαίτερη προσοχή. Σημειώνεται επίσης ότι από τη μελέτη απουσιάζει μία σημαντική πηγή πρόσληψης ΠΑΥ, το μαγειρεμένο ή ψητό κρέας ή ψάρι.

Τα υψηλότερα επίπεδα BaP βρέθηκαν στα αποξηραμένα φρούτα (48,10 $\mu\text{g/Kg}$ υγρού βάρους), το πυρηνέλαιο από πυρήνα ελιάς (17,7 $\mu\text{g/Kg}$), τα καπνιστά ψάρια (5,28 $\mu\text{g/Kg}$), το γιγαρτέλαιο (4,2 $\mu\text{g/Kg}$), τα καπνιστά κρεατοσκευάσματα (3,27 $\mu\text{g/Kg}$), τα φρέσκα μύδια (3,09 $\mu\text{g/Kg}$) και τα μπαχαρικά/σάλτσες και αρτύματα (2,16 $\mu\text{g/Kg}$).

Ο ΠΑΥ που μετρήθηκε στο 99% των δειγμάτων ήταν το BaP και το 80% των δειγμάτων που εξετάστηκαν (επί συνόλου 8.861 δειγμάτων) ανήκε στις εξής 5 ομάδες τροφίμων: αλλαντικά (27%), φυτικά έλαια (24%), ιχθυρά και προϊόντα αυτών (13%), νερά (εξαιρουμένου του νερού της βρύσης) (11%) και κρέας (6%).

Με βάση τα διαθέσιμα στοιχεία από 11 από τις 13 χώρες που έδωσαν στοιχεία πρόσληψης τροφίμων, η εκτιμώμενη μέση ημερήσια πρόσληψη BaP για έναν Ευρωπαίο ενήλικα κυμαίνεται από 14 – 320 $\text{ng}/\text{άτομο}/\text{ημέρα}$. Ωστόσο, όπως προαναφέρθηκε οι τιμές αυτές είναι μόνο ενδεικτικές και δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων.

Σημειώνεται πως το έτος 2006 η Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων (EFSA) συνέλεξε στοιχεία από διάφορες Ευρωπαϊκές χώρες (και από Ελλάδα και συγκεκριμένα από το εργαστήριο της Διεύθυνσης Τροφίμων του Γενικού Χημείου του Κράτους) προκειμένου

να δημιουργήσει μία ευρωπαϊκή βάση δεδομένων για την περιεκτικότητα διαφόρων τροφίμων σε συγκεκριμένους ΠΑΥ.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΤΗΣ ΝΟΜΟΘΕΣΙΑΣ

3.1. Ισχύουσα νομοθεσία για τους ΠΑΥ στα τρόφιμα

Η ισχύουσα νομοθεσία σήμερα για τους ΠΑΥ στα τρόφιμα είναι ο Καν. 1881/2006/ΕΚ (European Union 2006). Με τον Κανονισμό αυτό τίθενται ανώτατα όρια για το BaP, το οποίο χρησιμοποιείται ως δείκτης (σύμφωνα με τη σύσταση της SCF) σε διάφορα είδη τροφίμων. Συγκεκριμένα προβλέπονται τα εξής:

Πίνακας 3.1: Νομοθετικά όρια για το BaP.

Προϊόν	Μέγιστο επίπεδο BaP (µg/kg νωπού προϊόντος)
Έλαια και λίπη (εξαιρουμένου του βούτυρου κακάο) που προορίζονται για άμεση κατανάλωση από τον άνθρωπο ή για χρήση ως συστατικά σε τρόφιμα	2,0
Μεταποιημένα τρόφιμα με βάση τα δημητριακά και παιδικές τροφές για βρέφη και μικρά παιδιά	1,0
Παρασκευάσματα για βρέφη και παρασκευάσματα δεύτερης βρεφικής ηλικίας, συμπεριλαμβανομένου του γάλακτος για βρέφη και του γάλακτος δεύτερης βρεφικής ηλικίας	1,0
Διαιτητικά τρόφιμα για ειδικούς ιατρικούς σκοπούς που προορίζονται ειδικά για βρέφη	1,0
Καπνιστά κρέατα και καπνιστά προϊόντα με βάση το κρέας	5,0
Σάρκα καπνιστών ψαριών και καπνιστά προϊόντα αλιείας	

εξαιρουμένων των δίθυρων μαλακίων.	5,0
Σάρκα ψαριών, εκτός από τα καπνιστά ψάρια	2,0
Μαλακόστρακα, κεφαλόποδα, εκτός από τα καπνιστά.	5,0
Δίθυρα μαλάκια	10,0

Επίσης, σύμφωνα με τη σύσταση της Επιτροπής 2005/108/EK (European Union 2005) για περαιτέρω έρευνα σχετικά με τις τιμές των ΠΑΥ που έχουν επισημανθεί ως καρκινογόνοι από την SCF, γίνεται καταγραφή από τα Κράτη Μέλη των συγκεκριμένων ΠΑΥ σε διάφορα τρόφιμα.

Όσον αφορά στα αρώματα καπνού, ο Καν 2065/2003/EK (European Commission 2003) προβλέπει ανώτατο όριο για το βενζο(α)πυρένιο και για το βενζο(α)ανθρακένιο, 10 και 20 ppb αντίστοιχα.

3.2. Τροποποίηση Κανονισμού

Ο κανονισμός 835/2011/ΕΕ τροποποιεί τον Καν. 1881/2006/EK και θα ισχύει από 1/9/2012 (<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:215:0004:0008:EL:PDF>). Η πρώην επιστημονική επιτροπή για τα τρόφιμα, στη γνώμη της του Δεκεμβρίου του 2002, συνέστησε ότι θα ήταν αναγκαίες περαιτέρω αναλύσεις των σχετικών αναλογιών των εν λόγω ΠΑΥ σε τρόφιμα για μελλοντική επανεξέταση της καταλληλότητας της διατήρησης του βενζο[α]πυρένιου ως δείκτη.

Η επιστημονική ομάδα για τις μολυσματικές προσμείξεις στην τροφική αλυσίδα (CONTAM Panel) της EFSA ενέκρινε γνώμη για τους πολυκυκλικούς αρωματικούς υδρογονάνθρακες στα τρόφιμα στις 9 Ιουνίου 2008. Στη γνώμη αυτή, η EFSA κατέληξε στο συμπέρασμα ότι το βενζο[α]πυρένιο δεν είναι κατάλληλος δείκτης για την εμφάνιση πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων σε τρόφιμα και ότι ένα σύστημα τεσσάρων συγκεκριμένων ουσιών (ΠΑΥ 4) ή οκτώ συγκεκριμένων ουσιών (ΠΑΥ 8) θα ήταν οι πιο

κατάλληλοι δείκτες ΠΑΥ σε τρόφιμα. Η EFSA κατέληξε επίσης στο συμπέρασμα ότι ένα σύστημα οκτώ ουσιών (ΠΑΥ 8) δεν θα παρείχε μεγάλη προστιθέμενη αξία σε σύγκριση με ένα σύστημα τεσσάρων ουσιών (ΠΑΥ 4).

Βάσει των συμπερασμάτων της EFSA, το ισχύον σύστημα χρήσης βενζο[α]πυρενίου, ως του μοναδικού δείκτη για την ομάδα πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων, δεν μπορεί να διατηρηθεί. Συνεπώς είναι αναγκαία η τροποποίηση του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 1881/2006.

Όπως υποστηρίζει η EFSA, θα πρέπει να θεσπιστούν νέα μέγιστα επιτρεπτά επίπεδα για το άθροισμα τεσσάρων ουσιών (ΠΑΥ 4) (βενζο[α]πυρένιο, βενζο[α]ανθρακένιο, βενζο[b]φλουορανθένιο και χρυσένιο), ενώ διατηρείται παράλληλα ξεχωριστό μέγιστο επιτρεπτό επίπεδο για το βενζο[α]πυρένιο.

Το σύστημα αυτό θα εξασφαλίζει ότι τα επίπεδα ΠΑΥ σε 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 ΠΑΥ.

Το ξεχωριστό μέγιστο επιτρεπτό επίπεδο για το βενζο[α]πυρένιο, όπως αναφέρει στην τροποποίηση η EFSA, διατηρείται για να εξασφαλίσει τη συγκρισιμότητα προηγούμενων και μελλοντικών στοιχείων. Ύστερα από κάποιο χρόνο εφαρμογής της τροπολογίας αυτής και με βάση νέα στοιχεία που θα παραχθούν στο μέλλον, θα πρέπει να επανεξεταστεί η ανάγκη για διατήρηση ξεχωριστού μέγιστου επιτρεπτού επιπέδου για το βενζο[α]πυρένιο.

Σύμφωνα με την επιστημονική ομάδα, τα νέα στοιχεία σχετικά με την εμφάνιση ΠΑΥ δείχνουν ότι τα βασικά επίπεδα των ΠΑΥ είναι χαμηλότερα από ότι θεωρούνταν προηγουμένως σε ορισμένα βασικά προϊόντα τροφίμων. Τα μέγιστα επιτρεπτά επίπεδα βενζο[α]πυρενίου αναπροσαρμόστηκαν για να εκφράσουν πιο ρεαλιστικά χαμηλότερα βασικά επίπεδα σε νωπά και καπνιστά δίθυρα μαλάκια.

Τα στοιχεία για καπνιστά ψάρια και καπνιστό κρέας έδειξαν επίσης ότι είναι επιτεύξιμα χαμηλότερα μέγιστα επιτρεπτά επίπεδα. Καπνιστές σαρδελόρεγγες και κονσερβοποιημένες καπνιστές σαρδελόρεγγες διαπιστώθηκε ότι περιέχουν υψηλότερα επίπεδα ΠΑΥ από ότι άλλα καπνιστά ψάρια. Ειδικά μέγιστα επιτρεπτά επίπεδα θα πρέπει να θεσπιστούν για καπνιστές σαρδελόρεγγες και κονσερβοποιημένες καπνιστές σαρδελόρεγγες, ώστε να εκφράζουν αυτό που είναι επιτεύξιμο στα εν λόγω τρόφιμα.

Σύμφωνα με την επιτροπή, βρέθηκαν υψηλά επίπεδα ΠΑΥ σε ορισμένα είδη με βάση το κρέας που έχουν υποβληθεί σε θερμική επεξεργασία και σε προϊόντα με βάση το κρέας που έχουν υποβληθεί σε θερμική επεξεργασία τα οποία πωλούνται στον τελικό καταναλωτή. Τα εν λόγω επίπεδα μπορούν να αποφευχθούν εάν χρησιμοποιηθούν κατάλληλες συνθήκες επεξεργασίας και κατάλληλος εξοπλισμός. Κρίνεται συνεπώς σκόπιμο να θεσπιστούν μέγιστα επιτρεπτά επίπεδα ΠΑΥ στο κρέας και σε προϊόντα με βάση το κρέας που έχουν υποβληθεί σε διαδικασία θερμικής επεξεργασίας όπως είναι το ψήσιμο και το μάρμπεκιου.

Στον τροποποιημένο αυτό κανονισμό αναφέρεται επίσης ότι το βούτυρο κακάου περιέχει υψηλότερα επίπεδα ΠΑΥ από άλλα έλαια και λίπη. Αυτό οφείλεται κυρίως σε ακατάλληλες πρακτικές ξήρανσης του κακάου σε σπόρους και στο γεγονός ότι το βούτυρο του κακάου δεν μπορεί να διωλιστεί όπως τα λοιπά φυτικά έλαια και λίπη. Το βούτυρο του κακάου είναι παρόν στη σοκολάτα και σε άλλα προϊόντα κακάου που συχνά καταναλώνονται από παιδιά. Για το λόγο αυτό θεσπίστηκαν μέγιστα επιτρεπτά επίπεδα για ΠΑΥ σε κακάο και παράγωγα προϊόντα συμπεριλαμβανομένου επίσης του βουτύρου του κακάου.

Σύμφωνα με στοιχεία της επιτροπής, το έλαιο καρύδας περιέχει υψηλότερες ποσότητες ΠΑΥ4 από ότι άλλα φυτικά έλαια και λίπη. Αυτό οφείλεται στην αναλογικά υψηλότερη παρουσία βενζο[α]ανθρακένιου και χρυσένιου που δεν μπορούν να αφαιρεθούν εύκολα κατά τη δύλιση του ελαίου κοκοφοίνικα. Τα ειδικά μέγιστα επιτρεπτά επίπεδα για έλαιο κοκοφοίνικα θα πρέπει να οριστούν σε επίπεδα τόσο χαμηλά όσο είναι ευλόγως εφικτό και λαμβάνοντας υπόψη τις τρέχουσες τεχνολογικές δυνατότητες των χωρών παραγωγής.

Επίσης, όσον αφορά τα δημητριακά και τα λαχανικά, τα στοιχεία εμφάνισης σχετικά με ΠΑΥ, είναι ελάχιστα σύμφωνα με την επιστημονική ομάδα. Τα διαθέσιμα στοιχεία δείχνουν ότι τα δημητριακά και τα λαχανικά περιέχουν μάλλον χαμηλά επίπεδα ΠΑΥ. Τα χαμηλά επίπεδα που διαπιστώθηκαν δεν δικαιολογούσαν τον άμεσο ορισμό μέγιστων επιτρεπτών επιπέδων. Ωστόσο, η EFSA προσδιόρισε τα δημητριακά και τα λαχανικά ως ότι συμβάλλουν σημαντικά στην ανθρώπινη έκθεση λόγω της υψηλής κατανάλωσής τους. Συνεπώς, τα επίπεδα ΠΑΥ στις εν λόγω δύο ομάδες προϊόντων θα πρέπει να παρακολουθούνται περαιτέρω.

Επιπλέον, η EFSA διαπίστωσε υψηλά επίπεδα ΠΑΥ σε ορισμένα συμπληρώματα διατροφής. Ωστόσο, τα επίπεδα αυτά είναι μεταβλητά και εξαρτώνται από το συγκεκριμένο τύπο συμπληρωμάτων διατροφής. Απαιτούνται περαιτέρω στοιχεία για τα συμπληρώματα διατροφής

και θα πρέπει να συλλέγονται. Μόλις τα στοιχεία αυτά καταστούν διαθέσιμα, θα αξιολογηθεί η ανάγκη ορισμού μέγιστων επιτρεπτών επιπέδων για ΠΑΥ σε συμπληρώματα διατροφής.

Η επιτροπή καταλήγει, λέγοντας, πως πρέπει να δοθεί επαρκής χρόνος στα κράτη μέλη και στους υπευθύνους επιχειρήσεων τροφίμων προκειμένου να προσαρμοστούν στα μέγιστα επιτρεπτά επίπεδα που θεσπίζονται από τον παρόντα κανονισμό και πως η ημερομηνία εφαρμογής του παρόντος κανονισμού πρέπει να μετατεθεί. Συγκεκριμένα προβλέπονται τα εξής:

Πίνακας 3.2: Νέα Νομοθετικά όρια (<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:215:0004:0008:EL:PDF>)

Προϊόν	Μέγιστο επίπεδο BaP (μg/kg νωπού προϊόντος)	Άθροισμα βενζο[α]πυρενίου, βενζο[α]ανθρακενίου, βενζο[b]φλουορανθενίου και χρυσενίου (μg/kg)
Έλαια και λίπη (εξαιρουμένου του βούτυρου κακάο και του ελαίου κοκοφοίνικα) που προορίζονται για άμεση κατανάλωση από τον άνθρωπο ή για χρήση ως συστατικά σε τρόφιμα	2,0	10,0
Μεταποιημένα τρόφιμα με βάση τα δημητριακά και παιδικές τροφές για βρέφη και μικρά παιδιά	1,0	1,0
Παρασκευάσματα για βρέφη και παρασκευάσματα δεύτερης βρεφικής ηλικίας, συμπεριλαμβανομένου του γάλακτος για βρέφη και του γάλακτος δεύτερης βρεφικής ηλικίας	1,0	1,0
Διαιτητικά τρόφιμα για ειδικούς ιατρικούς σκοπούς που προορίζονται ειδικά για βρέφη	1,0	1,0

Καπνιστό κρέας και καπνιστά προϊόντα με βάση το κρέας	5,0 έως 31.8.2014 2,0 έως 1.9.2014	30,0 από την 1.9.2012 έως τις 31.8.2014 12,0 από 1.9.2014
Σάρκα καπνιστών ψαριών και καπνιστά προϊόντα αλιείας εξαιρουμένων των δίθυρων μαλακίων. Το μέγιστο επιτρεπτό επίπεδο για τα καπνιστά μαλακόστρακα εφαρμόζεται σε σάρκα από αποφύσεις και κοιλία. Στην περίπτωση καπνιστών καβουριών και καρκινοειδών μαλακοστράκων εφαρμόζεται στη σάρκα ψαριών από αποφύσεις.	5,0 έως 31.8.2014 2,0 από 1.9.2014	30,0 από την 1.9.2012 έως τις 31.8.2014 12,0 από 1.9.2014
Το έλαιο κοκοφοίνικα δεν προορίζεται για άμεση κατανάλωση από τον άνθρωπο ή για χρήση ως συστατικό τροφίμων.	2,0	20,0
Βάλανοι κακάου και παράγωγα προϊόντα.	5,0 από την 1.4.2013	35,0 από την 1.4.2013 έως τις 31.3.2015 30,0 μg/kg λίπος από την 1.4.2015
Καπνιστές σαρδελόρεγγες και κονσερβοποιημένες καπνιστές σαρδελόρεγγες, δίθυρα μαλάκια (νωπά, διατηρημένα με απλή ψύξη ή κατεψυγμένα, κρέας που έχει υποβληθεί σε θερμική επεξεργασία και προϊόντα με βάση το κρέας που έχουν υποβληθεί σε θερμική επεξεργασία τα οποία πωλούνται στον τελικό καταναλωτή.	5,0	30,0

Πολυκυκλικοί Αρωματικοί Υδρογονάνθρακες στα τρόφιμα

Δίθυρα μαλάκια	6,0	35,0
----------------	-----	------

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ, ΚΑΤΑΝΟΜΗ, ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΑΠΕΚΚΡΙΣΗ ΤΩΝ ΠΑΥ

4.1. Απορρόφηση μέσω της γαστρεντερικής οδού

Οι ΠΑΥ είναι λιποφιλικές ενώσεις, διαλυτές σε οργανικούς διαλύτες. Όπως και άλλες ξενοβιοτικές ουσίες, αναμένεται να διαλύονται εύκολα και να μεταφέρονται μέσω της εξωτερικής και της εσωτερικής μεμβράνης των λιποπρωτεϊνών των κυττάρων των θηλαστικών.

Η απορρόφηση των ΠΑΥ μελετήθηκε σε τρωκτικά και ανιχνεύσιμα επίπεδα ΠΑΥ (για την ακρίβεια παράγωγα των ΠΑΥ) βρέθηκαν σε όλα σχεδόν τα όργανα. Τα όργανα που είναι πλούσια σε λιπώδη ιστό λειτουργούν ως αποθήκες από τις οποίες οι ουσίες απελευθερώνονται με αργό ρυθμό. Υψηλά επίπεδα βρέθηκαν στον γαστρεντερικό σωλήνα ανεξάρτητα από την οδό της χορήγησης.

Η δημιουργία καρκίνου του μαστού σε ποντίκια από την κατ' επανάληψη ενδογαστρική χορήγηση 3-μεθυλ-χολανθρενίου αποτελεί μία έμμεση απόδειξη για την γαστρεντερική απορρόφηση των ΠΑΥ (Shay et al. 1949).

Άλλες πιο άμεσες μελέτες έδειξαν γρήγορη απορρόφηση του βενζο(α)πυρενίου που χορηγήθηκε ενδογαστρικά (Rees et al. 1971). Τα υψηλότερα επίπεδα του βενζο(α)πυρενίου βρέθηκαν στη θωρακική λέμφο περίπου 3-4 ώρες μετά τη χορήγηση. Θεωρήθηκε ότι το βενζο(α)πυρένιο απορροφάται από το βλεννογόνο υμένα και στη συνέχεια διαχέεται μέσω της εσωτερικής εντερικής επένδυσης. Η εντερική απορρόφηση των ΠΑΥ αυξάνεται με την παρουσία της χολής. Τα πειραματικά δεδομένα έδειξαν ότι ορισμένοι ΠΑΥ όπως το βενζο(α)πυρένιο και το 7,12 διμεθυλοβενζο(α)ανθρακένιο απορροφώνται σε μεγαλύτερο βαθμό από άλλους, όπως το ανθρακένιο και το πυρένιο, γεγονός που μπορεί να σχετιστεί με τις διαφορές διαλυτότητας σε υδατικό διάλυμα των ΠΑΥ που εξετάστηκαν.

Η σύνθεση της διαίτας επηρεάζει επίσης την εντερική απορρόφηση του χορηγούμενου βενζο(α)πυρενίου. Από τα συστατικά της διαίτας που μελετήθηκαν, το σογιέλαιο και η τριελαΐνη οδήγησαν στα υψηλότερα επίπεδα απορρόφησης του ^{14}C -βενζο(α)πυρενίου που χορηγήθηκε από το στόμα σε αρουραίους, ενώ η κυτταρίνη, η λιγνίνη, το ψωμί, οι νιφάδες ρυζιού και πατάτας εμποδίσαν την απορρόφηση (Kawamura et al. 1988). Τα πειραματικά δεδομένα δείχνουν ότι η βιοδιαθεσιμότητα των ΠΑΥ που προέρχονται από την τροφή κυμαίνεται από 20-50% και αυξάνεται με την αύξηση λιπόφιλων συστατικών στα τρόφιμα.

4.2. Κατανομή

Τα επίπεδα ΠΑΥ που βρέθηκαν σε διάφορους ιστούς τρωκτικών εξαρτώνται από την οδό χορήγησής τους, το χρόνο που μεσολαβεί από τη χορήγηση μέχρι την ανάλυση και την παρουσία ή απουσία επαγωγέων ή αναστολέων του μεταβολισμού των υδρογονανθράκων μέσα στον οργανισμό. Οι έρευνες έδειξαν ότι:

- (i) Ανιχνεύσιμα επίπεδα ΠΑΥ βρέθηκαν σε όλα σχεδόν τα όργανα των τρωκτικών.
- (ii) Όργανα που είναι πλούσια σε λιπώδη ιστό μπορούν να λειτουργήσουν ως αποθήκες από τις οποίες οι υδρογονάνθρακες απελευθερώνονται σταδιακά και
- (iii) Ο γαστρεντερικός σωλήνας περιέχει υψηλά επίπεδα υδρογονανθράκων και μεταβολιτών τους, ακόμα και όταν οι ΠΑΥ χορηγούνται από άλλες οδούς, ως αποτέλεσμα της κάθαρσης μέσω του βλεννογόνου ή της ηπατοχολικής απέκκρισης (Takahashi 1978, Mitchell 1982).

