



ΧΗΜΙΚΗ ΚΑΙ ΒΙΟΜΟΡΙΑΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

«Μέθοδοι ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης οργανοχλωριωμένων
φυτοφαρμάκων και πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων
στα φυτικά έλαια»

«Τζέκος Βασίλειος»

Επιβλέπων καθηγητής: «Τσιαφούλης Κωνσταντίνος»

Πάτρα, «Ιούλιος» «2024»

© Ελληνικό Ανοικτό Πανεπιστήμιο, 2017

Η παρούσα Εργασία καθώς και τα αποτελέσματα αυτής, αποτελούν συνιδιοκτησία του ΕΑΠ και του φοιτητή, ο καθένας από τους οποίους έχει το δικαίωμα ανεξάρτητης χρήσης, αναπαραγωγής και αναδιανομής τους (στο σύνολο ή τμηματικά) για διδακτικούς και ερευνητικούς σκοπούς, σε κάθε περίπτωση αναφέροντας τον τίτλο και το συγγραφέα της Εργασίας καθώς και το όνομα του ΕΑΠ όπου εκπονήθηκε.

«Μέθοδοι ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης οργανοχλωριωμένων
φυτοφαρμάκων και πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων
στα φυτικά έλαια»

«Τζέκος Βασίλειος»

Επιτροπή Επίβλεψης Πτυχιακής / Διπλωματικής Εργασίας

Επιβλέπων Καθηγητής:

«Τσιαφούλης Κωνσταντίνος»

«Μέλος Ε.Δ.Ι.Π., Βαθμός Α του

Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, Τμήμα

Χημείας, Εργαστήριο Αναλυτικής

Χημείας, Κέντρο NMR

Μέλος ΣΕΠ του Ελληνικού Ανοικτού

Πανεπιστημίου, ΜΠΣ “Χημική και

Βιομοριακή Ανάλυση”»

Συν-Επιβλέπων Καθηγητης:

«Καμπόλης Αναστάσιος»

«Μέλος ΣΕΠ του Ε.Α.Π»

Πάτρα, «Ιούλιος» «2024»

«Ευχαριστίες ή Αφιέρωση»

Με την ολοκλήρωση αυτής της διπλωματικής εργασίας, θα ήθελα να εκφράσω την ειλικρινή μου ευγνωμοσύνη προς όλους όσους συνέβαλαν στην πραγματοποίησή της. Ιδιαίτερα, ευχαριστώ τον επιβλέποντα καθηγητή μου, κ. Τσιαφούλη Κωνσταντίνο, για την πολύτιμη καθοδήγηση και τις συμβουλές του καθ' όλη τη διάρκεια της εργασίας. Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου για την αμέριστη υποστήριξη και την κατανόηση που μου έδειξαν σε κάθε βήμα αυτής της απαιτητικής διαδικασίας. Τέλος, ευχαριστώ τους συναδέλφους και φίλους μου, οι οποίοι με ενθάρρυναν και μοιράστηκαν μαζί μου τις δικές τους εμπειρίες και γνώσεις. Χωρίς την αμέριστη υποστήριξη όλων αυτών των ανθρώπων, η ολοκλήρωση αυτής της διπλωματικής εργασίας δεν θα ήταν δυνατή.

Πάτρα, Ιούλιος 2024

Περίληψη

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε για το τμήμα Χημικής και Βιομοριακής Ανάλυσης και πραγματεύεται την διαδικασία για την απομόνωση, τον προσδιορισμό και τη ποσοτικοποίηση των έμμονων οργανικών ρυπαντών (Persistent Organic Pollutants) στα φυτικά έλαια. Πιο συγκεκριμένα, οι POPs είναι τα οργανοχλωριωμένα φυτοφάρμακα (OCPs) και οι πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες (PAHs). Η εργασία ξεκινάει το πρώτο μέρος της με κάποια εισαγωγικά στοιχεία για τους POPs και στη συνέχεια εμβαθύνει λίγο περισσότερο στα οργανοχλωριωμένα φυτοφάρμακα και τους πολυκυκλικούς αρωματικούς υδρογονάνθρακες. Στη συνέχεια, στο δεύτερο μέρος γίνεται μια εισαγωγή στα φυτικά έλαια, το πως επιμολύνονται, τα επίπεδα των ρύπων σε αυτά και αναφέρονται κάποιες νομοθεσίες σχετικά με τα επιτρεπτά όρια. Στο τρίτο μέρος, αναλύονται οι τεχνικές που χρησιμοποιούνται για την δειγματοληψία, τον καθαρισμό και την απομόνωση των OCPs και των PAHs, δηλαδή διάφορες μέθοδοι εκχύλισεων. Το τέταρτο μέρος αυτής της εργασίας, περιλαμβάνει μια αναλυτική περιγραφή των τεχνικών ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης των ουσιών που μελετούνται. Αυτές δεν είναι άλλες από την Αέρια Χρωματογραφία (GC) και την Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης (HPLC). Έπειτα, στο πέμπτο μέρος της διπλωματικής γίνεται μια περιγραφή διαφόρων ερευνών της βιβλιογραφίας που έχουν ασχοληθεί με την ολόκληρη τη διαδικασία της επεξεργασίας των ελαίων, την απομόνωση των ουσιών στόχων, την ταυτοποίηση και την ποσοτικοποίηση τους. Τέλος, στο έκτο και τελευταίο μέρος παρατίθενται κάποια συμπεράσματα όσον αφορά τα αποτελέσματα των ερευνών, την ασφάλεια των τροφίμων και συνεπώς του καταναλωτή με στόχο την μικρότερη δυνατή επιμόλυνση των φυτικών ελαίων.