Μελέτες σε ποντίκια και αρουραίους που εγκυμονούσαν έδειξαν ότι οι ΠΑΥ (βενζο(α)πυρένιο, 7,12-διμεθυλ-βενζο(α)ανθρακένιο και 3-μεθυλοχολανθρένιο) κατανέμονταν σε μεγάλο βαθμό σε μητρικούς ιστούς και ήταν ανιχνεύσιμοι στα έμβρυα, γεγονός που σημαίνει ότι διαπερνούν τον πλακούντα (IPCS 1998).

Στα πλαίσια μίας μελέτης λήφθηκαν δείγματα γάλακτος, πλακούντα, μητρικού αίματος και αίματος από τον ομφάλιο λώρο από 24 γυναίκες και προσδιορίστηκαν σε αυτά επιλεγμένοι ΠΑΥ. Τα υψηλότερα επίπεδα βενζο(α)πυρενίου, διβενζο(a,c)ανθρακενίου και χρυσενίου παρατηρήθηκαν στο γάλα και το αίμα από τον ομφάλιο λώρο, ωστόσο μόνο στα μισά δείγματα βρέθηκαν ΠΑΥ, σε επίπεδα μόλις πάνω από το όριο ανίχνευσης (IPCS 1998, Madhavan et al. 1995). Το συμπέρασμα της μελέτης ήταν ότι τα αναπτυσσόμενα έμβρυα και τα νεογνήνητα παιδιά είναι εκτεθειμένα στους εν λόγω ΠΑΥ, ενδεχομένως μέσω της μητρικής διαίτας.

4.3. Απέκκριση

Οι μεταβολίτες των ΠΑΥ εκκρίνονται στα ούρα, τη χολή και τα κόπρανα. Από μελέτες σε αρουραίους, στους οποίους χορηγήθηκε ενδοφλεβίως επισημασμένο με ¹⁴C βενζο(α)πυρένιο, βρέθηκε ότι η χολή ήταν η κύρια οδός απέκκρισης (απέκκριση του 60% της δόσης που χορηγήθηκε, ενώ η απέκκριση στα ούρα ήταν 3%). Οι μεταβολίτες των ΠΑΥ που βρίσκονται στη χολή είναι ενωμένοι με γλυκουρονικό οξύ το οποίο υδrolύεται από τη γαστρεντερική μικροχλωρίδα (σημειώνεται ότι το γλυκουρονικό οξύ συζεύγνυται με τοξικές ουσίες στο ήπαρ προκειμένου να αποτοξινώσει τον οργανισμό και να τις απενεργοποιήσει) (IPCS 1998). Τα

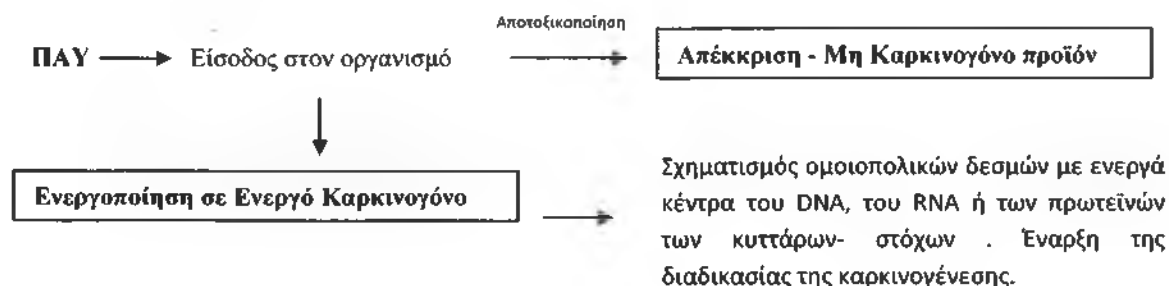
πειραματικά δεδομένα παρέχουν ισχυρά αποδεικτικά στοιχεία για εντεροηπατική κυκλοφορία (IPCS 1998).

Μεταβολίτες των ΠΑΥ με δύο ή τρεις δακτυλίους εκκρίνονται κυρίως στα ούρα, ενώ οι μεταβολίτες υψηλού μοριακού βάρους εκκρίνονται στα κόπρανα.

4.4. Μεταβολισμός

Ο μεταβολισμός των ΠΑΥ ακολουθεί τη γενική πορεία του μεταβολισμού των ξενοβιοτικών ουσιών που περιγράφηκε αρχικά από τον Williams (Williams 1959). Οι κυριότερες μέθοδοι για τη μελέτη του μεταβολισμού των μεγαλύτερων και πιο πολύπλοκων ΠΑΥ έγιναν με τη χρήση ηπατικών ομογενοποιήματων, μικροσωμάτων, καλλιιεργειών κυττάρων και μοσχευμάτων. Μελέτες σε ολόκληρα ζώα έγιναν για απλούστερες ενώσεις. Ο μεταβολισμός των ΠΑΥ μελετήθηκε επίσης σε έναν αριθμό ανθρωπίνων κυττάρων και ιστών.

Οι ΠΑΥ μεταβολίζονται στον οργανισμό δίνοντας πολικά προϊόντα που πρόκειται να αποβληθούν ή ενεργούς μεταβολίτες που μπορούν να προσδεθούν ομοιοπολικά στο DNA, όπως φαίνεται συνοπτικά στο ακόλουθο Σχήμα 4.1:



Σχήμα 4.1 : Γενικό σχήμα μεταβολισμού των ΠΑΥ σε ενεργούς και μη μεταβολίτες

Το συκώτι είναι το κύριο όργανο του μεταβολισμού των ΠΑΥ. Ωστόσο άλλα όργανα ενδέχεται να παίζουν σημαντικότερο ρόλο ανάλογα με την περιοχή εισόδου των ΠΑΥ στον οργανισμό. Στην περίπτωση πρόσληψης της τροφής από το στόμα, η μικροχλωρίδα του εντέρου και τα ένζυμα του πεπτικού συστήματος της ομάδας του κυτοχρώματος P450 μπορούν να συμβάλουν στο μεταβολισμό των ΠΑΥ.

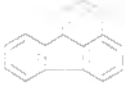
Ιδιαίτερη προσοχή δόθηκε στο μεταβολισμό των ΠΑΥ σε ανθρώπινους ιστούς οι οποίοι ενδέχεται να εκτίθενται σε υδρογονάνθρακες που είναι παρόντες σε τρόφιμα και στο περιβάλλον και οι οποίοι αποτελούν πιθανούς στόχους της καρκινογόνου δράσης τους. Ανάμεσα στα

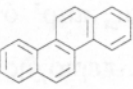
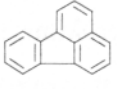
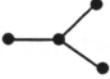
κύτταρα και τους ιστούς που εξετάστηκαν είναι ο βρόγχος, το παχύ έντερο, συσσωματώματα μαστικών κυττάρων, κερατινοκύτταρα, μονοκύτταρα και λεμφοκύτταρα. Ο μεταβολισμός των ΠΑΥ από ανθρώπινα πνευμονικά μακροφάγα έλαβε επίσης ιδιαίτερη προσοχή, γιατί θεωρήθηκε ότι ενδεχομένως να ευθύνεται, τουλάχιστον εν μέρει, για το μεγάλο ποσοστό βρογχικού καρκίνου σε καπνιστές. Τα μακροφάγα μπορούν να περιβάλλουν σωματιδιακή ύλη που φτάνει στην κατάληξη των αεροφόρων οδών του πνεύμονα και έτσι αναμένεται, ιδιαίτερα στους καπνιστές, να περιέχουν ΠΑΥ. Τα μακροφάγα και η περιβαλλόμενη σωματιδιακή ύλη μπορούν να μεταφερθούν στους βρόγχους όπου καρκινογόνες ουσίες, που σχηματίζονται από το μεταβολισμό μέσα στα μακροφάγα, μπορεί να τα εγκαταλείψουν και να εισέλθουν στα επιθηλιακά κύτταρα κατά μήκος του βρόγχου (Harris et al. 1978). Πρόκειται για έναν ελκυστικό θεωρητικό μηχανισμό ο οποίος εξηγεί το υψηλό ποσοστό της εμφάνισης όγκων στην αναπνευστική οδό, στους συνδέσμους του μεγάλου βρόγχου και ο οποίος υποστηρίζεται από πειραματικά δεδομένα.

4.5. Δομικά χαρακτηριστικά των ΠΑΥ που επηρεάζουν το μεταβολισμό τους (Ramesh et al. 2004).

Οι ΠΑΥ ταξινομούνται σε δύο ομάδες, *peri-* και *cata-* συμποκνωμένοι. Στους *peri-* συμποκνωμένους ΠΑΥ οι γραμμές των δακτυλίων ενώνουν τα κέντρα των δακτυλίων και σχηματίζουν κύκλους. Αποτελούνται από εξαμελείς δακτυλίους, μπορούν όμως να περιέχουν και ορισμένους πενταμελείς δακτυλίους.

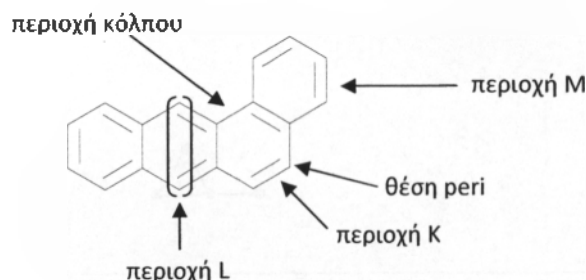
Στους *cata-* συμποκνωμένους ΠΑΥ οι γραμμές των δακτυλίων δεν σχηματίζουν κύκλους. Διακρίνονται σε διακλαδωμένους (θερμοδυναμικά πιο σταθεροί και χημικά λιγότερο δραστικοί από τους μη διακλαδωμένους του ίδιου μεγέθους) ή μη. Αποτελούνται εξ' ολοκλήρου από εξαμελείς δακτυλίους.

Παράγωγο	Συντακτικός τύπος	Σχήμα	Χαρακτηριστικά
<u>Peri – συμπτυκνωμένοι</u>			
Πυρένιο			κυκλικό
Φθορανθένιο			κυκλικό

<u>Cata- συμπτυκνωμένοι</u>			
Χρυσένιο			γραμμικό μη διακλαδισμένο
Τριφαινυλένιο			γραμμικό διακλαδισμένο

Σχήμα 4.2: Δομική ποικιλομορφία των ΠΑΥ.

Η δομή των ΠΑΥ καθορίζει τη βιολογική τους δράση. Η δομή του βενζο(α)ανθρακενίου, και του βενζο(α)πυρενίου δύο αντιπροσωπευτικών μορίων ΠΑΥ, στους οποίους φαίνονται διάφορες χαρακτηριστικές περιοχές απεικονίζονται στο Σχήμα 4.3.



Σχήμα 4.3: Διάφοροι τύποι δομής των ΠΑΥ με πρότυπα τους ΠΑΥ βενζο(α)ανθρακένιο και βενζο(α)πυρένιο

Η 'Κ' περιοχή ορίζεται ως η εξωτερική γωνία του τμήματος του φαινανθρενίου και είναι η περιοχή που εμφανίζει την υψηλότερη ηλεκτρονιακή πυκνότητα σε όλες τις δομές συντονισμού. Στην περιοχή αυτή που αντιστοιχεί στο δεσμό 4, του βενζο(α)πυρενίου, το μήκος του δεσμού C-C είναι μικρότερο (0,134-0,135 nm) από ό,τι των περισσότερων αρωματικών δεσμών (0,136-0,144 nm). Έχει προταθεί ως κανόνας, παρ' ότι υπάρχουν εξαιρέσεις (για τα βενζοφθορανθένια), η αναγκαιότητα της ύπαρξης Κ-περιοχής στο μόριο ενός καρκινογόνου ΠΑΥ.

Η 'L' περιοχή αποτελείται από ένα ζεύγος απέναντι ατόμων που το καθένα είναι σε θέση alpha ως προς δύο σημεία που συμμετέχουν σε δύο δακτυλίους (ring fusion points).

Η περιοχή του κόλπου (bay region) ορίζεται ως η ανοιχτή εσωτερική γωνία του τμήματος του φαινανθρενίου.

Η ακραία περιοχή του κόλπου (distal bay region) είναι επίσης γνωστή ως περιοχή 'Μ'.

Η peri- θέση αντιστοιχεί στο άτομο άνθρακα που βρίσκεται απέναντι από την περιοχή bay και παραπλεύρως του γωνιακού δακτυλίου.

Οι περιοχές του κόλπου, η L- και η K- είναι πολύ δραστικές και σε όλες μπορούν να σχηματιστούν εποξείδια.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5. ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΤΩΝ ΠΟΛΥΚΥΚΛΙΚΩΝ ΑΡΩΜΑΤΙΚΩΝ ΥΔΡΟΓΟΝΑΝΘΡΑΚΩΝ ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΟ

5.1. Οδοί έκθεσης σε ΠΑΥ

Οι ΠΑΥ βρίσκονται παντού στο αστικό περιβάλλον. Γι' αυτό τον λόγο οι άνθρωποι μπορούν να εκτεθούν σε ΠΑΥ μέσω (<http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/index.asp>) :

- της διαδικασίας της αναπνοής,

αναπνέοντας : α) αέρα κοντά σε βιομηχανίες που παράγουν πίσσα ή κάρβουνο, ή σε περιοχές που εφαρμόζεται πισσόστρωση ή καύση κάρβουνου,

β) τον καπνό του τσιγάρου,

γ) τον καπνό από καύση ξυλείας,

δ) τις εξατμίσεις των οχημάτων, ή

ε) αναθυμιάσεις από ασφαλοστρωμένους δρόμους όπως και αλλού.

- της κατανάλωσης τροφών,

καταναλώνοντας τρόφιμα (κυρίως κρέατα) που είναι ψημένα στη σχάρα, στον φούρνο ή τηγανισμένα σε υψηλές θερμοκρασίες και γενικά οποιαδήποτε τροφή στην οποία έχει γίνει εναπόθεση ΠΑΥ κατά την διάρκεια της παρασκευής ή της επεξεργασίας της (π.χ. καπνιστά τρόφιμα) (<http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/index.asp>).

- με την δερματική επαφή.

Υψηλά επίπεδα έκθεσης σε ΠΑΥ παρατηρούνται σε εργαζόμενους σε βιομηχανίες, μεταξύ άλλων, που ασχολούνται με την παραγωγή αλουμινίου, την παραγωγή κωκ, την παραγωγή καρβιδίων του ασβεστίου, σε θερμοηλεκτρικά εργοστάσια αλλά και σε εργαζόμενους που ασχολούνται με την κατασκευή πεζοδρομίων και μόνωση ταρατσών με πίσσα και σε εργαζόμενους που έχουν άμεση επαφή με αιθάλη όπως καπνοδοχοκαθαριστές. Η έκθεση σε βενζο(α)πυρένιο σε αυτές τις βιομηχανίες μπορεί να φτάσει και τα $100 \mu\text{g}/\text{m}^3$ σε αντίθεση με την έκθεση στον ατμοσφαιρικό αέρα, όπου η τυπική συγκέντρωση είναι λίγα νανογραμμάρια ανά κυβικό μέτρο αέρα. Τα υψηλότερα επίπεδα έκθεσης, μέσω της αναπνοής, σε βενζο(α)πυρένιο, που έχουν αναφερθεί, έχουν μετρηθεί στην βιομηχανία παραγωγής αλουμινίου κατά την χρησιμοποίηση της διαδικασίας Soderberg. Να σημειωθεί ότι τα

επίπεδα έκθεσης σε ΠΑΥ, σε μεγάλο βαθμό, εξαρτώνται από την βιομηχανία, τα εργασιακά καθήκοντα που εκτελούνται μέσα στην βιομηχανία από τον εργαζόμενο και την περίοδο έκθεσης (<http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/index.asp>).

Όσον αφορά τις επιπτώσεις των ΠΑΥ στον ανθρώπινο οργανισμό έχουν διεξαχθεί πολύ λίγες έρευνες. Παρ'όλα αυτά μπορούν από αυτές να εξαχθούν χρήσιμα συμπεράσματα (<http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/index.asp>).

Στη συνέχεια του κεφαλαίου γίνεται σύνοψη των επιπτώσεων συγκεκριμένων ΠΑΥ στον ανθρώπινο οργανισμό ανάλογα κάθε φορά με τον τρόπο έκθεσης σε αυτούς και την καρκινογόνο δράση των ΠΑΥ.

5.2. Επιπτώσεις αναλόγως της οδού έκθεσης

5.2.1. Έκθεση μέσω της αναπνοής

Τα συμπεράσματα μελετών που έχουν ως αντικείμενο τις επιπτώσεις που προκαλούνται στον ανθρώπινο οργανισμό ύστερα από εισπνοή ΠΑΥ δεν είναι σαφή διότι έχουν διεξαχθεί σε χώρους που είναι γνωστό ότι μεταξύ άλλων ρύπων παράγονται και ΠΑΥ. Έτσι μπορούν να βγουν συμπεράσματα μόνο για τη συμβολή των ΠΑΥ στις επιπτώσεις αυτές.

Στα συμπεράσματα μελέτης που έχει διεξαχθεί σε εργοστάσιο παραγωγής ελαστικών αναφέρεται ότι οι εργαζόμενοι στο τμήμα παραγωγής υλικών παρουσίασαν έντονα βρογχοαγγειακά προσφλήματα, σκιάσεις στους πνεύμονες, διάχυση του υγρού των πνευμόνων, πόνους στο στήθος, ερεθισμό στο λαιμό και βήχα (Gupta et al. 1993).

Όσον αφορά τις επιπτώσεις στο ανοσοποιητικό και λεμφοαγγειακό σύστημα των ΠΑΥ στον ανθρώπινο οργανισμό μελέτη που διεξήχθη σε άρρενες εργάτες που εργάζονταν σε χυτήριο σιδήρου της Πολωνίας έδειξε ότι εκτίθεντο σε υψηλές συγκεντρώσεις φλουορανθενίου, πυρενίου, περυλενίου, βενζο(α)πυρενίου, χρυσενίου, βενζο(α)ανθρακενίου, διβενζο[α,h]ανθρακενίου και βενζο[g,h,i]περυλενίου και εμφάνισαν μειωμένα επίπεδα σε ανοσοαιμοσφαιρίνη στον ορό. Ως σημείο αναφοράς θεωρήθηκε η έκθεση σε βενζο(α)πυρένιο και έδειξε ότι οι εργάτες που δούλευαν σε φούρνους κώκ εκτίθεντο σε 0,0002-0,50 mg/m³ βενζο(α)πυρενίου. Να σημειωθεί ότι οι εργάτες μεταξύ άλλων είχαν εκτεθεί σε διοξείδιο του θείου και μονοξείδιο του άνθρακα και πιστεύεται ότι αυτοί οι ρύποι επηρέασαν προσθετικά (Szczechlik et al. 1994).

Οι γενετοξικές επιπτώσεις που μπορούν να προκληθούν ύστερα από έκθεση μέσω της αναπνοής σε ΠΑΥ είναι πολύ σημαντικές για την υγεία του ανθρώπου. Ο υψηλός ρυθμός εμφάνισης καρκίνου σε γυναίκες στην πόλη Xuan Wei της Κίνας έχει συσχετιστεί με τη χρήση κάρβουνου σε σπίτια χωρίς εξαερισμό αλλά όχι με τη χρήση ξύλου ή άκαπνου κάρβουνου. Αυτή η μελέτη αποτίμησε τη δημιουργία τμημάτων DNA, στα οποία έχουν προσδεθεί ΠΑΥ (ΠΑΥ-DNA-προϊόντων) (PAH-DNA adducts) στον πλακούντα και στα λευκά αιμοσφαίρια (WBC) των γυναικών που χρησιμοποιούσαν κάρβουνο ή ξύλο και των γυναικών που κατοικούσαν στο Πεκίνο και χρησιμοποιούσαν φυσικό αέριο. Η ανθρώπινη έκθεση βασίστηκε στις συγκεντρώσεις του βενζο(α)πυρενίου. Οι γυναίκες στην πόλη Xuan Wei που χρησιμοποιούσαν κάρβουνο χωρίς καπνοδόχους εκτίθεντο σε μέσες συγκεντρώσεις 0,383 mg/m³ βενζο(α)πυρενίου, οι γυναίκες που χρησιμοποιούσαν κάρβουνο αλλά διέθεταν καπνοδόχους εκτίθεντο σε μέσες συγκεντρώσεις 0,184 mg/m³, ενώ στις γυναίκες που χρησιμοποιούσαν φυσικό αέριο δεν ανιχνεύτηκε έκθεση στο βενζο(α)πυρένιο. Ανίχνευση PAH-DNA προϊόντων βρέθηκαν στο 58% των πλακούντων των γυναικών της πόλης Xuan Wei που χρησιμοποιούσαν κάρβουνο χωρίς να διαθέτουν καπνοδόχο, στο 47% των γυναικών που διέθεταν καπνοδόχο και στο 5% των γυναικών του Πεκίνου που χρησιμοποιούσαν φυσικό αέριο. Τα δείγματα των WBC ήταν θετικά σε 7 από 9 γυναίκες με σπίτια χωρίς καπνοδόχους, σε 8 από 9 γυναίκες σε σπίτια με καπνοδόχους και σε 3 από 9 γυναίκες που κατοικούσαν στο Πεκίνο. Καμία σχέση δόσης αντίδρασης δεν παρατηρήθηκε μεταξύ των συγκεντρώσεων βενζο(α)πυρενίου του αέρα και των επιπέδων των ΠΑΥ-DNA προϊόντων. Παρ'όλα αυτά κάνοντας χρήση μίας φθορίζουσας χρωματικής εργαστηριακής ανάλυσης των δειγμάτων φάνηκε η σχέση μεταξύ της ανίχνευσης των ΠΑΥ προϊόντων στον πλακούντα και των πρακτικών μαγειρικής (Mumford et al. 1993).

Ούτε και στην περίπτωση της εμφάνισης καρκίνου έχει βρεθεί κάποια μελέτη που να δείχνει την εμφάνιση καρκίνου στον άνθρωπο μετά από έκθεση μέσω της αναπνοής σε κάποιον από τους 17 ΠΑΥ. Εν τούτοις υπάρχουν επιδημιολογικές μελέτες που δείχνουν αυξημένη θνησιμότητα λόγω του καρκίνου του πνεύμονα στους ανθρώπους που εκτίθενται σε εκπομπές από φούρνους που χρησιμοποιείται για καύσιμο το κώκ (Lloyd 1971, Mazumdar et al. 1975, Redmond et al. 1976), σε εκπομπές προερχόμενες από επίστρωση ταρτσών με πίσσα (Hammond et al. 1976) και στο κάπνισμα (MacIure et al. 1980, Wynder et al. 1967). Καθένα από τα παραπάνω μείγματα περιέχουν βενζο(α)πυρένιο, χρυσένιο,

βενζο(a)ανθρακένιο, βενζο(b)φλουορανθένιο και διβενζο[a,h]ανθρακένιο καθώς και άλλους δυνητικά καρκινογόνους ΠΑΥ και άλλες δυνητικές καρκινογόνες ενώσεις (παράγωγα των ΠΑΥ). Λόγω της ύπαρξης κι άλλων δυνητικά καρκινογόνων ενώσεων δεν μπορεί να υπολογιστεί η συνεισφορά του κάθε μεμονωμένου ΠΑΥ στη συνολική καρκινογενετικότητα αυτών των μειγμάτων στους ανθρώπους.

Τέλος όσον αφορά την πρόκληση θανάτου σε ανθρώπους ύστερα από έκθεση σε ΠΑΥ δεν έχει βρεθεί κάποια μελέτη που να καταλήγει σε αυτό το συμπέρασμα.

5.2.2. Έκθεση μέσω του στόματος

Όπως και στην προαναφερόμενη περίπτωση έτσι και σε αυτήν υπάρχουν πολύ λίγα δεδομένα από μελέτες που έχουν διεξαχθεί όσον αφορά τις επιπτώσεις που μπορεί να έχουν οι ΠΑΥ στον άνθρωπο. Δεν έχουν βρεθεί μελέτες που να αναφέρουν κάποιου είδους συστημικών επιπτώσεων στον άνθρωπο εκτός των γαστρεντερικών. Όσον αφορά τις γαστρεντερικές επιπτώσεις που προκαλούνται από τους ΠΑΥ στον άνθρωπο μόνο μία μελέτη αναφέρει, ότι άνθρωποι που καταναλώναν καθαρτικά που περιείχαν ανθρακένιο για μεγάλα χρονικά διαστήματα παρατηρήθηκε αύξηση συμβάντων εμφάνισης μελανωμάτων του τελικού τμήματος του παχέως εντέρου (κόλον) και του ορθού εντέρου σε σχέση με άλλους ασθενείς που δεν καταναλώναν τέτοιου είδους καθαρτικά. Παρ'όλα αυτά δεν υπήρξαν ξεκάθαρα συμπεράσματα λόγω περιορισμών της μελέτης (Badiali et al. 1985). Καμία μελέτη δεν έχει βρεθεί που να αναφέρει γενετοξικές επιπτώσεις ύστερα από έκθεση μέσω του στόματος σε κάποιον από τους 17 ΠΑΥ. Πειράματα που έγιναν σε αρσενικούς ποντικούς και αφορούσαν την πρόσδεση συστατικών της ανθρακόπισσας στο DNA τους (Weyland et al. 1991) έδειξαν υψηλά ποσοστά ΠΑΥ- προϊόντων στο DNA του πνεύμονα. Σε άλλο πείραμα ύστερα από χορήγηση βενζο(a)πυρενίου παρατηρήθηκαν γενετικές βλάβες στα περισσότερα από τα έμβρυα που κυοφορούνταν από ποντικούς (Harper et al. 1989).

Όσον αφορά τον καρκίνο καμία μελέτη δεν έχει βρεθεί που να αναφέρει την εμφάνιση καρκίνου στον άνθρωπο ύστερα από έκθεση σε κάποιον από τους 17 ΠΑΥ.

Σε μελέτες που έγιναν σε πειραματόζωα τα αποτελέσματα έδειξαν, ότι μετά από υψηλή μικρής διάρκειας έκθεση σε βενζο(a)ανθρακένιο παρουσιάστηκαν ηπατώματα και πνευματικά αδενώματα χωρίς όμως να παρουσιαστούν κακοήθεις όγκοι (Klein 1963). Το 77% των ποντικών που έλαβαν μία και μόνο δόση 50 mg βενζο(a)πυρενίου εμφάνισαν

ενενήντα εβδομάδες μετά τη χορήγηση όγκους στους μαστούς τους (McCormick et al. 1981). Μετά από μέσης διάρκειας έκθεση ποντίκια που τους χορηγήθηκαν διαφορετικές δόσεις ακεναφθένιου σε διάρκεια 13 εβδομάδων δεν έδειξαν ογκογένεση (U.S. Environmental Protection Agency 1989). Σε μία άλλη μελέτη που χορηγήθηκαν διαφορετικές ποσότητες ανθρακενίου για επίσης 13 εβδομάδες, δεν παρατηρήθηκε επίσης ογκογένεση (U.S. Environmental Protection Agency 1989).

5.2.3. Έκθεση μέσω του δέρματος

Μελέτες που αφορούν τις δερματικές επιπτώσεις των ΠΑΥ έχουν δείξει, ότι μείγματα καρκινογόνων ΠΑΥ δημιουργούν διαταραχές στο δέρμα ανθρώπων και ζώων, παρόλο που συγκεκριμένες επιπτώσεις έχουν αναφερθεί μόνο για το βενζο(α)πυρενίο. Αδενώδη ογκώματα έχουν αναφερθεί ύστερα από 120 δερματικές χορηγήσεις 1% βενζο(α)πυρενίου σε βενζόλιο σε ανθρώπους για πάνω από 4 μήνες (Cottini et al. 1939). Επίσης, δυσμενείς δερματικές επιπτώσεις έχουν παρατηρηθεί σε ανθρώπους που ακολουθούσαν μέσης διάρκειας δερματική έκθεση σε βενζο(α)πυρενίο και σε ασθενείς με προϋπάρχουσες δερματικές παθήσεις pemphigus vulgaris και xeroderma pigmentosum (Cottini et al. 1939).

Όσον αφορά τη γενετοξικότητα δεν υπάρχει καμία μελέτη όσον αφορά ανθρώπους. Σε μελέτη που έχει γίνει σε ποντίκια βρέθηκαν σημαντικά αυξημένες συχνότητες εμφάνισης κερατινοκυττάρων με μικροπυρήνες ύστερα από μία τοπική δόση βενζο(α)πυρενίου (0,5-500 μg/ποντίκι) ή χρυσενίου (50-1000 μg/ποντίκι) σε αυτά (He et al. 1991).

Τέλος όσον αφορά την καρκινογόνο δράση, καμία μελέτη δεν εντοπίζει άμεση σχέση μεταξύ της δερματικής έκθεσης ανθρώπων σε κάποιον ΠΑΥ και της πρόκλησης καρκίνου. Παρόλα αυτά υπάρχουν αναφορές εμφάνισης όγκων στο δέρμα σε ανθρώπους που εκτίθεντο σε μείγματα που περιείχαν ΠΑΥ και που οδήγησαν στην υποστήριξη της δυνατότητας εμφάνισης καρκίνου στους ανθρώπους με την παλαιότερη να είναι αυτή του Pott (1775) (Pott 1775) όπου ανέφερε καρκίνο του οσχέου σε εργάτες που δούλευαν ως καπνοδοκαθαριστές. Πιο πρόσφατα οι Purde και Etlin (Purde et al. 1980) ανέφεραν καρκίνο του δέρματος σε ανθρώπους που είχαν εκτεθεί μέσω του δέρματος σε κλάσματα πετρελαίου. Όμως αυτές οι αναφορές παρέχουν μόνο ενδείξεις σε σχέση με το ενδεχόμενο εμφάνισης καρκίνου στους ανθρώπους ύστερα από έκθεση σε κάποιους από τους κυριότερους ΠΑΥ που αναφέρονται στην παρούσα εργασία.

Το ανθρακένιο, το βενζο(α)πυρένιο, το χρυσένιο, το φλουορανθένιο, το φλουορένιο και το πυρένιο εξετάστηκαν ως προς την ικανότητα τους να προκαλούν την ενεργοποίηση μελανοκυττάρων μέσω τοπικής εφαρμογής σε ποντίκια για 1 ή 2 συνεχή ημέρες. Η επίδραση του βενζο(α)πυρενίου επαληθεύτηκε ύστερα από δόσεις 20-100 μg/ποντίκι. Το χρυσένιο, το οποίο είναι ασθενές καρκινογόνο (στα ζώα), αύξησε τον αριθμό των κυττάρων που αντιδρούν θετικά στην ιστολογική εξέταση Dora (ένδειξη δημιουργίας επιθηλιακών όγκων) ύστερα από χορήγηση 50 μg/ποντίκι. Άλλοι ΠΑΥ όπως είναι το ανθρακένιο, το φλουορανθένιο, το φλουορένιο και το πυρένιο ΠΑΥ δηλαδή που δεν θεωρούνται καρκινογόνοι, δεν παρήγαγαν κάποια αύξηση στον αριθμό των ενεργών μελανοκυττάρων όταν χορηγήθηκε 200 μg/ποντίκι (Iwata et al. 1981).

Ολοκληρωμένες μελέτες καρκινογένεσης πάνω σε πειραματόζωα έδειξαν, ότι τα μεγαλομοριακά βενζο(α)ανθρακένιο, βενζο(b)φλουορανθένιο, βενζο(k)φλουορανθένιο, βενζο(j)φλουορανθένιο, βενζο(a)πυρένιο, χρυσένιο, διβενζο[a,h]ανθρακένιο και ινδένο[1,2,3-c,d]πυρένιο προκαλούν όγκους στο δέρμα, δηλαδή είναι πλήρως καρκινογόνα ύστερα από μέσης διάρκειας έκθεση σε αυτά (Wynder et al. 1959; 1967, Bingham et al. 1969, Warshawsky et al. 1993, Yamagiwa et al. 1918, Albert et al. 1991, Cavalieri et al. 1988). Τα χαμηλού μοριακού βάρους ανθρακένιο, φλουορανθένιο, φλουορένιο, φαινανθρένιο και πυρένιο δεν δρουν σαν καρκινογόνα (Kennaway 1924, Warshawsky et al. 1993, Habs et al. 1980, Horton et al. 1974).

5.3. Τοξικότητα των ΠΑΥ

Οι ΠΑΥ μπορούν να προκαλέσουν πλήθος οικοτοξικολογικών επιπτώσεων σε όλο το φάσμα της χλωρίδας και της πανίδας ενός συστήματος, όπως είναι οι μικροοργανισμοί, τα φυτά, οι υδάτινοι οργανισμοί, τα αμφίβια, τα ερπετά, τα πτηνά και τα χερσαία θηλαστικά (Delistraty 1997). Οι επιπτώσεις αφορούν την επιβίωση, την ανάπτυξη, το μεταβολισμό και το σχηματισμό όγκων στους οργανισμούς, δηλαδή, την πρόκληση οξείας τοξικότητας, αναπτυξιακής και αναπαραγωγικής τοξικότητας, κυτοτοξικότητας, γενοτοξικότητας και καρκινογένεση. Παρόλα αυτά το βάρος της τοξικολογικής έρευνας που αφορά τους ΠΑΥ έχει δοθεί στην γενοτοξικότητα και την καρκινογένεση.

Στις μελέτες που έχουν γίνει έχει καταδειχθεί η ικανότητα των ΠΑΥ να προκαλούν βλάβη στο DNA και μεταλλάξεις, οι οποίες σε κάποιες περιπτώσεις μπορεί να οδηγήσουν σε καρκινογένεση.

Οι ΠΑΥ μπορούν να αλληλεπιδράσουν και σε άλλα βήματα της διαδικασίας της καρκινογένεσης. Για παράδειγμα μπορούν να προάγουν την κυτταρική εξάπλωση των ογκοκυττάρων (Delistraty 1997). Σαν ομάδα, οι ΠΑΥ εμφανίζουν ποικίλη ικανότητα να προκαλέσουν καρκίνο και είναι δύσκολο να αναγνωριστούν τα δομικά χαρακτηριστικά που έχουν σχέση με την καρκινογενετική τους δράση (Pickering 1999). Ωστόσο, έχει βρεθεί ότι για την καρκινογόνο δράση χρειάζονται ΠΑΥ με τουλάχιστον τέσσερις βενζοϊκούς δακτυλίους, χωρίς αυτό να σημαίνει ότι όλοι οι ΠΑΥ με τέσσερις δακτυλίους είναι καρκινογόνοι. Ορισμένοι από αυτούς είναι πολύ ασθενείς από αυτήν την άποψη, τη στιγμή που άλλοι ΠΑΥ συγκαταλέγονται στις περισσότερες καρκινογόνες ενώσεις που είναι γνωστές π.χ. βενζο(α)πυρένιο. Οι σχέσεις δομής-δραστηριότητας καθίστανται ακόμα πιο περίπλοκες, όταν εμφανίζεται αντικατάσταση μιας μοριακής δομής. Για παράδειγμα, παρόλο που το βενζο(α)ανθρακένιο είναι αρκετά ασθενής καρκινογόνος ένωση, παρόλα αυτά το 7,12-διμεθυλβενζο[α]ανθρακένιο θεωρείται ως ένα πολύ ισχυρό καρκινογόνο (Pickering 1999). Επιπλέον, ορισμένα προϊόντα των ΠΑΥ που παράγονται μέσω περιβαλλοντικού μετασχηματισμού, μπορούν να αντιδράσουν απευθείας με το DNA και να προκαλέσουν μεταλλάξεις και πιθανότατα καρκίνο χωρίς την ανάγκη της μεταβολικής ενεργοποίησης μέσα στο κύτταρο (Moller et al. 1985, Pitts et al. 1982). Ο Διεθνής οργανισμός έρευνας για τον καρκίνο έχει δημιουργήσει μία λίστα με ουσίες και μείγματα που κατηγοριοποιεί της χημικές ενώσεις αναλόγως της πιθανότητας να προκαλέσουν καρκίνο στον άνθρωπο. Στον πίνακα 5.1 παρουσιάζονται ορισμένοι ΠΑΥ οι οποίοι ανήκουν σε αυτή την κατηγορία (<http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/ClassificationsCASOrder.pdf>).

Πίνακας 5.1: Κατηγορίες των ΠΑΥ ως προς την καρκινογενετικότητα.

ΟΥΣΙΑ	ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ
Ναφθαλένιο	2B
Ακεναφθένιο	3
Φλουορένιο	3
Φαινανθρένιο	3

Ανθρακένιο	3
Φλουορανθένιο	3
Πυρένιο	3
Χρυσένιο	2B
Βενζο[a]ανθρακένιο	2B
Βενζο[b]φλουορανθένιο	2B
Βενζο[k]φλουορανθένιο	2B
Βενζο[a]πυρένιο	1
Ίνδενο[1,2,3-cd]πυρένιο	2B
Διβενζο(a,h)ανθρακένιο	2A
Βενζο[ghi]περυλένιο	3

ΣΗΜΕΙΩΣΕΙΣ

ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ 1 : ΚΑΡΚΙΝΟΓΟΝΟ ΓΙΑ ΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΟ

ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ 2A : ΠΙΘΑΝΟ ΚΑΡΚΙΝΟΓΟΝΟ ΓΙΑ ΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΟ

ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ 2B : ΕΝΔΕΧΟΜΕΝΩΣ ΚΑΡΚΙΝΟΓΟΝΟ ΓΙΑ ΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΟ

ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ 3 : ΜΗ ΤΑΞΙΝΟΜΗΜΕΝΟ ΩΣ ΚΑΡΚΙΝΟΓΟΝΟ ΓΙΑ ΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΟ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι ο ποσοτικός προσδιορισμός Πολυκυκλικών Αρωματικών Υδρογονανθράκων (ΠΑΥ) σε διάφορες ομάδες τροφίμων που ενδέχεται να περιέχουν ΠΑΥ: έλαια και λίπη, καπνιστά τρόφιμα (αλλαντικά, τυριά, ψάρια), βρεφικές τροφές, αποξηραμένα φρούτα. Οι ΠΑΥ που προσδιορίζονται είναι οι 15 ΠΑΥ που έχουν χαρακτηριστεί από την Επιστημονική Επιτροπή Τροφίμων της Ευρωπαϊκής Επιτροπής ως μεταλλαξιογόνοι / γονιδοτοξικοί και επιπλέον καρκινογόνοι (οι 14 από τους 15) και άλλοι 6 ΠΑΥ (συνολικά 21 ΠΑΥ).

Υπό την έννοια «Πολυκυκλικοί Αρωματικοί Υδρογονάνθρακες» εδώ νοούνται οι ακόλουθες ουσίες με τις αντίστοιχες συντμήσεις :

1	Φαινανθρένιο	PHE	12	Βενζο(k)φθορανθένιο	BKF
2	Ανθρακένιο	AN	13	Βενζο (a)πυρένιο	BAP
3	Φθορανθένιο	FAN	14	Διβενζο (a,l)πυρένιο	DalP
4	Πυρένιο	PYR	15	Διβενζο(a,h)ανθρακένιο	DahA
5	Βενζο(a)ανθρακένιο	BAA	16	Βενζο(g,h,i)περυλένιο	BghiP
6	Χρυσένιο	CHR	17	Ινδενο(1,2,3-cd)πυρένιο	IND
7	Κυκλοπεντανο(c,d)πυρένιο	CPP	18	Βενζο (a,e)πυρένιο	DaeP
8	5-Μέθυλοχρυσένιο	5MCHR	19	Βενζο (a,i)πυρένιο	DaiP
9	Βενζο(j)φθορανθένιο	BJF	20	Βενζο (a,h)πυρένιο	DahP
10	Βενζο(e)πυρένιο	BEP	21	Βενζο(b)χρυσένιο	B(b)CHR
11	Βενζο(b)φθορανθένιο	BBF			

Η ανάλυση των δειγμάτων έγινε στο εργαστήριο της Διεύθυνσης Τροφίμων του Γενικού Χημείου του Κράτους την περίοδο 2011-2012.

Η μέθοδος που εφαρμόζεται βασίζεται στη μέθοδο ISO 15753: 2006 (ISO Committee Draft ISO/FDIS 15753, Animal and vegetable fats and oils – Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (2004)). Ανάλογα με το υπόστρωμα εφαρμόζονται διαφορετικές μέθοδοι επεξεργασίας:

- **Μέθοδος F/O** : εφαρμόζεται σε υποστρώματα F/O (έλαια και λίπη) και στηρίζεται στον σταδιακό εμπλουτισμό της λιπαρής φάσης με ΠΑΥ με την διαδικασία εκχύλισης κατανομής υγρών φάσεων. Ακολουθεί καθαρισμός με τη βοήθεια εκχύλισης στερεάς φάσης και απομόνωση των ΠΑΥ.
- **Μέθοδος S** : εφαρμόζεται σε υποστρώματα S (τρόφιμα με περιεκτικότητα σε λίπος 1-95%, όπως αλλαντικά, τυρί, ψάρια, παιδικές τροφές, γάλα σε σκόνη, αλεσμένα δημητριακά) και στηρίζεται στην εκχύλιση των ασαπωνοποιήτων συστατικών (μεταξύ των οποίων και των ΠΑΥ) με τη βοήθεια κυκλοεξανίου. Ακολουθεί καθαρισμός με τη βοήθεια εκχύλισης στερεάς φάσης και απομόνωση των ΠΑΥ.
- **Μέθοδος DF** : εφαρμόζεται σε υποστρώματα DF (τρόφιμα με περιεκτικότητα σε λίπος μικρότερη του 1%, όπως αποξηραμένα φρούτα) και στηρίζεται στην εκχύλιση εν θερμώ με τη βοήθεια κυκλοεξανίου. Ακολουθεί καθαρισμός με τη βοήθεια εκχύλισης στερεάς φάσης και απομόνωση των ΠΑΥ.
- **Μέθοδος PE** : εφαρμόζεται σε πυρηνέλαια (pe) και στηρίζεται στην εκχύλιση των ασαπωνοποιήτων συστατικών (μεταξύ των οποίων και οι ΠΑΥ) με τη βοήθεια κυκλοεξανίου. Στη συνέχεια το υπόλειμμα που παραλαμβάνεται από το προηγούμενο στάδιο υποβάλλεται σε κατεργασία με πυκνό οξικό οξύ για την ανακρυστάλλωση του και την ευκολότερη παραλαβή των ΠΑΥ. Ακολουθεί διπλός καθαρισμός με τη βοήθεια εκχύλισης στερεάς φάσης και τέλος κατακράτηση των ΠΑΥ σε στήλη NH₂ και απομάκρυνση των ενώσεων που φθορίζουν και παρεμποδίζουν τον προσδιορισμό ΠΑΥ. Οι ΠΑΥ παραλαμβάνονται από τη στήλη NH₂ με κατάλληλο μίγμα διαλυτών (Moreda et al. 2004).

Σε όλα τα ανωτέρω υποστρώματα η ανίχνευση και ο ποσοτικός προσδιορισμός των ΠΑΥ επιτυγχάνεται με την βοήθεια της HPLC, με ανιχνευτή Φασματοφωτόμετρο UV – VIS Διάταξης Διόδων και με φθορισμομετρικό ανιχνευτή με την δυνατότητα λήψης φάσματος φθορισμού.

6.1. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

- Ακετόνη (καθαρότητας pesticide free)
- Ακετόνη (καθαρότητας p.a) αποκλειστικά για πλύσιμο σκευών.
- Ακετονιτρίλιο (καθαρότητας gradient for Liquid chromatography)
- Αιθανόλη p.a.
- Μεθανόλη (καθαρότητας pesticide free)
- Μίγμα ακετονιτρίλιου/ακετόνης 60/40. Με ογκομετρικό κύλινδρο των 1000 ml λαμβάνονται 600 ml ακετονιτρίλιου 4.3 και 400 ml ακετόνης 4.1. Μεταγγίζονται σε χωριστή υάλινη φιάλη με προστασία από το φως.
- Εξάνιο (καθαρότητας pesticide free)
- Διχλωρομεθάνιο (καθαρότητας pesticide free)
- Κυκλοεξάνιο (καθαρότητας pesticide free)
- Κρυσταλλικό (glacial) Οξικό οξύ (καθαρότητας p. a.)
- Μίγμα εξανίου/διχλωρομεθανίου 75/25. Με ογκομετρικό κύλινδρο των 100 ml λαμβάνονται 75 ml εξανίου 4.8 και 25 ml διχλωρομεθανίου. Μεταγγίζονται σε χωριστή υάλινη φιάλη με προστασία από το φως
- Νερό καθαρότητας HPLC
- Κανστικό Κάλιο καθαρότητας p.a.
- Άνδροθειικό Νάτριο (καθαρότητας pesticide free)
- Στήλες καθαρισμού εκχύλισης στερεάς φάσης WATERS C 18 (EC) των 2 g χωρητικότητας 15 ml
- Στήλες καθαρισμού εκχύλισης στερεάς φάσης ISOLUTE FL των 500 mg χωρητικότητας 3 ml
- Στήλες καθαρισμού εκχύλισης στερεάς φάσης NH₂ Waters του 1 g, χωρητικότητας 6 ml.
- Πεχαμετρικό χαρτί
- Κοινό διηθητικό χαρτί εργαστηρίου.

6.1.1. ΣΥΣΚΕΥΕΣ ΚΑΙ ΒΟΗΘΗΤΙΚΑ ΜΕΣΑ

- Περιστρεφόμενος αποστακτήρας (Rotavapor) RV06 – ML IKA WERKE
- Λουτρό υπερήχων 8510 BRANSON
- Ψυχόμενη φυγόκεντρος Megafug 1,0 R Heraeus
- Αναλυτικός ζυγός Precisa 205 A με διακριτική ικανότητα 0,1 mg
- Αναλυτικός ζυγός BEL ENGINEERING με διακριτική ικανότητα 0,1 g
- Συσκευή Υγρής Χρωματογραφίας Υψηλής Απόδοσης (HPLC) Agilent 1100 Series
- Στήλη Υγρής Χρωματογραφίας αντίστροφης φάσης Vydac PAH Διαστάσεων 250 X 4.6 mm και μέγεθος σωματιδίων 5 μm.
- Γυάλινα Σκεύη

6.1.2. ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΣΚΕΥΩΝ

Το δείγμα αν είναι υγρό έλαιο χειρίζεται ως έχει, εάν είναι στερεό λίπος υγροποιείται στους 40° C.

Τα δείγματα αλλαντικών, τυριών και το εδώδιμο μέρος των ψαριών ομογενοποιούνται στο Mixer Mulinette και στη συνέχεια λαμβάνεται το δείγμα δοκιμής.

Τα αποξηραμένα φρούτα ομογενοποιούνται στο Mixer Mulinette με ίση ποσότητα νερού και στη συνέχεια λαμβάνεται το δείγμα δοκιμής.

Όλα τα γυάλινα σκεύη που προαναφέρθηκαν πλένονται τρεις φορές με ακετόνη 4.2 (10 ml ακετόνη ανά φορά) μαζί με τα πώματά τους.

6.2. ΜΕΘΟΔΟΣ F/O

6.2.1. ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗΣ ΥΓΡΩΝ ΦΑΣΕΩΝ

Ζυγίζονται σε κωνική φιάλη 50 ml 2,5 +/- 0,1 g δείγματος στον αναλυτικό ζυγό με ακρίβεια 0.1 mg και με τη βοήθεια σύριγγας προστίθενται 100 μl διαλύματος εργασίας του εσωτερικού προτύπου των 250 ppb.

Η κωνική πωματίζεται και αναδεύεται στη συσκευή Vortex για 30 sec. Στη συνέχεια προστίθενται 10 ml μίγματος ακετόνης/ακετονιτριλίου 40/60, το όλο αναδεύεται στη συσκευή Vortex για 30 sec, ακολούθως μεταφέρεται σε σωλήνες φυγοκέντρισης των 50 ml και στη συνέχεια τοποθετείται για 5 min σε λουτρό υπερήχων. Κατόπιν φυγοκεντρείται στις 4000 στροφές σε φυγόκεντρο στους 16°C, για 5 min.

Μετά τη φυγοκέντριση και με τη βοήθεια σιφωνίου παστέρ συλλέγεται ποσοτικά η υπερκείμενη υγρή φάση και μεταφέρεται σε κωνική των 100 ml.

Η διαδικασία της εκχύλισης επαναλαμβάνεται άλλες δύο φορές και τα εκχυλίσματα που έχουν συλλεχθεί αποστάζονται στη συσκευή του περιστρεφόμενου αποστακτήρα στους 35°C και κάτω από την εφαρμογή κενού.

Η ελαιώδης φάση που παραλαμβάνεται και είναι εμπλουτισμένη σε ΠΑΥ είναι έτοιμη για το επόμενο στάδιο του καθαρισμού με τη βοήθεια εκχύλισης στερεάς φάσης.

6.2.2. ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΣΤΕΡΕΑΣ ΦΑΣΗΣ - ΣΤΗΛΗ C18

Η στήλη C18 ενεργοποιείται με 24 ml μεθανόλης και στη συνέχεια με 24 ml ακετονιτριλίου.

Το ανωτέρω ελαιώδες υπόλειμμα παραλαμβάνεται ποσοτικά με σιφόνιο παστέρ και 1 ml μίγματος ακετόνης/ακετονιτριλίου 40/60 και μεταφέρεται σε σωλήνες φυγοκέντρισης των 10 ml. Προστίθεται ακόμη 1 ml μίγματος ακετόνης/ακετονιτριλίου 40/60 στην κωνική των 100 ml και αφού ξεπλυθούν τα τοιχώματα μεταφέρεται στον σωλήνα.

Ο σωλήνας αναδεύεται στη συσκευή Vortex για 15 sec και στη συνέχεια φυγοκεντρείται κάτω από τις ίδιες συνθήκες που περιγράφηκαν ανωτέρω αλλά για 3 min.

Το υπερκείμενο μεταφέρεται ποσοτικά με τη βοήθεια νέου σιφωνίου παστέρ επάνω στην ενεργοποιημένη στήλη C18, στην απόληξη της οποίας έχει τοποθετηθεί κωνική φιάλη των 50 ml.

Η διαδικασία της έκπλυσης των τοιχωμάτων και των διαδοχικών εκχυλίσεων επαναλαμβάνεται άλλες δύο φορές (Συνολικά διέρχονται από τη στήλη 6 ml μίγματος ακετόνης/ακετονιτριλίου 40/60) και στη συνέχεια η στήλη εκχυλίζεται με 5 ml μίγματος ακετόνης/ακετονιτριλίου 40/60.

Μετά την έκλουση του διαλύτη στη στήλη εφαρμόζεται πίεση με αέρα με τη βοήθεια κενής πλαστικής σύριγγας για την πλήρη εκκένωσή της

Τα εκπλύματα που έχουν συλλεχθεί στην κωνική των 50 ml αποστάζονται στον περιστρεφόμενο αποστακτήρα στους 35°C και κάτω από την εφαρμογή κενού.

Στο υπόλειμμα της ανωτέρω κωνικής φιάλης προστίθεται 1 ml εξανίου.

6.2.3. ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΣΤΕΡΕΑΣ ΦΑΣΗΣ-ΣΤΗΛΗ FLORISIL

Η στήλη ενεργοποιείται με 15 ml διχλωρομεθανίου και 12 ml εξανίου.

Το ανωτέρω 6.2.2. εξανικό διάλυμα μεταφέρεται στην ενεργοποιημένη στήλη FLORISIL, στην απόληξή της οποίας έχει τοποθετηθεί κωνική φιάλη των 50 ml.

Η πρώτη κωνική που περιείχε το εξανικό εκχύλισμα πλένεται 3 φορές με μίγμα διχλωρομεθανίου/εξανίου 25/75 (1 ml ανά φορά) και τα εκπλύματα εισάγονται στη στήλη FLORISIL. Στη συνέχεια η στήλη εκπλένεται με 5 ml μίγματος διχλωρομεθανίου/εξανίου 25/75. Μετά την έκλουση του διαλύτη στη στήλη εφαρμόζεται πίεση με αέρα με τη βοήθεια κενής πλαστικής σύριγγας προς πλήρη εκκένωσή της

Ό,τι έχει συλλεχθεί στην κωνική αποστάζεται στον περιστρεφόμενο αποστακτήρα στους 350C και κάτω από την εφαρμογή κενού, μέχρι παραμονής μιας σταγόνας στον αποστακτήρα, η οποία απομακρύνεται με τη βοήθεια ρεύματος αζώτου.

Στο υπόλειμμα προστίθεται 1 ml ακετονιτριλίου, αναδεύεται με την βοήθεια της συσκευής Vortex για 15 sec και με τη βοήθεια σιφωνίου παστέρ μεταφέρεται ποσοτικά σε γυάλινη Luer Lock σύριγγα των 5 ml, στην άκρη της οποίας έχει τοποθετηθεί φίλτρο διήθησης 45μ. Το διήθημα συλλέγεται σε φιαλίδιο 2ml και είναι έτοιμο για εισαγωγή στην υγρή χρωματογραφία.

6.3. ΜΕΘΟΔΟΣ

6.3.1. ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΣΑΠΩΝΟΠΟΙΗΣΗ

Ζυγίζονται σε σφαιρική φιάλη των 500 ml 10 +/- 0,1 mg δείγματος (στο ζυγό) και 6,6 (+/- 0.1) g KOH. Στη συνέχεια προστίθενται 2 ml νερού και 100 μl (με σύριγγα) διαλύματος εργασίας του εσωτερικού προτύπου των 250 ppb. Αναδεύεται το όλο μέχρι της πλήρους διαλυτοποίησης του KOH.

Με τη βοήθεια ογκομετρικού κυλίνδρου των 100 ml προστίθενται στη σφαιρική φιάλη 100 ml αιθανόλης.

Στην περίπτωση των αλεσμένων δημητριακών το δείγμα ζυγίζεται σε ποτήρι ζέσεως των 50 ml και προστίθεται υπό διαρκή ανάδευση στην σφαιρική, όπου έχουν ήδη εισαχθεί η αιθανόλη και το εσωτερικό πρότυπο. Το KOH ζυγίζεται σε ποτήρι των 10 ml, διαλυτοποιείται με 3.5 ml νερού, και εισάγεται στη σφαιρική τελευταίο

Η σφαιρική φιάλη με το περιεχόμενό της φέρεται σε βρασμό για 1 ώρα. Αφού ψυχθεί σε θερμοκρασία μικρότερη των 50oC, προστίθενται σε αυτή 200 ml κυκλοεξανίου με τη βοήθεια κυλίνδρου και επαναφέρεται σε βρασμό για 5 min.

Στη συνέχεια αφού ψυχθεί σε θερμοκρασία μικρότερη των 50oC, μεταφέρεται ποσοτικά σε διαχωριστική χοάνη των 500 ml, όπου και προστίθενται 100 ml νερού.

Η υδατική στιβάδα απομακρύνεται και προστίθεται νέα ποσότητα νερού (100 ml) η οποία έχει προηγουμένως ξεπλύνει την σφαιρική φιάλη.

Η διαδικασία των πλύσεων επαναλαμβάνεται 7 φορές με σταδιακή ενδυνάμωση της ανακίνησης. Μετά την πέμπτη προσθήκη νερού η διαχωριστική χοάνη μπορεί να παραμείνει κατά τη νύχτα .

Αφού ελεγχθεί το pH (με πεχαμετρικό χαρτί 10-7) της τελευταίας υδατικής φάσης ώστε να είναι $\text{pH} < 9.0$, (αν το pH είναι > 9.0 πραγματοποιείται και νέα πλύση, μέχρι $\text{pH} < 9.0$) απομακρύνεται η τελευταία υδατική φάση και η οργανική στιβάδα διέρχεται από ηθμό (χωνί με διηθητικό χαρτί) που έχει πλυθεί με κυκλοεξάνιο και στον οποίο έχει προστεθεί επαρκής ποσότητα θειικού νατρίου.

Το διήθημα συλλέγεται σε σφαιρική φιάλη των 500 ml και πρέπει να είναι διαυγές.

6.3.2. ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΣΤΕΡΕΑΣ ΦΑΣΗΣ-ΣΤΗΛΗ C 18

Η στήλη C18 ενεργοποιείται με 24 ml μεθανόλης και στη συνέχεια με 24 ml ακετονιτριλίου.

Το ανωτέρω υπόλειμμα 6.3.1. παραλαμβάνεται ποσοτικά με σιφώνιο παστέρ μετά την προσθήκη 1 ml μίγματος ακετόνης/ακετονιτριλίου 40/60 και μεταφέρεται σε σωλήνες φυγοκέντρησης των 10 ml. Αυτό επαναλαμβάνεται 2 φορές και αφού ξεπλυθούν τα τοιχώματα της σφαιρικής φιάλης μεταφέρεται στον σωλήνα.

Ο σωλήνας φυγοκεντρείται κάτω από τις ίδιες συνθήκες που περιγράφηκαν στην παράγραφο 6.2.2. για 3 min.

Το υπερκείμενο μεταφέρεται ποσοτικά στη στήλη C18, στην απόληξη της οποίας έχει τοποθετηθεί κωνική φιάλη των 50 ml.

Η διαδικασία της έκπλυσης των τοιχωμάτων και των διαδοχικών εκχυλίσεων επαναλαμβάνεται με την προσθήκη 2 ml κυκλοεξανίου και 3x1 ml μίγματος ακετόνης/ακετονιτριλίου 40/60.

Ο σωλήνας αναδεύεται στην συσκευή Vortex για 15 sec και στη συνέχεια φυγοκεντρείται κάτω από τις ίδιες συνθήκες που περιγράφηκαν προηγουμένως.

Το υπερκείμενο (κυκλοεξάνιο) απορρίπτεται, ενώ το υποκείμενο μεταφέρεται ποσοτικά με τη βοήθεια σιφωνίου παστέρ επάνω στη στήλη (Συνολικά διέρχονται από τη στήλη 6 ml μίγματος ακετόνης / ακετονιτριλίου 40/60).

Στη συνέχεια η στήλη εκχυλίζεται με 5 ml μίγματος ακετόνης/ακετονιτριλίου 40/60.

Τα εκπλύματα που έχουν συλλεχθεί στην κωνική των 50 ml αποστάζονται στον περιστρεφόμενο αποστακτήρα στους 35°C και κάτω από την εφαρμογή κενού.

Στο υπόλειμμα της ανωτέρω κωνικής φιάλης προστίθεται 1 ml εξανίου.

6.3.3. ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΣΤΕΡΕΑΣ ΦΑΣΗΣ-ΣΤΗΛΗ FLORISIL

Ακολουθείται η διαδικασία της παραγράφου 6.2.3.

6.4. ΜΕΘΟΔΟΣ DF

6.4.1. ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΕΝ ΘΕΡΜΩ

Ζυγίζονται (στο ζυγό 5.5) $10 \pm 0,1$ g ομογενοποιημένου με νερό δείγματος (1:1), σε σφαιρική φιάλη των 250 ml. Προστίθενται 100 μl διαλύματος εργασίας του εσωτερικού προτύπου των 250 ppb με τη βοήθεια σύριγγας και 50 ml νερού.

Όταν το όλο καταστεί ομογενές, προστίθενται 100 ml κυκλοεξανίου, φέρεται σε ήπιο βρασμό με κάθετο ψυκτήρα για 30 min και όταν ψυχθεί σε θερμοκρασία μικρότερη των 50°C, μεταφέρεται ποσοτικά σε διαχωριστική χοάνη των 250 ml.

Η υδατική στιβάδα απομακρύνεται, ενώ η οργανική στιβάδα διέρχεται από ηθμό (χωνί με διηθητικό χαρτί) που έχει πλυθεί με κυκλοεξάνιο και στον οποίο έχει προστεθεί επαρκής ποσότητα θεικού νατρίου. Το διήθημα συλλέγεται σε σφαιρική φιάλη των 250 ml και πρέπει να είναι διαυγές.

6.4.2. ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΣΤΕΡΕΑΣ ΦΑΣΗΣ-ΣΤΗΛΗ C 18

Ακολουθείται η διαδικασία της παραγράφου 6.3.2.

6.4.3. ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΣΤΕΡΕΑΣ ΦΑΣΗΣ-ΣΤΗΛΗ FLORISIL

Ακολουθείται η διαδικασία της παραγράφου 6.2.3.

6.5. ΜΕΘΟΔΟΣ PE

6.5.1. ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΣΑΠΩΝΟΠΟΙΗΣΗ

Σε σφαιρική φιάλη των 500 ml ζυγίζονται $2,0 \pm 0,1$ g δείγματος και $6,6 (\pm 0,1)$ g KOH, (στον ζυγό). Στη συνέχεια προστίθενται 100 μl (με σύριγγα) διαλύματος εργασίας του εσωτερικού προτύπου των 250 ppb, 3,5 ml νερού και το μίγμα αναδεύεται μέχρι πλήρους διαλυτοποίησης του KOH. Προστίθενται επίσης 100ml αιθανόλης, πέτρα βρασμού και το περιεχόμενο της σφαιρικής φιάλης φέρεται σε βρασμό για 1 ώρα στη συσκευή με τον κάθετο ψυκτήρα.

Αφού ψυχθεί σε θερμοκρασία μικρότερη των 50oC, προστίθενται 200 ml κυκλοεξανίου με τη βοήθεια κυλίνδρου και επαναφέρεται σε βρασμό για 5 min.

Στη συνέχεια αφού ψυχθεί σε θερμοκρασία μικρότερη των 50oC, μεταφέρεται ποσοτικά με 100ml νερού σε διαχωριστική χοάνη των 500 ml.

Η υδατική στιβάδα απομακρύνεται και προστίθεται νέα ποσότητα νερού (100 ml) με την οποία έχουμε προηγουμένως ξεπλύνει τη σφαιρική φιάλη.

Η διαδικασία των πλύσεων επαναλαμβάνεται 7 φορές με σταδιακή ενδυνάμωση της ανακίνησης. Μετά την πέμπτη προσθήκη νερού η διαχωριστική χοάνη μπορεί να παραμείνει κατά τη νύχτα (overnight).

Αφού ελεγχθεί το pH της τελευταίας υδατικής φάσης ώστε να είναι $\text{pH} < 9.0$ (με πεχαμετρικό χαρτί 10-7, αν το pH είναι > 9.0 πραγματοποιείται και νέα πλύση, μέχρι $\text{pH} < 9.0$), απομακρύνεται και το τελευταίο νερό πλύσης.

Η οργανική στιβάδα διηθείται από ηθμό (χωνί με διηθητικό χαρτί) που έχει πλυθεί με κυκλοεξάνιο και στον οποίο έχει προστεθεί ποσότητα 30g περίπου θεικού νατρίου. Το διήθημα συλλέγεται σε σφαιρική φιάλη των 500 ml και πρέπει να είναι διαυγές. Σε αντίθετη περίπτωση επιστρέφεται στη διαχωριστική χοάνη και προστίθεται και νέο θεικό νάτριο στο χωνί.

Η διαχωριστική χοάνη ξεπλένεται με 50 ml κυκλοεξανίου, το έκπλυμα διέρχεται από τον ηθμό και συλλέγεται μαζί με τη φάση του κυκλοεξανίου. Το όλο αποστάζεται υπό κενό σχεδόν μέχρι ξηρού, απομακρύνεται από τη συσκευή απόσταξης και φέρεται σε ρεύμα αζώτου για την πλήρη απομάκρυνση του διαλύτη.

6.5.2. ΚΑΤΕΡΓΑΣΙΑ ΜΕ ΟΞΙΚΟ ΟΞΥ

Στη σφαιρική φιάλη όπου βρίσκεται το υπόλειμμα (6.5.1) προστίθενται 20 ml οξικού οξέος, πέτρα βρασμού και το όλο φέρεται σε βρασμό στη συσκευή για 1 ώρα. Αφού ψυχθεί σε θερμοκρασία μικρότερη των 50oC, προστίθενται 50 ml κυκλοεξανίου με τη βοήθεια κυλίνδρου των 100 ml και επαναφέρεται σε βρασμό για 5 min.

Στη συνέχεια αφού ψυχθεί σε θερμοκρασία μικρότερη των 50oC, μεταφέρεται ποσοτικά σε διαχωριστική χοάνη των 250 ml, όπου προστίθενται 20 ml νερού και αναδεύεται.

Η υδατική στιβάδα απομακρύνεται και προστίθεται νέα ποσότητα νερού (20 ml) με την οποία έχει προηγουμένως ξεπλυθεί η σφαιρική φιάλη.

Η διαδικασία των πλύσεων επαναλαμβάνεται 5 φορές. Αφού ελεγχθεί το pH της τελευταίας υδατικής φάσης $\text{pH} > 4.5$ (με πεχαμετρικό χαρτί 0.5 – 5.5, αν το pH είναι < 4.5 επαναλαμβάνεται και νέα πλύση, μέχρι $\text{pH} > 4.5$) απομακρύνεται και το τελευταίο νερό πλύσης.

Η οργανική στιβάδα διηθείται από ηθμό (χωνί με διηθητικό χαρτί) που έχει πλυθεί με κυκλοεξάνιο και στον οποίο έχει προστεθεί ποσότητα 30g περίπου θειικού νατρίου. Το διήθημα συλλέγεται σε σφαιρική φιάλη των 250 ml.

Η διαχωριστική χοάνη ξεπλένεται με 50 ml κυκλοεξανίου και το έκπλυμα διέρχεται από τον ηθμό και συλλέγεται μαζί με την φάση του κυκλοεξανίου.

Το όλο αποστάζεται υπό κενό σχεδόν μέχρι ξηρού, απομακρύνεται από τη συσκευή απόσταξης και φέρεται σε ρεύμα αζώτου για την πλήρη απομάκρυνση του διαλύτη.

6.5.3. ΔΙΠΛΗ ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΣΤΕΡΕΑΣ ΦΑΣΗΣ-ΣΤΗΛΗ C 18

Η στήλη C18 ενεργοποιείται με 24 ml μεθανόλης και στη συνέχεια με 24 ml ακετονιτριλίου.

Στο ανωτέρω υπόλειμμα προστίθεται 2 ml μίγματος ακετόνης/ακετονιτριλίου 40/60. Με τη βοήθεια σιφωνίου παστέρ γίνεται έκπλυση των τοιχωμάτων της σφαιρικής φιάλης και το μίγμα μεταφέρεται ποσοτικά σε δοκιμαστικό σωλήνα και φυγοκεντρείται στις 4000 στροφές σε φυγόκεντρο, στους 16°C, για 3 min. Το υπερκείμενο μεταφέρεται ποσοτικά στη στήλη C18, στην απόληξη της οποίας έχει τοποθετηθεί κωνική φιάλη των 50 ml.

Το στερεό υπόλειμμα που παραμένει στο δοκιμαστικό σωλήνα φέρεται σε τήξη με ελεγχόμενη θέρμανση, στη συνέχεια προστίθενται άλλα 2ml μίγματος έκπλυσης των τοιχωμάτων της σφαιρικής (ένα – ένα), το μίγμα ανακινείται για 15 sec στη συσκευή vortex και φυγοκεντρείται όπως προηγουμένως. Η διαδικασία της προσθήκης 2 ml του ανωτέρω μίγματος έκπλυσης των τοιχωμάτων επαναλαμβάνεται άλλη μία φορά (Συνολικά διέρχονται από τη στήλη 6 ml μίγματος ακετόνης/ακετονιτριλίου 40/60) και στη συνέχεια η στήλη εκχυλίζεται με 5 ml μίγματος ακετόνης/ακετονιτριλίου 40/60.

Μετά την έκλυση του διαλύτη εφαρμόζεται στη στήλη πίεση με αέρα με τη βοήθεια κενής πλαστικής σύριγγας για την πλήρη εκκένωσή της.

Τα εκπλύματα που έχουν συλλεχθεί στην κωνική των 50 ml αποστάζονται στον περιστρεφόμενο αποστακτήρα στους 35°C, κάτω από την εφαρμογή κενού, σχεδόν μέχρι ξηρού και το υπόλειμμα φέρεται σε ξηρή κατάσταση (χωρίς διαλύτη) με τη βοήθεια ρεύματος αζώτου.

Η διαδικασία αυτή επαναλαμβάνεται για μια φορά ακόμη με την ενεργοποίηση και νέας στήλης C18. Η διαφορά είναι ότι στην κωνική προστίθεται κάθε φορά από ένα ml μίγματος ακετόνης/ακετονιτριλίου, εκπλένονται τα τοιχώματα και μεταφέρεται απευθείας στη στήλη C18 (συνολικά διέρχονται 6 ml μίγματος), στην απόληξη της οποίας έχει τοποθετηθεί μία δεύτερη κωνική φιάλη.

Στο υπόλειμμα της δεύτερης κωνικής φιάλης, μετά την πλήρη απομάκρυνση του διαλύτη, προστίθεται 1 ml εξανίου.

6.5.4. ΔΙΠΛΗ ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΣΤΕΡΕΑΣ ΦΑΣΗΣ-ΣΤΗΛΗ FLORISIL

Η στήλη ενεργοποιείται με 15 ml διχλωρομεθανίου και 12 ml εξανίου.

Το ανωτέρω 6.5.3 εξανικό διάλυμα μεταφέρεται στην ενεργοποιημένη στήλη FLORISIL, ενώ στην απόληξη της έχει τοποθετηθεί κωνική φιάλη των 50 ml.

Η πρώτη κωνική που περιείχε το εξανικό εκχύλισμα πλένεται 3 φορές με μίγμα διχλωρομεθανίου/εξανίου 25/75 (1 ml ανά φορά) και τα εκπλύματα εισάγονται στη στήλη FLORISIL. Στη συνέχεια η στήλη εκπλένεται με 5 ml μίγματος διχλωρομεθανίου/εξανίου 25/75.

Μετά την έκλουση του διαλύτη στη στήλη εφαρμόζεται πίεση με αέρα με τη βοήθεια κενής πλαστικής σύριγγας προς πλήρη εκκένωσή της

Ό,τι έχει συλλεχθεί στην κωνική αποσπάζεται στον περιστρεφόμενο αποστακτήρα στους 35oC και κάτω από την εφαρμογή κενού μέχρι παραμονής μιας σταγόνας στον αποστακτήρα, η οποία εκδιώκεται με τη βοήθεια ρεύματος αζώτου.

Η διαδικασία αυτή επαναλαμβάνεται για μια φορά ακόμη.

6.5.5. ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΣΤΕΡΕΑΣ ΦΑΣΗΣ-ΣΤΗΛΗ NH2

Η στήλη ενεργοποιείται με 6 ml πετρελαϊκού αιθέρα. Στο ανωτέρω υπόλειμμα προστίθενται 600 ml πετρελαϊκού αιθέρα. Το διάλυμα αυτό μεταφέρεται στην ενεργοποιημένη στήλη στην απόληξη της οποίας τοποθετείται ποτήρι αποβλήτων. Στη συνέχεια τα τοιχώματα της κωνικής φιάλης εκπλένονται με 5 ml πετρελαϊκού αιθέρα (σε δύο δόσεις) και τα εκπλύματα εισάγονται στη στήλη. Ό,τι έχει συλλεχθεί στο ποτήρι αποβλήτων απορρίπτεται και στην απόληξη της στήλης τοποθετείται κωνική φιάλη των 50ml. Στη στήλη εισάγονται 5 ml μίγματος πετρελαϊκού αιθέρα/τολουολίου 70/30 και τα εκπλύματα συλλέγονται. Μετά την έκλουση του

διαλύτη εφαρμόζεται στη στήλη πίεση με αέρα με τη βοήθεια κενής πλαστικής σύριγγας για την πλήρη εκκένωσή της.

Τα εκπλύματα που έχουν συλλεχθεί στην κωνική των 50 ml αποστάζονται στον περιστρεφόμενο αποστακτήρα στους 350C, κάτω από την εφαρμογή κενού, σχεδόν μέχρι ξηρού και το υπόλειμμα φέρεται σε ξηρή κατάσταση (χωρίς διαλύτη) με τη βοήθεια ρεύματος αζώτου.

Στο τελευταίο υπόλειμμα προστίθεται 1 ml ακετονιτρίλιου 4.3, αναδεύεται με την βοήθεια της συσκευής Vortex για 15 sec και με τη βοήθεια σιφωνίου παστέρ μεταφέρεται ποσοτικά σε γυάλινη σύριγγα Luer Lock των 5 ml στην άκρη της οποίας έχει τοποθετηθεί φίλτρο διήθησης 45μ. Το διήθημα συλλέγεται σε φιαλίδιο 2ml και είναι έτοιμο για εισαγωγή στην υγρή χρωματογραφία.

6.6. ΑΝΑΛΥΣΗ ΠΡΟΤΥΠΟΥ ΔΙΑΛΥΜΑΤΟΣ ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΣΗΣ (Πρότυπο Ημέρας Εργασίας)

Παρασκευάζεται πρότυπο διάλυμα βαθμονόμησης ΠΑΥ με κωδικό “PAHs 5 rpb”

Σε ογκομετρική φιάλη των 10 ml μεταφέρονται 1000 μl από το διάλυμα Stock με κωδικό “PAHs 50rpb ” και 500μl από το διάλυμα Stock με κωδικό “IS 500rpb” και συμπληρώνεται μέχρι τη χαραγή με ακετονιτρίλιο.

Το διάλυμα αυτό διατηρείται για 1 μήνα .

Το διάλυμα αυτό αναλύεται με Υγρή Χρωματογραφία.

6.7. ΠΟΣΟΤΙΚΟΙ ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΙ-ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΑΥ ΣΕ ΑΓΝΩΣΤΟ ΔΕΙΓΜΑ

Για όλους τους ΠΑΥ του πεδίου εφαρμογής αυτής της μεθόδου και για το εύρος των συγκεντρώσεων που αναφέρονται κατωτέρω εφαρμόζονται οι κατωτέρω υπολογισμοί :

Από το χρωματογράφημα κάθε αγνώστου δείγματος υπολογίζεται ο λόγος A του εμβαδού της κορυφής του κάθε ΠΑΥ προς το εμβαδόν της κορυφής του B(b)Chr του εσωτερικού προτύπου που έχει προστεθεί στο δείγμα.

Από το χρωματογράφημα του προτύπου διαλύματος της ημέρας εργασίας υπολογίζεται ο λόγος B του εμβαδού της κορυφής του κάθε ΠΑΥ προς το εμβαδόν της κορυφής του B(b)Chr του εσωτερικού προτύπου που έχει προστεθεί στο διάλυμα του προτύπου .

Υπολογίζεται ο λόγος D των συγκεντρώσεων του κάθε ΠΑΥ προς τη συγκέντρωση του B(b)Chg του εσωτερικού προτύπου διαλύματος της ημέρας εργασίας.

Υπολογίζεται ο λόγος X της ποσότητας του κάθε ΠΑΥ στο δείγμα προς την ποσότητα του B(b)Chg του εσωτερικού προτύπου στο δείγμα, από τη σχέση :

$$X = D * \frac{A}{B}$$

Ο λόγος D είναι ίσος με 5/25 αν έχει χρησιμοποιηθεί ως πρότυπο της ημέρας εργασίας το πρότυπο με κωδικό “PAHs 5 prb”.

Η συγκέντρωση του κάθε ΠΑΥ στο άγνωστο δείγμα δίνεται από τη σχέση:

$$C_{\text{ΠΑΥ}} = X * \frac{M_{\text{IS}}}{W} * 1000$$

όπου $C_{\text{ΠΑΥ}}$ = η συγκέντρωση του κάθε ΠΑΥ στο άγνωστο δείγμα σε $\mu\text{g/Kg}$

X = ο λόγος που προσδιορίστηκε από την ανωτέρω σχέση

M_{IS} = η μάζα του Εσωτερικού Προτύπου που προστέθηκε στο δείγμα σε μg

W = η μάζα του δείγματος σε g .

6.8. ΔΙΟΡΘΩΣΗ ΩΣ ΠΡΟΣ ΤΗΝ ΑΝΑΚΤΗΣΗ

Τα αποτελέσματα των ανωτέρω υπολογισμών διορθώνονται ως προς την ανάκτηση σύμφωνα με τη σχέση

$$C = \frac{C_{\text{ΠΑΥ}}}{R} * 100$$

Όπου C = η συγκέντρωση του ΠΑΥ διορθωμένη ως προς την ανάκτηση.

$C_{\text{ΠΑΥ}}$ = η συγκέντρωση του ΠΑΥ που λαμβάνεται από τους ανωτέρω υπολογισμούς

R = το ποσοστό της ανάκτησης ανάλογα τον ΠΑΥ και το υπόστρωμα.

Το εύρος των συγκεντρώσεων που προσδιορίζεται για τον κάθε ΠΑΥ ανάλογα με το υπόστρωμα και την αντίστοιχη μέθοδο κατεργασίας και το οποίο αντιστοιχεί στο εύρος της βαθμονόμησης, δίνεται στον κατωτέρω πίνακα

Πίνακας 6.2: Εύρος συγκεντρώσεων που προσδιορίζονται σε άγνωστα δείγματα

α/α	ΠΑΥ	Εύρος συγκεντρώσεων ανά υπόστρωμα σε µg/1000ml (ppb)			
		F/O	PE	S	DF
1	PHE	από 0,4 έως 12	από 0,5 έως 14	από 0,1 έως 3	από 0,2 έως 6
2	AN	από 2 έως 8	από 2,3 έως 9	από 0,5 έως 9	από 0,3 έως 5
3	FAN	από 0,3 έως 12	από 0,4 έως 14	από 0,1 έως 3	από 0,2 έως 6
4	PYR	από 0,4 έως 12	από 0,5 έως 14	από 0,1 έως 3	από 0,2 έως 6
5	BcFL	από 0,1 έως 4	από 0,3 έως 4	από 0,1 έως 1	από 0,1 έως 2
6	BAA	από 0,02 έως 12	από 0,02 έως 14	από 0,004 έως 3	από 0,01 έως 6
7	CHR	από 0,1 έως 12	από 0,1 έως 14	από 0,02 έως 3	από 0,05 έως 6
8	CPP	από 6,5 έως 372	από 30,4 έως 423	από 5,1 έως 93	από 2,6 έως 190
9	SMCHR	από 0,03 έως 12	από 9,3 έως 14	από 0,01 έως 3	από 0,02 έως 6
10	BJF	από 0,3 έως 12	από 0,3 έως 14	από 0,1 έως 3	από 0,05 έως 6
11	BEP	από 0,1 έως 12	από 0,5 έως 14	από 0,02 έως 3	από 0,2 έως 6
12	BBF	από 0,1 έως 12	από 0,1 έως 14	από 0,01 έως 3	από 0,03 έως 6
13	BKF	από 0,02 έως 6	από 0,03 έως 6	από 0,005 έως 1,5	από 0,01 έως 3
14	BAP	από 0,02 έως 12	από 0,03 έως 14	από 0,01 έως 3	από 0,02 έως 6
15	DalP	από 0,03 έως 12	από 0,02 έως 14	από 0,01 έως 3	από 0,1 έως 6
16	DahA	από 0,02 έως 12	από 0,02 έως 14	από 0,004 έως 3	από 0,01 έως 6
17	BghiP	από 0,2 έως 12	από 0,3 έως 14	από 0,1 έως 3	από 0,2 έως 6
18	IND	από 0,1 έως 8	από 0,1 έως 9	από 0,02 έως 2	από 0,04 έως 4
19	DaeP	από 0,2 έως 12	από 0,3 έως 14	από 0,05 έως 3	από 0,1 έως 6
20	DaiP	από 0,2 έως 12	από 0,2 έως 14	από 0,04 έως 3	από 0,1 έως 6
21	DahP	από 0,03 έως 12	από 0,03 έως 14	από 0,01 έως 3	από 0,02 έως 6

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Μελετήθηκαν οι ακόλουθες ομάδες τροφίμων:

Α) Λίπη και έλαια (εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα, παρθένα ελαιόλαδα, ελαιόλαδα, πυρηνέλαια, ηλιέλαια, αραβοσιτέλαια, σογιέλαια, μαργαρίνη),

Β) Καπνιστά τυριά

Γ) Καπνιστά αλλαντικά

Δ) Καπνιστά ψάρια

Ε) Αποξηραμένα φρούτα

ΣΤ) Ροφήματα γάλακτος 1ης και δεύτερης βρεφικής ηλικίας σε σκόνη και παιδικές τροφές για βρέφη και μικρά παιδιά

Τα είδη τροφίμων που μελετήθηκαν ως προς την περιεκτικότητά τους σε ΠΑΥ και ο αριθμός των δειγμάτων παρατίθενται στον ακόλουθο πίνακα 7.1:

Πίνακας 7.1: Είδη τροφίμων και αριθμός δειγμάτων ανά είδος που εξετάστηκαν

Κατηγορία τροφίμων	Είδος τροφίμου	Αριθμός δειγμάτων
Λίπη και έλαια	Εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα	29
	Παρθένα ελαιόλαδα	14
	Ελαιόλαδα	7
	Πυρηνέλαια	9
	Ηλιέλαια	2
	Αραβοσιτέλαια	1
	Σογιέλαια	1
	Μαργαρίνες	6 (ίδιο δείγμα, διαφορετική παρτίδα)
	Σύνολο	69

Καπνιστά τυριά	Σύνολο	11
Καπνιστά αλλαντικά και κρέας	Αλλαντικά	9
	Κρέας	6
	Σύνολο	15
Καπνιστά ψάρια	Βακαλάος	1
	Ρέγγα	2
	Σκουμπρί	2
	Πέρκα	1
	Σύνολο	6
Αποξηραμένα φρούτα	Σύκα	2
	Βερίκοκα	2
	Ανάμικτα	1
	Σύνολο	5
Βρεφικές τροφές	Γάλα 1ης και 2ης βρεφικής ηλικίας σε σκόνη	4
	Τροφές για βρέφη και μικρά παιδιά	6
	Σύνολο	10

Όπως φαίνεται και στον ανωτέρω πίνακα, στη μελέτη συνολικά περιλαμβάνονται 116 δείγματα τυποποιημένα ή μη της ελληνικής αγοράς, από διάφορες κατηγορίες τροφίμων.

Ο κατάλογος των τροφίμων που εξετάστηκαν δεν είναι εξαντλητικός και δεν περιλαμβάνει όλες τις κατηγορίες τροφίμων που ενδέχεται να περιέχουν ΠΑΥ.

Οι κατηγορίες τροφίμων που επιλέχθηκαν αφορούν τις κατηγορίες εκείνες για τις οποίες είτε υπάρχει νομοθετικό όριο για το βενζο(α)πυρένιο (λίπη και έλαια, τροφές για βρέφη και μικρά παιδιά, καπνιστά κρέατα και προϊόντα κρέατος, καπνιστά ψάρια), είτε ενδέχεται να θεσπιστεί (αποξηραμένα φρούτα) και για τις οποίες η Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων (EFSA) έχει ζητήσει από τα Κράτη Μέλη τη συλλογή στοιχείων (καπνιστά τυριά, αποξηραμένα φρούτα).

Οι πιο συχνά εμφανιζόμενοι ΠΑΥ (σε επίπεδο πάνω από το LOD), από τους 15 που έχουν χαρακτηριστεί ως μεταλλαξιογόνοι / γονιδοτοξικοί από την Επιστημονική Επιτροπή των Τροφίμων της Ε.Ε. (Scientific Committee of Food, SCF), είναι για το σύνολο των δειγμάτων που εξετάστηκαν (116 δείγματα από όλες τις κατηγορίες τροφίμων) οι BaP (84% των δειγμάτων), BkF (72%) και BghiP (72%). Στον Πίνακα 7.2 φαίνεται η συχνότητα εμφάνισης όλων των εξεταζόμενων ΠΑΥ (σε επίπεδο πάνω από το LOD) στο σύνολο των δειγμάτων:

Πίνακας 7.2: Συχνότητα εμφάνισης ΠΑΥ σε επίπεδο >LOD για το σύνολο των δειγμάτων

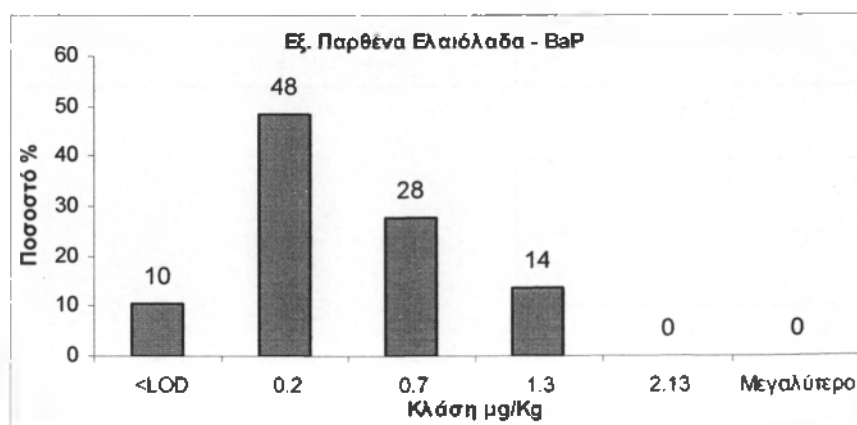
SCF 15 ΠΑΥ	Συχνότητα εμφάνισης >LOD Ποσοστό % επί συνόλου (116)	ΑΛΛΟΙ ΠΑΥ	Συχνότητα εμφάνισης >LOD Ποσοστό % επί συνόλου (116)
BAP	83,6	PYR	90,5
BKF	71,6	FAN	52,6
BghiP	71,6	PHE	44,8
CHR	64,7	BeP	19,8
BBF	62,9	AN	8,6
BAA	58,6		
IND	37,1		
BJF	10,3		
5MCHR	7,8		
DahA	6,9		

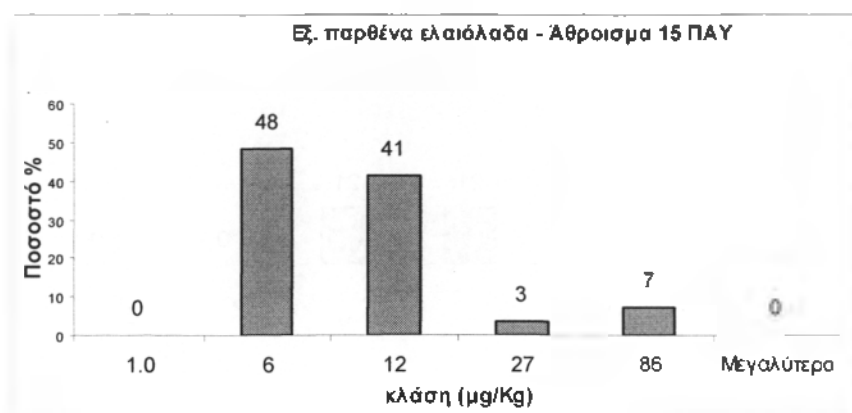
DaeP	6,0
CPP	0,9
DalP	0,9
DaiP	0,9
DahP	0

- LOQ: Limit Of Quantification – Όριο Ποσοτικού Προσδιορισμού.
- LOD: Limit of Detection – Όριο Ανίχνευσης.

Εξαιρετικά Παρθένα ελαιόλαδα

Εξετάστηκαν 29 δείγματα ελληνικού εξαιρετικού παρθένου ελαιολάδου από διάφορες περιοχές της Ελλάδας, τυποποιημένα και από ελαιουργεία. Η μέση τιμή του περιεχόμενου στα δείγματα BaP είναι $0,313 \pm 0,33$ $\mu\text{g/Kg}$ (εύρος τιμών 0-1,298 $\mu\text{g/Kg}$), ενώ όπως φαίνεται από το ιστόγραμμα που ακολουθεί (Σχήμα 7.1) το 86% των δειγμάτων περιέχει BaP $<0,7$ $\mu\text{g/Kg}$. Η μέση τιμή του αθροίσματος των 15 SCF γονιδιατοξικών ΠΑΥ είναι $11,49 \pm 18,49$ $\mu\text{g/Kg}$ (εύρος τιμών 1,757-85,849 $\mu\text{g/Kg}$) και όπως φαίνεται από το παρακάτω ιστόγραμμα στο 89% των δειγμάτων το άθροισμα των 15 ΠΑΥ $<12 \mu\text{g/Kg}$. Οι ΠΑΥ που εμφανίζονται συχνότερα στα δείγματα που εξετάστηκαν είναι οι BaP (90%), BkF (90%) και Chr (86%).

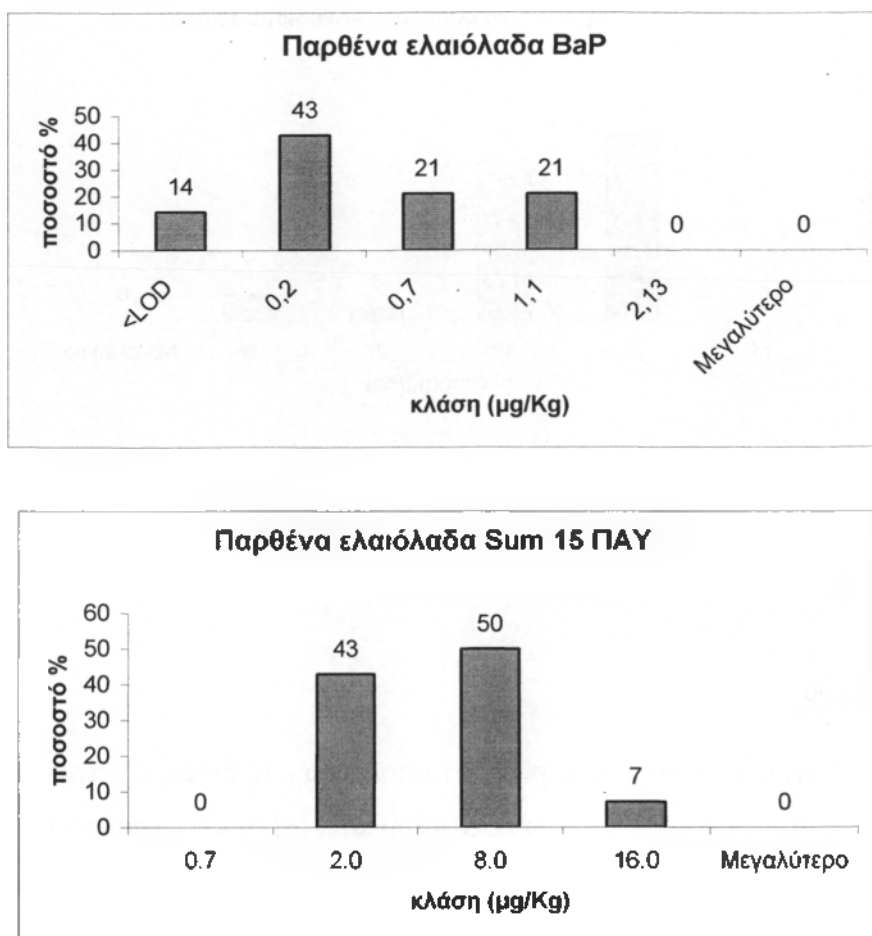




Σχήμα 7.1 : Κατανομή των τιμών του BaP και του αθροίσματος των 15 ΠΑΥ για τα εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα. (*2,13 µg/Kg:νομοθετικό όριο+αβεβαιότητα).

Παρθένα Ελαιόλαδα

Εξετάστηκαν 14 δείγματα ελληνικού παρθένου ελαιολάδου από διάφορες περιοχές της Ελλάδας (Αττική, Κορινθία, Αργολίδα, Ηλεία, Αχαΐα, Μεσσηνία, Λέσβο) προερχόμενα από ελαιουργεία. Η μέση τιμή του περιεχόμενου στα δείγματα BaP είναι $0,357 \pm 0,370$ µg/Kg (εύρος τιμών 0-1,055 µg/Kg) και από το ακόλουθο ιστόγραμμα (Σχήμα 7.2) προκύπτει ότι το 78 % των δειγμάτων έχουν BaP <0,7µg/Kg. Η μέση τιμή του αθροίσματος των 15 SCF γονιδιοτοξικών ΠΑΥ είναι $4,00 \pm 4,04$ µg/Kg (εύρος τιμών 0,703-15,873 µg/Kg), ενώ από το ιστόγραμμα του Σχήματος 7.2 φαίνεται ότι το άθροισμα των 15 ΠΑΥ είναι <8µg/Kg για το 93% των δειγμάτων. Οι ΠΑΥ που εμφανίζονται συχνότερα στα δείγματα των παρθένων ελαιολάδων που εξετάστηκαν είναι οι BbF, BkF, BghiP (93% των δειγμάτων για κάθε ΠΑΥ) και BaP και Chr (86% των δειγμάτων για κάθε ΠΑΥ).

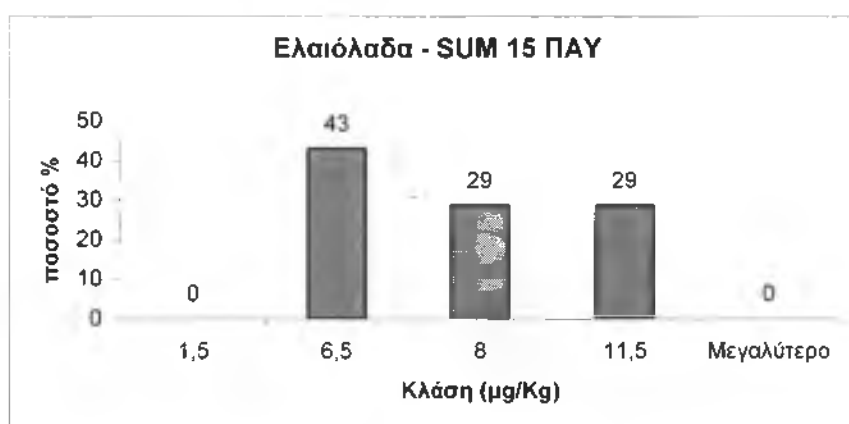
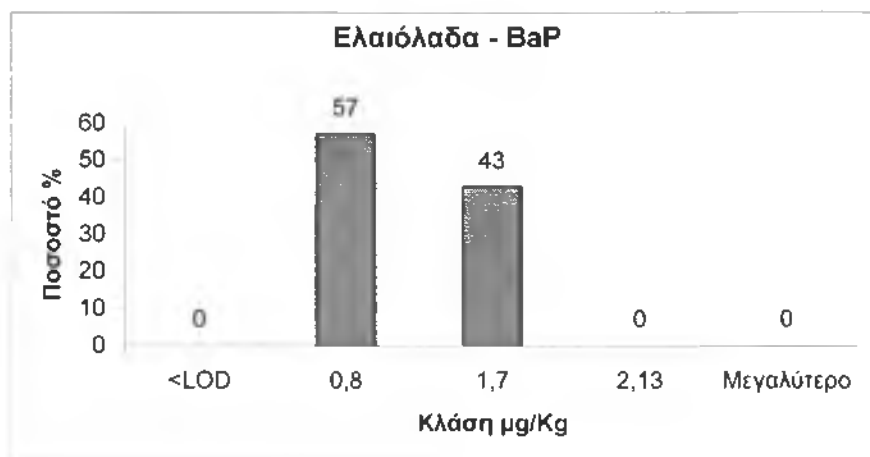


Σχήμα 7.2 : Κατανομή των τιμών του BaP και του αθροίσματος των 15 ΠΑΥ για τα παρθένα ελαιόλαδα (*2,13 μg/Kg:νομοθετικό όριο+αβεβαιότητα).

Ελαιόλαδα

Εξετάστηκαν 7 δείγματα τυποποιημένου ελληνικού ελαιολάδου, από διάφορες περιοχές της Ελλάδας. Η μέση τιμή του περιεχόμενου στα δείγματα BaP είναι $0,891 \pm 0,643$ μg/Kg (εύρος τιμών 0,150-1,613 μg/Kg) και περίπου στο 60% των δειγμάτων το περιεχόμενο BaP < 0,8 μg/Kg, όπως φαίνεται στο ιστόγραμμα του σχήματος 7.3. Η μέση τιμή του αθροίσματος των 15 SCF γονιδιοτοξικών ΠΑΥ είναι $6,90 \pm 3,43$ μg/Kg (εύρος τιμών 1,624-11,357 μg/Kg). Από το ιστόγραμμα της κατανομής του αθροίσματος των 15 ΠΑΥ (Σχήμα 7.3) προκύπτει ότι στο 71% των δειγμάτων το άθροισμα των 15 ΠΑΥ είναι < 8 μg/Kg. Οι ΠΑΥ που εμφανίζονται συχνότερα

στα δείγματα των ελαιολαδων που εξετάστηκαν είναι το BaP (100%), BBF και Chr (86% για κάθε ΠΑΥ).



Σχήμα 7.3 : Κατανομή των τιμών του BaP και του αθροίσματος των 15 ΠΑΥ για τα ελαιόλαδα (*2,13 µg/Kg:νομοθετικό όριο+αβεβαιότητα).

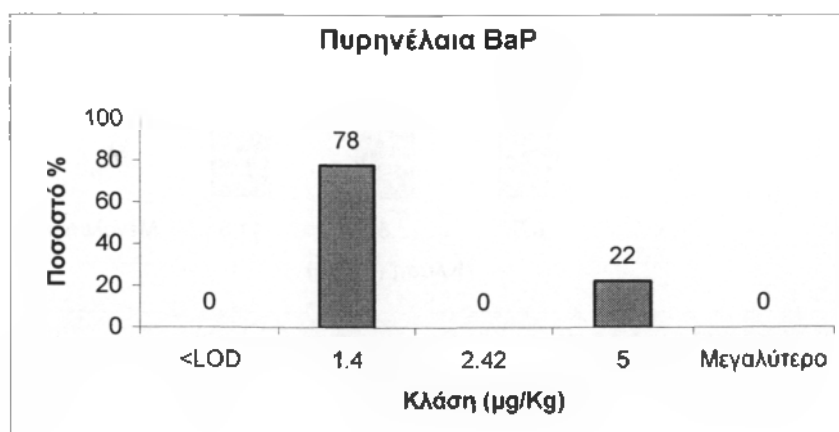
Πυρηνέλαια

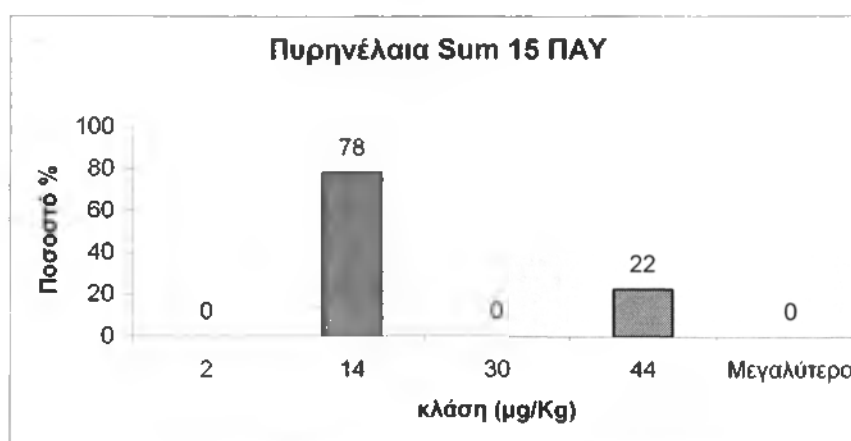
Εξετάστηκαν 9 δείγματα ελληνικών πυρηνελαίων. Η μέση τιμή του περιεχόμενου στα δείγματα BaP είναι $1,56 \pm 1,46$ µg/Kg (εύρος τιμών 0,46-4,47 µg/Kg). Η μέση τιμή του αθροίσματος των 15 SCF γονιδιοτοξικών ΠΑΥ είναι $15,54 \pm 13,40$ µg/Kg (εύρος τιμών 2,91-43,70 µg/Kg), ενώ οι ΠΑΥ που εμφανίζονται συχνότερα στα δείγματα των πυρηνελαίων που εξετάστηκαν είναι το

BaP, Chg και BghiP που εμφανίζονται στο 100% των δειγμάτων και ακολουθούν το BAA και IND που εμφανίζονται στο 89% των δειγμάτων.

Σε 2 από τα 9 πυρηνέλαια (ποσοστό 22%) η τιμή του BaP ήταν εκτός του νομοθετικού ορίου (2 $\mu\text{g/Kg}$) και συγκεκριμένα 3,69 και 4,47 $\mu\text{g/Kg}$, όπως φαίνεται και στο ιστόγραμμα που ακολουθεί (Σχήμα 7.4). Σημειώνεται ότι πρόκειται για τα μόνα δείγματα από το σύνολο των δειγμάτων της μελέτης (από όλες τις ομάδες τροφίμων) που βρέθηκαν εκτός νομοθετικού ορίου.

Παραλείποντας τα δύο αυτά πυρηνέλαια, η μέση τιμή του περιεχόμενου BaP για τα υπόλοιπα 7 δείγματα πυρηνελαίων είναι $0,84 \pm 0,29 \mu\text{g/Kg}$ (εύρος τιμών 0,46-1,27 $\mu\text{g/Kg}$) και η μέση τιμή του αθροίσματος των 15 SCF γονιδιοτοξικών ΠΑΥ είναι $9,22 \pm 4,24 \mu\text{g/Kg}$ (εύρος τιμών 2,91-13,74 $\mu\text{g/Kg}$).

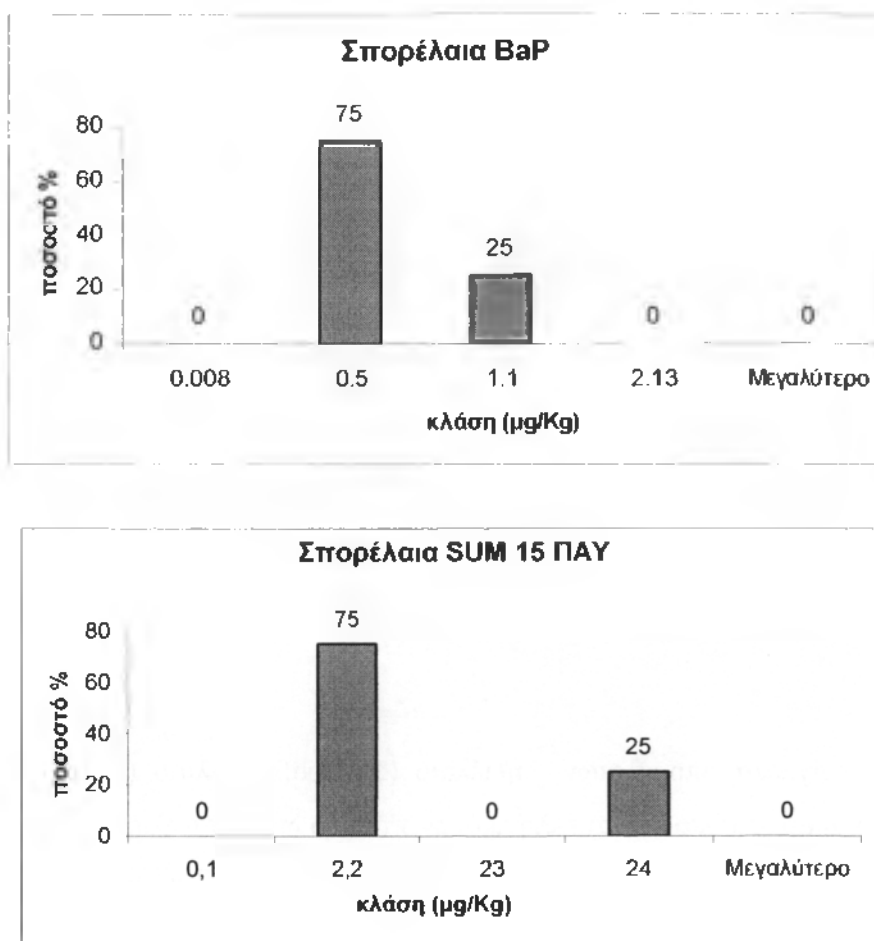




Σχήμα 7.4: Κατανομή των τιμών του BaP και του αθροίσματος των 15 ΠΑΥ για τα πυρηνέλαια (*2,13 μg/Kg: νομοθετικό όριο+αβεβαιότητα).

Σπορέλαια

Εξετάστηκαν 5 δείγματα σπορέλαιων, ηλιέλαιο (2), αραβοσιτέλαιο (1), σογιέλαιο (1). Το σογιέλαιο και το αραβοσιτέλαιο είναι ελληνικά, ενώ τα δύο δείγματα ηλιελαίου είναι εισαγωγής. Η μέση τιμή του περιεχόμενου στα δείγματα BaP είναι $0,420 \pm 0,422$ μg/Kg (εύρος τιμών 0,102-1,001 μg/Kg) και το 75% των δειγμάτων έχει BaP < 0,5 μg/Kg (Σχήμα 7.5). Η μέση τιμή του αθροίσματος των 15 SCF γονιδιατοξικών ΠΑΥ είναι $6,66 \pm 11,23$ μg/Kg (εύρος τιμών 0,183-23,463 μg/Kg), ενώ σημειώνεται ότι το 75% των δειγμάτων έχει άθροισμα των 15 ΠΑΥ < 2,2 μg/Kg (Σχήμα 7.5). Οι ΠΑΥ που εμφανίζονται συχνότερα στα δείγματα των σπορέλαιων που εξετάστηκαν είναι οι BaP (100%), BBF και BKF (75% για κάθε ΠΑΥ).



Σχήμα 7.5: Κατανομή των τιμών του BaP και του αθροίσματος των 15 ΠΑΥ για τα σπορέλαια (*2,13 μg/Kg:νομοθετικό όριο+αβεβαιότητα).

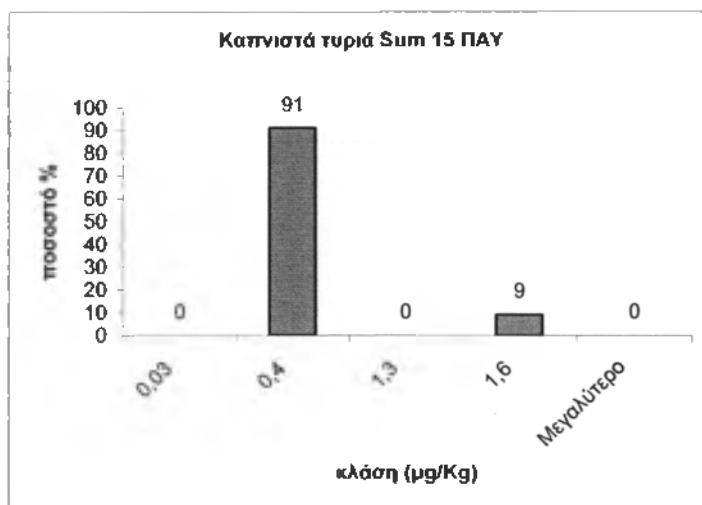
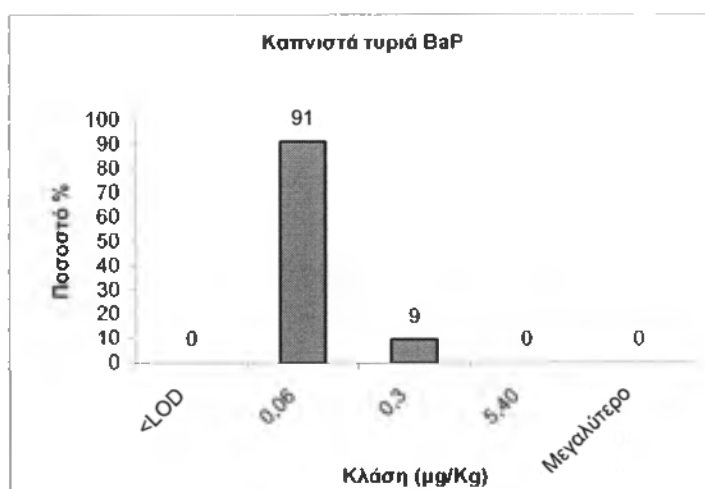
Μαργαρίνη

Εξετάστηκαν 6 ίδια δείγματα μαργαρίνης με φυτοστερόλες, τα οποία διέφεραν μόνο στον αριθμό παρτίδας. Στα δείγματα που εξετάστηκαν δεν ανιχνεύτηκε BaP. Η μέση τιμή του αθροίσματος των 15 SCF γονιδιοτοξικών ΠΑΥ είναι $6,02 \pm 1,41$ μg/Kg (εύρος τιμών 4,362-7,910). Επειδή ουσιαστικά πρόκειται για ένα δείγμα μαργαρίνης, δεν έχει νόημα η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων.

Καπνιστά τυριά

Εξετάστηκαν 11 δείγματα καπνιστών τυριών ελληνικών ή εισαγωγής. Ο τρόπος κάπνισης (παραδοσιακός ή με αρώματα καπνού) δεν είναι γνωστός για την πλειοψηφία των δειγμάτων. Η

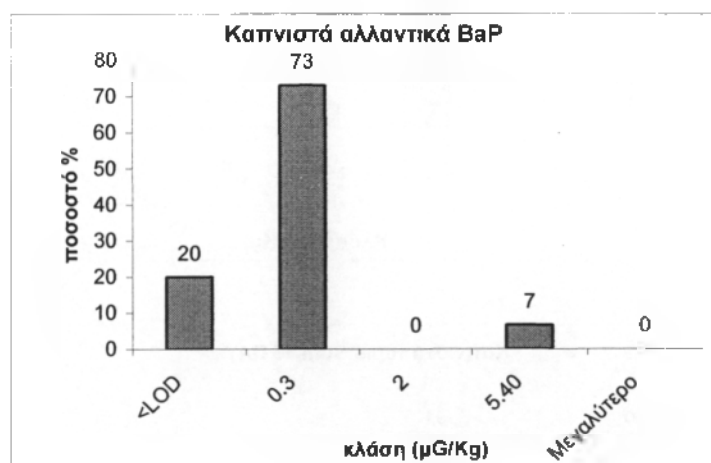
μέση τιμή του περιεχόμενου στα δείγματα BaP είναι $0,042 \pm 0,072$ $\mu\text{g/Kg}$ (εύρος τιμών 0,004-0,256 $\mu\text{g/Kg}$), ωστόσο στο 91% των δειγμάτων βρέθηκε $\text{BaP} < 0,06 \mu\text{g/Kg}$. Η μέση τιμή του αθροίσματος των 15 SCF γονιδιοτοξικών ΠΑΥ είναι $0,281 \pm 0,400$ $\mu\text{g/Kg}$ (εύρος τιμών 0,034-1,449 $\mu\text{g/Kg}$), ενώ σημειώνεται πως το 91% των δειγμάτων έχει άθροισμα των 15 ΠΑΥ $< 0,4$ $\mu\text{g/Kg}$. Οι ΠΑΥ που εμφανίζονται συχνότερα στα δείγματα καπνιστών τυριών που εξετάστηκαν είναι το BaP (100%), το BghiP (100%), BkF (91%) και το BbF (82%).

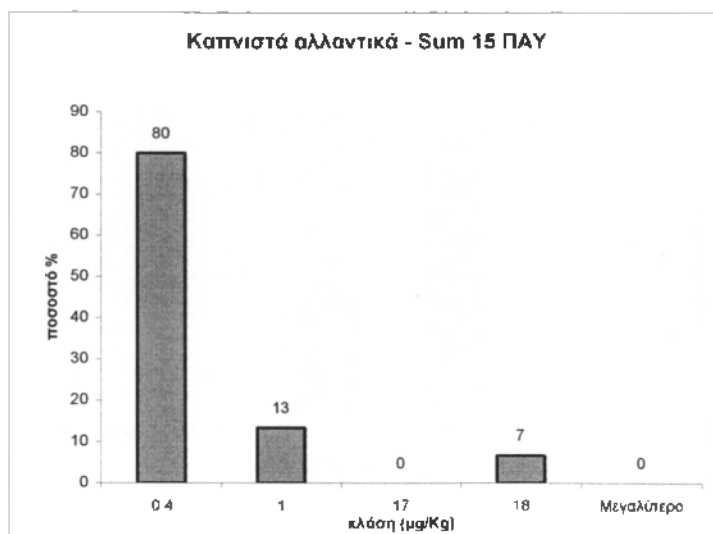


Σχήμα 7.6: Κατανομή των τιμών του BaP και του αθροίσματος των 15 ΠΑΥ για τα καπνιστά. τυριά (*5,40 µg/Kg:νομοθετικό όριο καπν. αλλαντικών+αβεβαιότητα).

Καπνιστά αλλαντικά

Εξετάστηκαν 15 δείγματα καπνιστών κρεάτων και προϊόντων κρέατος (έξι και εννέα δείγματα αντίστοιχα). Το κάπνισμα των δειγμάτων έγινε με καπνό από καύση ξύλου, ωστόσο δεν είναι γνωστό για την πλειοψηφία των δειγμάτων αν η κάπνιση έγινε σε παραδοσιακές ή σύγχρονες εγκαταστάσεις καπνίσματος. Η μέση τιμή του περιεχόμενου στα δείγματα BaP είναι $0,230 \pm 0,619$ µg/Kg (εύρος τιμών 0-2,448 µg/Kg), ενώ σημειώνεται ότι το 93% των δειγμάτων έχει BaP < 0,3 µg/Kg. Η μέση τιμή του αθροίσματος των 15 SCF γονιδοτοξικών ΠΑΥ είναι $1,433 \pm 4,436$ µg/Kg (εύρος τιμών 0-17,437 µg/Kg) και για το 80% των δειγμάτων το άθροισμα των 15 ΠΑΥ είναι < 0,4 µg/Kg. Οι ΠΑΥ που εμφανίζονται συχνότερα στα δείγματα καπνιστών αλλαντικών που εξετάστηκαν είναι το BghiP (87%), BaP (80%), IND (60%).

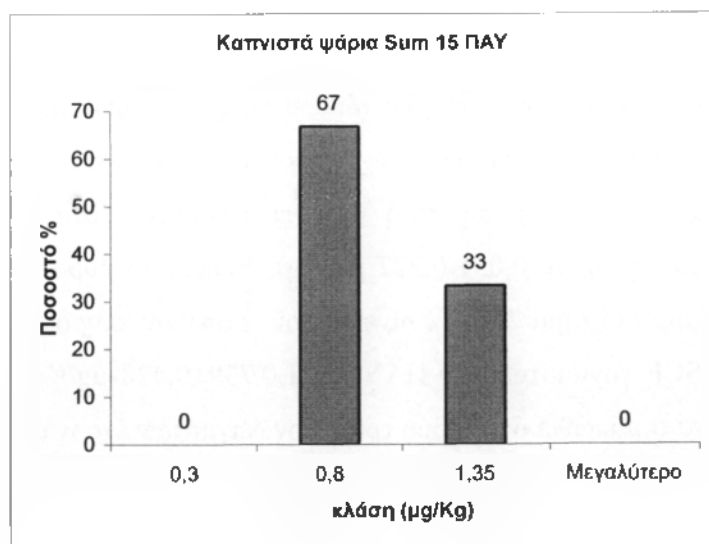
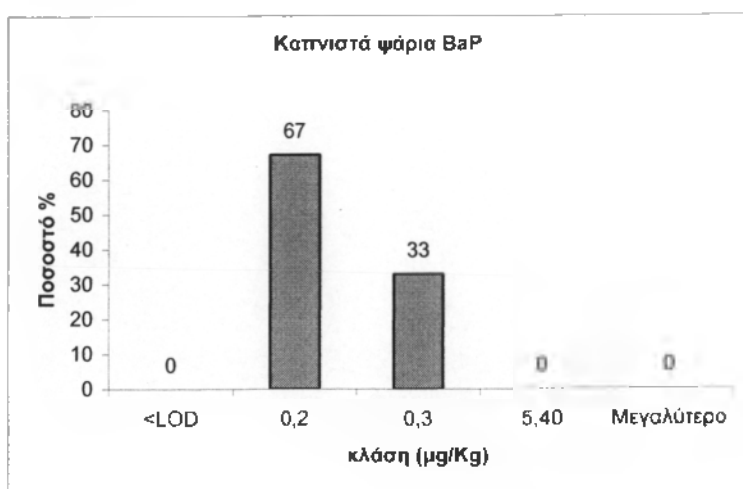




Σχήμα 7.7: Κατανομή των τιμών του BaP και του αθροίσματος των 15 ΠΑΥ για τα καπνιστά ολλαντικά. (*5,40 μg/Kg:νομοθετικό όριο+αβεβαιότητα).

Καπνιστά ψάρια

Εξετάστηκαν 6 δείγματα καπνιστών ψαριών (δύο ρέγκες, δύο σκουμπριά, μία πέρκα, ένας βακαλάος) ελληνικής παραγωγής, τα οποία έχουν καπνιστεί με καπνό ξύλου σε σύγχρονες εγκαταστάσεις καπνίσματος. Η μέση τιμή του περιεχόμενου στα δείγματα BaP είναι $0,145 \pm 0,093$ μg/Kg (εύρος τιμών 0,051-0,277 μg/Kg). Επειδή το εύρος τιμών του BaP είναι πολύ μικρό, το ιστόγραμμα (Σχήμα 7.8) δεν δίνει κάποια επιπλέον πληροφορία. Η μέση τιμή του αθροίσματος των 15 SCF γονιδιοτοξικών ΠΑΥ είναι $0,739 \pm 0,428$ μg/Kg (εύρος τιμών 0,325-1,301 μg/Kg). Αξίζει να σημειωθεί ότι τα δύο τρίτα των δειγμάτων έχουν άθροισμα των 15 ΠΑΥ $< 0,8$ μg/Kg. Οι ΠΑΥ που εμφανίζονται συχνότερα στα δείγματα καπνιστών ψαριών που εξετάστηκαν είναι το BaP (100%), το BghiP (100%), το BkF (100%), το BAA (83%).

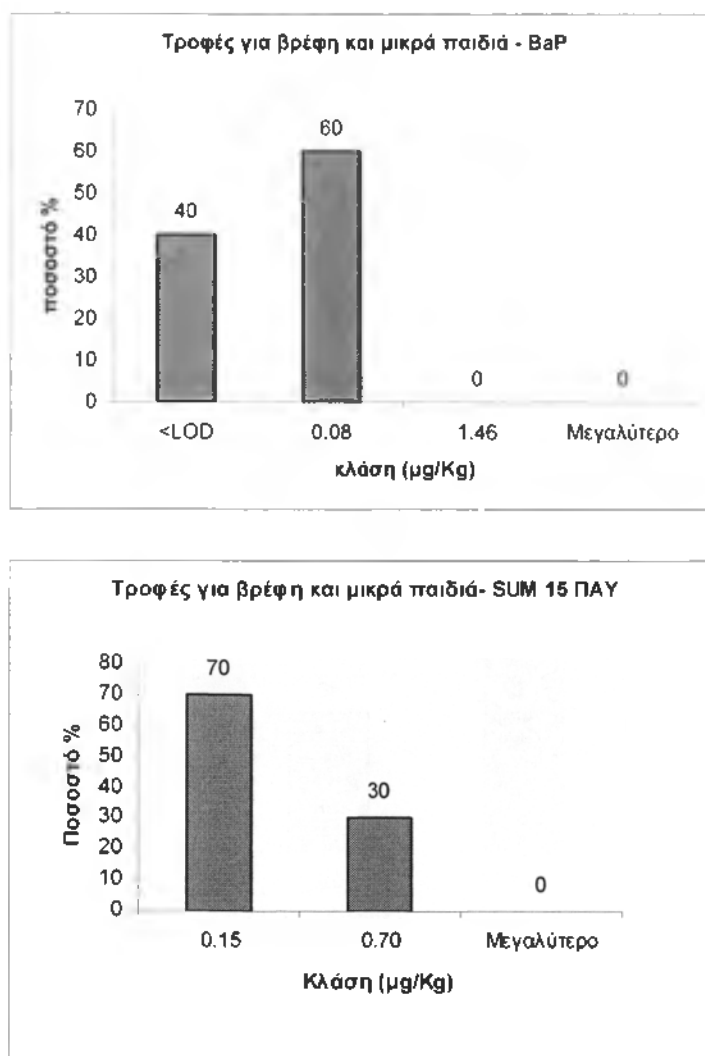


Σχήμα 7.8: Κατανομή των τιμών του BaP και του αθροίσματος των 15 ΠΑΥ για τα καπνιστά ψάρια (*5,40 µg/Kg:νομοθετικό όριο+αβεβαιότητα).

Βρεφικές τροφές

Εξετάστηκαν 10 δείγματα (4 δείγματα ροφήματος γάλακτος σε σκόνη και 6 παιδικές τροφές). Η μέση τιμή του περιεχόμενου στα δείγματα BaP είναι $0,012 \pm 0,024$ µg/Kg (εύρος τιμών 0-0,629 µg/Kg). Σημειώνεται ότι στο 40% των δειγμάτων δεν ανιχνεύτηκε BaP (Σχήμα 7.9) και τα

δείγματα αυτά ήταν όλα ροφήματα γάλακτος σε σκόνη. Η μέση τιμή του αθροίσματος των 15 SCF γονιδιοτοξικών ΠΑΥ είναι $0,190 \pm 0,247 \mu\text{g/Kg}$ (εύρος τιμών 0-0,629 $\mu\text{g/Kg}$), με το 70% των δειγμάτων να εμφανίζει άθροισμα των 15 ΠΑΥ $< 0,15 \mu\text{g/Kg}$. Οι ΠΑΥ που εμφανίζονται συχνότερα στα δείγματα βρεφικών τροφών που εξετάστηκαν είναι το BghiP (80%) και το BaP (60%).

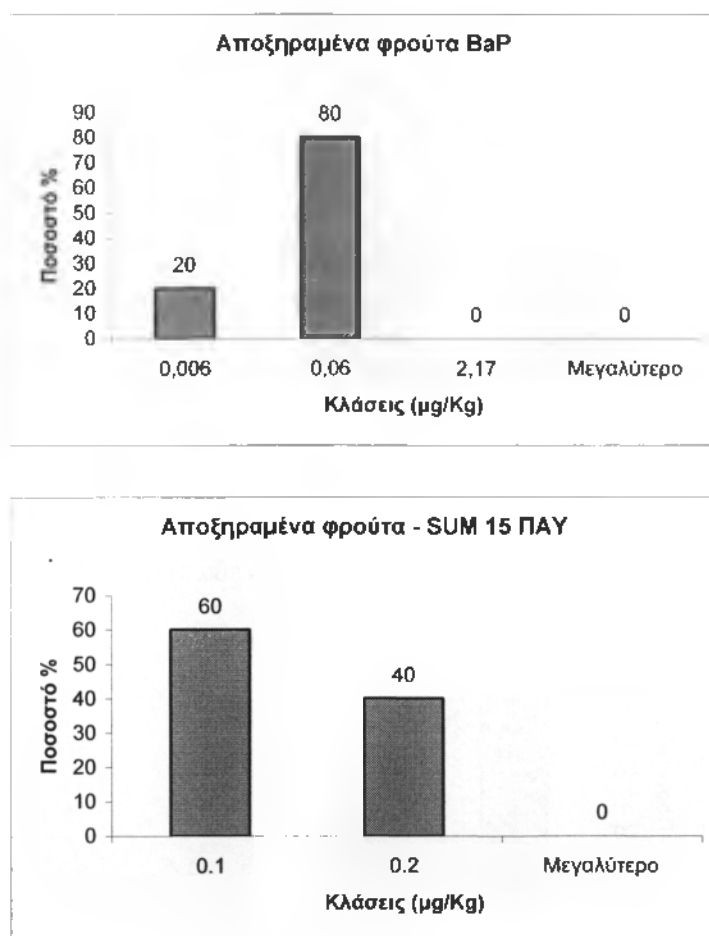


Σχήμα 7.9: Κατανομή των τιμών του BaP και του αθροίσματος των 15 ΠΑΥ για βρεφικές τροφές (*1,46 $\mu\text{g/Kg}$: νομοθετικό όριο + αβεβαιότητα).

Αποξηραμένα φρούτα

Εξετάστηκαν 5 δείγματα αποξηραμένων φρούτων (2 σύκα, 2 βερίκοκα, 1 μίγμα φρούτων). Η μέση τιμή του BaP σε αυτά βρέθηκε $0,024 \pm 0,021 \mu\text{g/Kg}$ (εύρος τιμών 0-0,052 $\mu\text{g/Kg}$). Η μέση

τιμή του αθροίσματος των 15 ΠΑΥ είναι $0,093 \pm 0,074$ $\mu\text{g/Kg}$ (εύρος τιμών 0-0,176 $\mu\text{g/Kg}$). Λόγω του μικρού εύρους τιμών τόσο για το BaP όσο και για το άθροισμα των 15 ΠΑΥ, τα ιστογράμματα (Σχήμα 7.10) δεν δίνουν κάποια επιπλέον πληροφορία.



Σχήμα 7.10 : Κατανομή των τιμών του BaP και του αθροίσματος των 15 ΠΑΥ για τα αποξηραμένα φρούτα (*2,17 $\mu\text{g/Kg}$: νομοθετικό όριο ελαίων+αβεβαιότητα).

Συνοψίζοντας τα ανωτέρω αποτελέσματα, μεγαλύτερη επιβάρυνση σε BaP έχει η ομάδα των λιπών και ελαίων και ακολουθεί η ομάδα των καπνιστών τροφίμων (κρεατοσκευάσματα, ψάρια, τυριά), η ομάδα των αποξηραμένων φρούτων και η ομάδα των βρεφικών τροφών.

Όσο αφορά στο άθροισμα των 15 γονιδιοτοξικών ΠΑΥ η ομάδα των λιπών και ελαίων εξακολουθεί να προηγείται και ακολουθεί η ομάδα των καπνιστών, η ομάδα των βρεφικών τροφών και η ομάδα των αποξηραμένων φρούτων.

Από την ομάδα των Λιπών και Ελαίων τη μεγαλύτερη επιβάρυνση σε BaP έχουν τα πυρηνέλαια και τα ελαιόλαδα και ακολουθούν τα εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα, τα παρθένα και τα σπορέλαια. Το μοτίβο αυτό αλλάζει ελαφρώς αν εξετάσουμε το άθροισμα των 15 γονιδιοτοξικών ΠΑΥ για την ίδια ομάδα των Λιπών και Ελαίων: τη μεγαλύτερη επιβάρυνση έχουν τα πυρηνέλαια και τα ελαιόλαδα, ακολουθούν τα εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα και τα σπορέλαια και τέλος τα παρθένα ελαιόλαδα. Χαρακτηριστικός είναι ο κατωτέρω πίνακας (πίνακας 7,3) που δείχνει τις μέσες τιμές αλλά και το εύρος τιμών τόσο του BaP όσο και του αθροίσματος των 15 ΠΑΥ για όλες τις κατηγορίες τροφίμων που εξετάστηκαν.

Πίνακας 7.3: Πίνακας τιμών

	Μέση τιμή BAP (μg/Kg)	Εύρος τιμών BAP (μg/Kg)	Μέση τιμή Αθροίσματος 15 ΠΑΥ (μg/Kg)	Εύρος τιμών Αθροίσματος 15 ΠΑΥ (μg/Kg)
Τυριά	0,039	0,004-0,256	0,281	0,034-1,449
Αλλαντικά	0,23	0-2,448	1,433	0-17,437
Ψάρια	0,145	0,051-0,277	0,739	0,325-1,301
Βρεφ. τροφές	0,012	0-0,078	0,19	0-0,629
Αποξ. φρούτα	0,024	0-0,052	0,093	0-0,176
ev	0,312	0-1,298	8,831	1,757-65,017
vo	0,357	0-1,055	4,004	0,703-15,873
oo	0,89	0,15-1,613	6,903	1,624-11,357
pe high	1,56	0,46-4,47	15,54	2,91-43,7
pe low	0,84	0,46-1,27	9,22	2,91-13,74
so	0,42	0,102-1,001	6,663	0,183-23,463

7.1. ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Οι Πολυκυκλικοί Αρωματικοί Υδρογονάνθρακες (ΠΑΥ) είναι μία ομάδα καρκινογόνων ενώσεων που δημιουργούνται κατά την ατελή καύση οργανικών ενώσεων και κατά τη διάρκεια γεωχημικών διεργασιών. Σε υψηλές θερμοκρασίες (500-700°C), οι οργανικές ενώσεις διασπώνται μερικώς σε μικρότερα ασταθή κομμάτια (πυρόλυση), κυρίως ελεύθερες ρίζες, τα οποία ανασυνδυάζονται για να δώσουν σχετικά σταθερούς ΠΑΥ (πυροσύνθεση). Η αρωματοποίηση μπορεί να συμβεί επίσης σε χαμηλότερες θερμοκρασίες (100-150°C), ωστόσο απαιτεί πολύ περισσότερο χρόνο και δημιουργεί μεγάλη ποσότητα αλκυλιωμένων ΠΑΥ. Εξαιτίας της παρουσίας ΠΑΥ στο περιβάλλον και της λιποφιλικότητάς τους, μπορούν να βρεθούν σε αυξημένες ποσότητες στα βρώσιμα έλαια και λίπη.

Κατά την παρούσα εργασία μελετήθηκε το επίπεδο των ΠΑΥ σε διάφορες ομάδες τροφίμων: λίπη και έλαια, καπνιστά τρόφιμα, βρεφικές τροφές και αποξηραμένα φρούτα.

Η μελέτη έδειξε ότι στα τρόφιμα που δειγματολήφθηκαν από την ελληνική αγορά την περίοδο 2010-2011, τα επίπεδα των ΠΑΥ είναι σε γενικές γραμμές χαμηλά. Από τα δείγματα που εξετάστηκαν μόνο σε δύο πυρηνέλαια βρέθηκε BaP σε επίπεδα μεγαλύτερα του νομοθετικού ορίου των 2 µg/kg.

Ένα γενικό συμπέρασμα είναι ότι η μεγαλύτερη επιβάρυνση σε BaP εμφανίζεται στην ομάδα των λιπών και ελαίων και ακολουθεί η ομάδα των καπνιστών τροφίμων (κρεατοσκευάσματα, ψάρια, τυριά), των αποξηραμένων φρούτων και η ομάδα των βρεφικών τροφών.

Για το άθροισμα των 15 ΠΑΥ που έχουν χαρακτηριστεί ως μεταλλαξιογόνοι/γονιδιοτοξικοί από την Επιστημονική Επιτροπή Τροφίμων της Ευρωπαϊκής Επιτροπής, συμπεραίνουμε τα εξής: η ομάδα των λιπών και ελαίων προηγείται και ακολουθεί η ομάδα των καπνιστών (κρεατοσκευάσματα, ψάρια, τυριά), η ομάδα των βρεφικών τροφών και η ομάδα των αποξηραμένων φρούτων.

Οι πιο συχνά εμφανιζόμενοι ΠΑΥ, από τους 15 που έχουν χαρακτηριστεί ως μεταλλαξιογόνοι/γονιδιοτοξικοί είναι για το σύνολο των δειγμάτων που εξετάστηκαν (116 δείγματα από τις κατηγορίες τροφίμων: λίπη και έλαια, καπνιστά κρεατοσκευάσματα, καπνιστά

ψάρια, καπνιστά τυριά, αποξηραμένα φρούτα) το BaP (84% των δειγμάτων), το BkF (72%) και το BghiP (72%).

Όσον αφορά στην ομάδα των βρώσιμων λιπών και ελαίων σημειώνουμε τα ακόλουθα:

Ως γνωστό, τα εξαιρετικά παρθένα και τα παρθένα ελαιόλαδα λαμβάνονται από τον ελαιόκαρπο αποκλειστικά με μηχανικές ή άλλες φυσικές μεθόδους και δεν υφίστανται εξευγενισμό (ραφινάρισμα). Επίσης δεν επιτρέπεται η επεξεργασία τους με ενεργό άνθρακα.

Τα ελαιόλαδα έχουν υποστεί βιομηχανική επεξεργασία και προκύπτουν από την ανάμειξη εξευγενισμένου ελαιολάδου και παρθένου ελαιολάδου.

Ο εξευγενισμός (ραφινάρισμα) περιλαμβάνει τις χημικές ή φυσικές διεργασίες (εξουδετέρωση, αποχρωματισμός, απόσμηση, διήθηση, αποκομμίωση, απομαργαρινοποίηση) που γίνονται με σκοπό την παρασκευή βρώσιμου ελαιολάδου που πληροί τις προδιαγραφές της ισχύουσας Εθνικής και Κοινοτικής νομοθεσίας.

Τα πυρηνέλαια αποτελούνται από μίγμα εξευγενισμένου πυρηνελαίου και παρθένου ελαιολάδου. Το ακατέργαστο πυρηνέλαιο λαμβάνεται από τους πυρήνες της ελιάς κατόπιν επεξεργασίας με διαλύτες ή φυσικά μέσα. Το εξευγενισμένο πυρηνέλαιο λαμβάνεται από τον εξευγενισμό του ακατέργαστου και το βρώσιμο πυρηνέλαιο από μείγμα εξευγενισμένου πυρηνελαίου και παρθένων ελαιολάδων. Όταν ξεκίνησε η παραγωγή του πυρηνελαίου, στα πλαίσια της αξιοποίησης όλων των τμημάτων του καρπού της ελιάς, ξεκίνησε η χρήση της ακόλουθης τεχνολογίας: ο πυρήνας που έχει ήδη χρησιμοποιηθεί και είναι σχετικά εύφλεκτος, ξαναχρησιμοποιείται (καίγεται) για να ξηράνει τον νεοεισερχόμενο πυρήνα για εκχύλιση. Κατ' αυτό τον τρόπο το ακατέργαστο πυρηνέλαιο που προκύπτει από την πρώτη εκχύλιση είναι πολύ επιβραβημένο με ΠΑΥ. Η απόσμηση και η διαύγαση του ακατέργαστου πυρηνελαίου δεν απομακρύνουν τους ΠΑΥ. Η επεξεργασία του πυρηνελαίου με ενεργό άνθρακα εκτός από τον αποχρωματισμό του συμβάλει και στην απομάκρυνση των ΠΑΥ. Ωστόσο, πρέπει να χρησιμοποιούνται μέθοδοι παραγωγής και μεταποίησης οι οποίες να προλαμβάνουν την αρχική μόλυνση των ακατέργαστων ελαίων με ΠΑΥ.

Από την ομάδα των Λιπών και Ελαίων τη μεγαλύτερη επιβάρυνση σε BaP έχουν τα πυρηνέλαια και τα ελαιόλαδα και ακολουθούν τα εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα, τα παρθένα και τα σπορέλαια. Το μοτίβο αυτό αλλάζει ελαφρώς αν εξετάσουμε το άθροισμα των 15

γονιδιοτοξικών ΠΑΥ για την ίδια ομάδα των λιπών και ελαίων: τη μεγαλύτερη επιβάρυνση έχουν τα πυρηνέλαια και τα ελαιόλαδα, ακολουθούν τα εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα και τα σπορέλαια και τέλος τα παρθένα ελαιόλαδα.

Στα εξαιρετικά παρθένα, τα παρθένα και τα ελαιόλαδα οι πιο συχνά εμφανιζόμενοι ΠΑΥ από τους 15 που έχουν χαρακτηριστεί ως γονιδιοτοξικοί, είναι το BaP (~92% των δειγμάτων), το Chr (~86% των δειγμάτων), το BbF (~85% των δειγμάτων), το BkF (~80% των δειγμάτων) και το BaA (74% των δειγμάτων).

Στα πυρηνέλαια, οι πιο συχνά εμφανιζόμενοι ΠΑΥ από τους 15 γονιδιοτοξικούς είναι το BaP (100% των δειγμάτων), το Chr (100% των δειγμάτων), το BghiP (100% των δειγμάτων), το BaA (89% των δειγμάτων), το IND (89% των δειγμάτων) και το BjF (78% των δειγμάτων).

Αντίστοιχα στα σπορέλαια έχουμε BaP (100% των δειγμάτων), BbF (75% των δειγμάτων) και BkF (75% των δειγμάτων).

Όπως προαναφέρθηκε, σε δύο από τα εννέα δείγματα πυρηνελαίων (ποσοστό 22%), το επίπεδο του BaP βρέθηκε να υπερβαίνει το νομοθετικό όριο των 2 µg/Kg. Επίσης στα δύο αυτά μη σύμφωνα με τη νομοθεσία δείγματα το επίπεδο των 15 μεταλλαξιογόνων/γονιδιοτοξικών ΠΑΥ είναι αρκετά υψηλότερο σε σχέση με το αντίστοιχο επίπεδο στα υπόλοιπα επτά.

Πιθανές αιτίες επιβάρυνσης του παρθένου ελαιολάδου με ΠΑΥ είναι οι ακόλουθες:

- συλλογή ελαιοκάρπου με χρήση βενζινοκίνητων ραβδιστικών μηχανημάτων
- παρουσία καυστήρων που χρησιμοποιούνται για τη θέρμανση του νερού μέσα στα ελαιουργεία και τα καυσαέρια που αυτοί εκπέμπουν, στον ίδιο χώρο όπου αποθηκεύεται το ελαιόλαδο.
- παρουσία εντός των ελαιουργείων μεταφορικών μέσων με κινητήρες εσωτερικής καύσης
- ατμοσφαιρική ρύπανση με σκόνη και αιωρούμενα σωματίδια που περιέχουν μεγάλες ποσότητες ΠΑΥ που παράγονται από την ατελή καύση οργανικών ενώσεων (πυρόλυση), π.χ. καύση κλαδιών, ξερών σταχυών, φωτιές σε χωματερές, εξατμίσεις αυτοκινήτων, νέφος αστικών περιοχών, καλλιέργειες κοντά σε αυτοκινητοδρόμους, κλπ. Οι ρύποι

αυτοί μπορεί να επικαθίσουν πάνω στα φυτά ή στην πρώτη ύλη για την παραγωγή ελαίων και το μεγαλύτερο ποσοστό τους μεταφέρεται στο τελικό προϊόν.

Πιθανές αιτίες επιβάρυνσης των ραφιναρισμένων ελαίων με ΠΑΥ είναι, εκτός από τις προαναφερθείσες και οι ακόλουθες:

- η απευθείας ξήρανση της ελαιοπυρήνας πάνω από φωτιά κατά την παραγωγή των πυρηνελαιών,
- η τεχνητή ξήρανση σπόρων για την παραγωγή σπορέλαιων, χωρίς να λαμβάνονται προστατευτικά μέτρα, όπως π.χ. έμμεση ξήρανση και έλεγχος της θερμοκρασίας.

Σημειώνεται ότι η τεχνητή ξήρανση των σπόρων είναι μία συνηθισμένη πρακτική και ιδιαίτερα όταν οι κλιματικές συνθήκες (βροχή κατά τη συγκομιδή) ευθύνονται για την υψηλή περιεκτικότητα της σοδειάς σε υγρασία. Οι σπόροι πρέπει να έχουν το επιθυμητό επίπεδο υγρασίας για την αποφυγή σχηματισμού μυκήτων και δευτερογενών τοξικών μεταβολιτών κατά την αποθήκευση αλλά και για την καλλίτερη εκχύλισή τους.

Ευτυχώς, το ραφινάρισμά μπορεί να μειώσει δραστικά το επίπεδο των ΠΑΥ. Η διεργασία της απόσμησης φαίνεται ότι έχει μικρή επίδραση στους υψηλού ΜΒ ΠΑΥ και απομακρύνει κυρίως τους «ελαφρείς» ΠΑΥ, ενώ οι «βαρείς» ΠΑΥ απομακρύνονται κυρίως μετά από επεξεργασία με ενεργό άνθρακα. Πράγματι είναι χαρακτηριστικό ότι τα εξαιρετικά παρθένα ελαιόλαδα που εξετάστηκαν εμφανίζουν ιδιαίτερα υψηλά επίπεδα του «ελαφρύ» ΠΑΥ πυρενίου (PYR) σε σχέση με τα ραφιναρισμένα έλαια.

Για την ομάδα των καπνιστών τροφίμων θα αναφερθούν στη συνέχεια ορισμένες γενικές πληροφορίες όσον αφορά στη σύνθεση του καπνού και τα αρώματα καπνιστών τροφίμων:

Η χημική σύνθεση του καπνού είναι πολύπλοκη και εξαρτάται, μεταξύ άλλων, από το είδος του ξύλου που χρησιμοποιείται, τη μέθοδο για την παραγωγή καπνού, την περιεκτικότητα του ξύλου σε νερό, τη θερμοκρασία και τη συγκέντρωση οξυγόνου κατά την παραγωγή του καπνού.

Ο καπνισμός με καπνό από ξύλο μπορεί να γίνει:

- είτε σε παραδοσιακές εγκαταστάσεις καπνίσματος, όπου ο καπνός παράγεται σε άμεση επαφή με το προϊόν,
- είτε σε σύγχρονες εγκαταστάσεις καπνίσματος, όπου ο καπνός παράγεται σε διαφορετικό θάλαμο από αυτόν που βρίσκεται το τρόφιμο, στη συνέχεια απομακρύνονται οι ενώσεις υψηλού σ.ζ. όπως οι ΠΑΥ και τα σωματίδια που ενδεχομένως περιέχουν ΠΑΥ και κατόπιν διοχετεύεται στο τρόφιμο.

Όσον αφορά στα αρτύματα καπνιστών τροφίμων, η χρήση τους θεωρείται ότι είναι λιγότερο επικίνδυνη για την υγεία από την παραδοσιακή διαδικασία καπνισμού. Αυτή η θεώρηση όμως μπορεί εύκολα να αναθεωρηθεί αν λάβουμε υπόψη μας τη σημαντική βελτίωση των παραδοσιακών μεθόδων καπνισμού, τα τελευταία χρόνια. Επίσης, στις εκτιμήσεις ασφαλείας πρέπει να ληφθεί υπόψη η πιθανότητα ευρύτερων εφαρμογών των αρτυμάτων καπνιστών τροφίμων σε σύγκριση με τον συμβατικό καπνισμό.

Όσον αφορά στα καπνιστά τρόφιμα (τυριά, κρεατοσκευάσματα και ψάρια) που εξετάστηκαν στην παρούσα εργασία, ο τρόπος κάπνισης (παραδοσιακός ή με αρώματα καπνού) δεν είναι γνωστός για την πλειονότητα των τυριών, για τα κρεατοσκευάσματα η κάπνιση έγινε με καπνό από καύση ξύλου, αλλά δεν είναι γνωστό, για την πλειονότητα των δειγμάτων, αν έγινε σε παραδοσιακές ή σύγχρονες εγκαταστάσεις, ενώ για τα ψάρια είναι γνωστό ότι η κάπνιση έγινε με καπνό από καύση ξύλου, σε σύγχρονες εγκαταστάσεις καπνίσματος.

Οι μεταλλαξιογόνοι/γονιδιοτοξικοί ΠΑΥ που απαντώνται με μεγαλύτερη συχνότητα είναι το BghiP (~96% του συνόλου των δειγμάτων καπνιστών τροφίμων) και το BaP (~93% του συνόλου των δειγμάτων καπνιστών τροφίμων). Επίσης στα καπνιστά τυριά και τα ψάρια ανιχνεύεται BkF στο 95% των δειγμάτων, ενώ στα κρεατοσκευάσματα στα μισά περίπου δείγματα. Στα ψάρια εμφανίζεται πολύ συχνά (83% των δειγμάτων) και ο ΠΑΥ BaA.

Πιθανές αιτίες επιβάρυνσης των καπνιστών προϊόντων με ΠΑΥ:

- ο παραδοσιακός καπνισμός, όπου ο καπνός έρχεται σε άμεση επαφή με το προϊόν,
- η περιβαλλοντική ρύπανση, κυρίως όσον αφορά στα ψάρια και τα αλιευτικά προϊόντα, π.χ. από πετρελαιοκηλίδες οφειλόμενες στη ναυτιλία,
- η πιθανή παρουσία ΠΑΥ στο έλαιο ή λίπος στο οποίο είναι εμβαπτισμένο το καπνιστό τρόφιμο .
- οι ΠΑΥ που ενδέχεται να περιέχονται στα αρτύματα καπνιστών τροφίμων, αν και τα επίπεδά τους είναι πολύ χαμηλά.

Οι ΠΑΥ που υπάρχουν στην πλειοψηφία των δειγμάτων των βρεφικών τροφών (4 ροφήματα γάλακτος σε σκόνη και 6 βρεφικές τροφές) είναι το BghiP (80% των δειγμάτων) και το BaP (60% των δειγμάτων). Αξίζει να σημειωθεί ότι το BaP εντοπίστηκε μόνο στις παιδικές τροφές και όχι στα ροφήματα γάλακτος σε σκόνη. Σε γενικές γραμμές η επιβάρυνση των βρεφικών τροφών με BaP χαρακτηρίζεται ιδιαίτερα χαμηλή καθώς έχουν τη μικρότερη επιβάρυνση από όλα τα δείγματα που εξετάστηκαν. Πιθανή προέλευση των ΠΑΥ στις βρεφικές τροφές είναι τα λίπη και έλαια που χρησιμοποιούνται κατά την παρασκευή τους και για την υποκατάσταση του λίπους του γάλακτος, τα λαχανικά και για τις τροφές σε σκόνη, ο τρόπος ξήρανσης.

Όσον αφορά στα αποξηραμένα φρούτα, η παρουσία ΠΑΥ οφείλεται σε τρεις κυρίως λόγους: στην περιβαλλοντική ρύπανση, στον τρόπο ξήρανσης των καρπών και στην πιθανή χρήση ελαίου για την επικάλυψη των καρπών προκειμένου να μην κολλάνε μεταξύ τους. Όπως αναφέρθηκε, το φορτίο των αποξηραμένων φρούτων σε ΠΑΥ είναι το μικρότερο από όλες τις κατηγορίες τροφίμων που εξετάστηκαν και ο ΠΑΥ που εμφανίζεται με τη μεγαλύτερη συχνότητα, αν και σε πολύ χαμηλά επίπεδα, είναι το BaP (80% των δειγμάτων).

Από τους υπολογισμούς της παρούσας εργασίας και λαμβάνοντας υπόψη τις εκτιμήσεις επικινδυνότητας για το BaP που πραγματοποίησε η Μικτή Επιτροπή Εμπειρογνομόνων του Οργανισμού Τροφίμων και Γεωργίας των Ηνωμένων Εθνών και του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (JECFA, 2005), προκύπτει ότι τα περιθώρια έκθεσης στο BaP είναι αρκετά μεγάλα για τις ομάδες τροφίμων που εξετάστηκαν (λίπη και έλαια, καπνιστά κρεατοσκευάσματα, τυριά, ψάρια, αποξηραμένα φρούτα). Ωστόσο,

προκειμένου να έχουμε μία πιο αντιπροσωπευτική εικόνα των περιθωρίων έκθεσης στο BaP για την Ελλάδα, πρέπει να εξεταστούν και άλλες κατηγορίες τροφίμων που έχουν κατηγορηθεί ότι συμμετέχουν σημαντικά στην πρόσληψη ΠΑΥ, όπως είναι τα ψημένα στα κάρβουνα κρέατα και ψάρια, τα δημητριακά και τα προϊόντα αυτών και τα δίθυρα μαλάκια.

Λαμβάνοντας υπόψη το ότι δεν υπάρχει όριο για τη δράση των γονιδιατοξικών ουσιών και την πιθανή συνεργιστική δράση αυτών, πρέπει να μεριμνάται ώστε τα επίπεδα των ΠΑΥ στα τρόφιμα να είναι όσο το δυνατό χαμηλότερα.

Τέλος, λαμβάνοντας υπόψη εκτιμώμενη ημερήσια πρόσληψη BaP από τις ομάδες τροφίμων που εξετάστηκαν, συμπεραίνουμε ότι τα επίπεδα των ΠΑΥ που βρίσκονται στα τρόφιμα που εξετάστηκαν δεν εμπνέουν ιδιαίτερη ανησυχία για την ανθρώπινη υγεία. Ωστόσο, το συμπέρασμα αυτό είναι εν μέρει καθυστερητικό, γιατί δεν γνωρίζουμε την πρόσληψη ΠΑΥ από ομάδες τροφίμων, οι οποίες έχουν κατηγορηθεί ότι συμμετέχουν σημαντικά στην πρόσληψη των ενώσεων αυτών, όπως είναι τα ψημένα στα κάρβουνα τρόφιμα, τα δημητριακά και προϊόντα αυτών και τα μύδια.

Τα παραπάνω αποτελέσματα μπορούν να βοηθήσουν στην ερμηνεία της προέλευσης των ΠΑΥ στα τρόφιμα, στην εξεύρεση τρόπων περαιτέρω μείωσης των επιπέδων τους και να αποτελέσουν μία βάση για μελέτη και άλλων ομάδων τροφίμων που ενδέχεται να συμμετέχουν σημαντικά στην πρόσληψη ΠΑΥ από τις τροφές.

Βιβλιογραφία

1. Albert, R.E., Miller, M.L., Cody, T.E., (1991b). *Cell kinetics and benzo[a]pyrene-DNA adducts in mouse skin tumorigenesis*. Prog. Clin. Biol. Res. 369, 115-122.
2. ATSDR, Toxicological profile for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH): update. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Services, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta, 1994
3. Badiali, D., Marcheggiano, A., Pallone, F., (1985). *Melanosis of the rectum in patients with chronic constipation*. Dis. Colon. Rectum, 28, 241-245.
4. Bingham, E., Falk, H.L., (1969). Environmental carcinogens: *The modifying effect of carcinogens on the threshold response*. Arch. Environ. Health, 19, 779-783.
5. Cavalieri, E.L., Rogan, E., Cremonesi, P., (1988b). *Tumorigenicity of 6-halogenated derivatives of benzo[a]pyrene in mouse skin and rat mammary gland*. J. Cancer Res. Clin. Oncol. 114, 10-15.
6. Cottini, G.B., Mazzone, G.B., (1939). *The effects of 3.4-benzpyrene on human skin*. Am. J. Cancer, 37, 186-195.
7. Delistraty, D., (1997). *Toxic equivalency factor approach for risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons*. Toxicol. Environ. Chem. 64, 81-108.
8. European Commission, Opinion of the Scientific Committee on Food, Annex Polycyclic Aromatic Hydrocarbons – Occurrence in foods, dietary exposure and health effects, Brussels, 2002. http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out157_en.pdf
9. European Commission, Regulation (EC) No 2065/2003, Off. J. Eur. Comm. L309, 2003, 1.
10. European Commission, Reports on tasks for scientific cooperation, TASK 3.2.12 Collection of occurrence data on polycyclic aromatic hydrocarbons in food, Directorate-General Health and Consumer Protection, 2004.

11. European Union, Commission Recommendation 2005/108/EC, Off. J. Eur. Comm. L34, 2005, 43.
12. European Union, Commission Regulation (EC) 1881/2006 Off. J. Eur. Comm. L364, 2006, 5-24.
13. Gupta, P., Banerjee, D.K., Bhargava, S.K., (1993). *Prevalence of impaired lung function in rubber manufacturing factory workers exposed to benzo (a) pyrene and respirable particulate matter*. Indoor Environ. 2, 26-31.
14. Habs, M., Schmahl, D., Misfeld, J., (1980). *Local carcinogenicity of some environmentally relevant polycyclic aromatic hydrocarbons after lifelong topical application to mouse skin*. Arch. Geschwulstforsch, 50, 266-274.
15. Hammond, E.D., Selikoff I.J., Lawther, P.O., (1976). *Inhalation of B[a] P and cancer in man*. Ann. NY Acad. Sci. 271, 116-124.
16. Harper, B.L., Ramanujam, V.M.S., Legator, M.S., (1989). *Micronucleus formation by benzene, cyclophosphamide, benzo (a) pyrene, and benzidine in male, female, pregnant female, and fetal mice*. Teratogen. Carcinogen. Mutagen. 9(4), 239-252.
17. Harris, C.C., Hsu, I.C., Stoner, G.D., Trump, B.F., and Selkirk, J.K., Nature, 1978a, 272, 633-634.
18. He, S.L., Baker, R., (1991). *Micronuclei in mouse skin cells following in vivo exposure to benzo[a]pyrene, 7,12-dimethylbenz[a]anthracene, chrysene, pyrene, and urethane*. Environ. Mol. Mutagen. 17(3), 163-168.
19. Horton, A.W., Christian, G.M., (1974). *Cocarcinogenic versus incomplete carcinogenic activity among aromatic hydrocarbons: Contrast between chrysenes and benzo[b]triphenylene*. J. Natl. Cancer Inst. 53, 1017-1020.
20. Hughes, N.C., Pfau, W., Hewer, A., Jacob, J., Grimmer, G., and Phillips, D.H., Carcinogenesis, 1993, 14, 135-44.

21. IARC, Metabolic polymorphisms and susceptibility to cancer, Vineis, P., Malats, N., Lang, M., d'Erizzo, A., Capasso, N., Cuzick, J., and Boffetta, P., eds., IARC Scientific Publications no 148, International Agency for Research on Cancer, World Health Organization, Lyon, 1999, pp 505.
22. IARC, Overall evaluation of carcinogenicity: An updating of IARC Monographs Volumes 1 to 42. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Supplement 7, International Agency for Research on Cancer, World Health Organization, Lyon, 1987.
23. IPCS, Selected Non-heterocyclic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. Environmental Health Criteria 202. International Programme on Chemical Safety, World Health Organization, Geneva, 1998.
24. ISO 15753:2006, *Animal and vegetable fats and oils – determination of polycyclic aromatic hydrocarbons*.
25. Iwata, K., Inui, N., Takeuchi, T., (1981). *Induction of active melanocytes in mouse skin by carcinogens: A new method for detection of skin carcinogens*. Carcinogenesis (London) 2, 589-594.
26. Kawamura, Y., Kamata, E., Ogawa, Y., Kaneko, T., Uchiyama, S., and Saito, Y., J Food Hyg. Soc. Jpn, 1988, 29, 21-25.
27. Kenneway, E.L., (1924). *On cancer-producing tars and tar-fractions*. J. Ind. Hyg. 5, 462-490.
28. Klein, M., (1963). *Susceptibility of strain B6AF1J hybrid infant mice to tumorigenesis with 1, 2-benzanthracene, deoxycholic acid and 3-methylcholanthrene*. Cancer Res. 23, 1701-1707.
29. Lee, M.L., Novotny, M.V. and Bartle, K.D., in *Analytical Chemistry of Polycyclic Aromatic Compounds*, Academic Press, New York, 1981, Chapter 1.
30. Lloyd, J.W., (1971). *Long-term mortality study of steelworkers: V. Respiratory cancer in coke plant workers*. J. Occup. Med. 13, 53-68.

31. Maclure, K.M., MacMahon, B., (1980). *An epidemiologic perspective of environmental carcinogenesis*. Epidemiol Rev. 2, 19-48.
32. Madhavan, N.D., and Naidu, K.A., Hum. Exp. Toxicol, 1995. 14, 503-506.
33. Mazumdar, S., Redmond, C.K., Sollecito, W., (1975). *An epidemiological study of exposure to coal tar pitch volatiles among coke oven workers*. J. Air Pollut. Control Assoc. 25, 382-389.
34. McCormick, D.L., Burns, F.J., Alberg, R.E., (1981). *Inhibition of benzo[a]pyrene-induced mammary carcinogenesis by retinyl acetate*. J. Natl. Cancer Inst. 66, 559-564.
35. Mitchell, C.E., (1982). Toxicol Lett, 11, 35-42.
36. Moller, M., Hagen, I., Ramdahl, T., (1985). *Mutagenicity of polycyclic aromatic compounds (PAC) identified in source emissions and ambient air*. Mutation Research, 149-156.
37. Moreda, W., Rodriguez-Acuna, R., Perez-Camino, M.C., and Cert, A., (2004). J Sci Food Agric, 84, 1759-1764.
38. Mumford, J.L., Lee, X., Lewtas, J., (1993). *DNA adducts as biomarkers for assessing exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in tissues from Xuan Wei women with high exposure to coal combustion emissions and high lung cancer mortality*. Environ. Health Perspect, 99, 83-87.
39. National Academy Press, Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Evaluation of sources and Effects., Washington, D.C., 1983, Chapter 3.
40. Nikolaou, K., Masclet, P., and Mouvier, G., (1984). Science of Total Environ, 32, 103.
41. Pickering, R.W., (1999). *A toxicological review of polycyclic aromatic hydrocarbons*. J. Toxicol. Cutan. Ocul. Toxicol. 18, 101-135.
42. Pitts, J.N., Lokensgard, D.M., Harger, W., Fisher, T.S., Mejia, V., Schuler, J.J., Scorziell, G.M., Katzenstein, Y.A., (1982). *Mutagens in diesel exhaust particulate*.

Identification and direct activities of 6-nitrobenzo[a]pyrene, 9-nitroanthracene, 1-nitropyrene and 5H-phenanthro [4, 5-bcd] pyran-5-one. Mutation Research, 103, 241-249.

43. Pott, P., (1775). *Surgical observations relative to the cancer of the scrotum.* London. Reprinted in Natl. Cancer Institute Monographs, 10, 7-13.

44. Purde, M., Etlin, S., (1980). *Cancer cases among workers in the Estonia oil shale processing industry: Health implications of new energy technologies.* Ann Arbor, MI: Ann Arbor Science, 527-528.

45. Ramesh, A, Walker, S.A., Hood, D.B., Guillen, M.D., Schneider, K., and Weyand, E.H., International Journal of Toxicology, 2004, 23, 301-333.

46. Redmond, E., Strobino, B., Cypress, R., (1976). *Cancer experience among coke by-product workers.* Ann. NY Acad. Sci. 2-7, 102-115.

47. Rees, E.D., Mandelstam, P., Lowry, J.Q., and Lipscomb, H., Biochem Biophys Acta, 1971, 225, 96-107.

48. Shay, H., Aegerter, E.A., Gruenstein, M., and Komarov, S.A., J Natl Cancer Inst, 1949, 10, 255-266.

49. Szczeklik, A., Szczeklik, J., Galuszka, Z., (1994). *Humoral immunosuppression in men exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons and related carcinogens in polluted environments.* Environ. HealthPerspect. 102(3), 302-304.

50. Takahashi, G., Distribution and excretion of the hydrocarbon 3-methylcholanthrene in the animal body. In: Gelboin HV and Ts'o POP, ed. polycyclic hydrocarbons and cancer, Vol. 1. New York, Academic Press, 1978, pp 233-246.

51. U.S. Environmental Protection Agency. Designation, reportable quantities, and notification. U.S. Environmental Protection Agency. Code of federal regulations. 40 CFR 302.4, 1989d.

52. Warshawsky, D., Barkley, W., Bingham, E., (1993). *Factors affecting carcinogenic potential of mixtures*. Fundam. Appl. Toxicol. 20, 376-382.
53. Weyland, E.H., Wu, Y., Patel, S., (1991b). Biochemical effects of coal tar in mice following ingestion. Polycyclic aromatic compound. Synthesis. Properties, analytical measurements, occurrence and biological effects. Proceedings of the thirteenth international symposium on polynuclear aromatic hydrocarbons. Philadelphi, PA: Gordon and Breach.
54. WHO, Polynuclear aromatic hydrocarbons (PAH). In: WHO Air Quality Guidelines for Europe, 2nd ed., World Health Organization, Regional Office for Europe, Copenhagen, 2001.
55. 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.
56. Wynder, E.L., Hoffmann, D., (1959a). *A study of tobacco carcinogenesis: VII. The role of higher polycyclic hydrocarbons*. Cancer, 12, 1079-1086.
57. Wynder, E.L., Hoffmann, D., (1959b). *The carcinogenicity of benzo[fluoranthene]*. Cancer, 12, pp. 1194.
58. Wynder, E.L., Hoffmann, D., (1967). *Tobacco and tobacco smoke*. New York, Academic Press 1967.
59. Yamagiwa, K., Ichikawa, K., (1918). *Experimental study of the pathogenesis of carcinoma*. J. Cancer Res. 3, 1-29.

Πηγές στο διαδίκτυο

- http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out154_en.pdf [προσβάσιμο 17 Νοεμβρίου 2012]
- <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:215:0004:0008;EL:PDF> [προσβάσιμο 8 Σεπτεμβρίου 2012]
- <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/index.asp> [προσβάσιμο 12 Απριλίου 2012]
- <http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/ClassificationsCASOrder.pdf> [προσβάσιμο 4 Οκτωβρίου 2012]