Λέξεις – Κλειδιά

Οργανοχλωριωμένα, φυτοφάρμακα, πολυκυκλικοί, αρωματικοί, υδρογονάνθρακες, εκχύλιση, ποσοτικοποίηση

Abstract

This thesis was prepared for the Department of Chemical and Biomolecular Analysis and deals with the procedure for the isolation, determination and quantification of persistent organic pollutants (POPs) in vegetable oils. More specifically, POPs are organochlorine pesticides (OCPs) and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). The thesis' first part provide information on POPs and then goes a little “deeper” into organochlorine pesticides and polycyclic aromatic hydrocarbons. Then, in the second part, there is an introduction to vegetable oils, how they are contaminated, the levels of pollutants in them and some legislations regarding the permissible limits are mentioned. In the third part, the techniques used for sampling, purification and isolation of OCPs and PAHs are analyzed, i.e. various extraction methods. The fourth part of this work includes a detailed description of the detection and quantification techniques of the substances under study. These are none other than Gas Chromatography (GC) and High Performance Liquid Chromatography (HPLC). Then, in the fifth part of the dissertation, a detailed description of various researches in the literature that have dealt with the entire process of oil processing, the isolation of the target substances, their identification and quantification is made. Finally, in the sixth and last part, some conclusions are listed regarding the results of the research, the safety of food and therefore of the consumer with the aim of the least possible contamination of vegetable oils.

Keywords

Organochlorine, Pesticides, Polycyclic, Aromatic, Hydrocarbons, Extraction, Quantification

Περιεχόμενα

Περίληψη.....	v
Abstract.....	vi
Περιεχόμενα.....	vii
Κατάλογος Εικόνων / Σχημάτων.....	viii
Κατάλογος Πινάκων.....	ix
Συντομογραφίες & Ακρωνύμια.....	x
1 Εισαγωγή.....	1
1.1 Εισαγωγικά στοιχεία για τους POP.....	1
1.2 Οργανοχλωριωμένα φυτοφάρμακα (OCPs).....	4
1.3 Πολυκυκλικοί Αρωματικοί Υδρογονάνθρακες (PAH).....	16
2 Φυτικά έλαια.....	22
2.1 Πως τα φυτικά έλαια επιμολύνονται.....	23
2.2 Επίπεδα POP στα έλαια.....	28
2.3 Ανώτατα επιτρεπτά όρια για τους POPs.....	29
3 Μέθοδοι Προσδιορισμού.....	32
3.1 Τεχνικές δειγματοληψίας.....	32
3.2 Μέθοδοι για την απομόνωση OCPs και PAHs από φυτικά έλαια.....	33
4 Τεχνικές ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης.....	44
4.1 Αέρια Χρωματογραφία.....	44
4.2 Υγρή Χρωματογραφία (Liquid Chromatography).....	52
5 Εφαρμογές των μεθόδων σε έρευνες για τον προσδιορισμό OCPs και PAHs στα φυτικά έλαια.....	59
5.1 OCPs σε 11 τύπους φυτικών ελαίων των Cui et al., 2020.....	59
5.2 OCPs σε βούτυρο, ελαιόλαδο και αραβοσιτέλαιο.....	61
5.3 OCPs και PCBs σε φυτικά έλαια.....	65
5.4 PAH σε ελαιόλαδο.....	68
5.5 PAH σε βρώσιμα έλαια.....	75
5.6 PAH σε φυτικά έλαια.....	76
6 Συζήτηση - Συμπεράσματα.....	81
.....	84
Βιβλιογραφία.....	85

Κατάλογος Εικόνων / Σχημάτων

Σχήμα 1: Δομή των PCBs (ATSDR Clinician Brief: Polychlorinated Biphenyls ATSDR, 2024)	1
Σχήμα 2: Δομή ακούσιας παραγωγής POPs. P.R.S. Kodavanti, ... K.R.S. Sambasiva Rao, in Reference Module in Biomedical Sciences, 2014.....	4
Σχήμα 3: Δομή σκοπίμως τεχνητών POPs. P.R.S. Kodavanti, ... K.R.S. Sambasiva Rao, in Reference Module in Biomedical Sciences, 2014.....	4
Σχήμα 4: Δομή DDT https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Clofenotane.....	7
Σχήμα 5: Κοινή δομή των κυκλοδιενίων (Narges Khanjani et al., 2007).....	11
Σχήμα 6: Molecular structures of PAHs (Sahoo et al., 2020).....	17
Σχήμα 7: Σχηματικό διάγραμμα φυσιγγίου SPE (Badawy et al., 2022).....	35
Σχήμα 8: Διαγραμμάτική απεικόνιση εκχύλισης υγρού-υγρού (Nichols, L. Overview of Extraction).....	37
Σχήμα 9: Διάγραμμα των τριών βασικών μεθόδων QuEChERS (Anastassiades et al., 2003)	39
Σχήμα 10: Γενική αρχή εμφάνισης της SPME (Weggler et al., 2020).....	41
Σχήμα 11: Προσροφητική εκχύλιση με ράβδο ανάδευσης. Δειγματοληψία εμφάνισης (αριστερά) και headspace (δεξιά)(Zuloaga et al., 2020).....	42
Σχήμα 12: Αρχή της Αέριας Χρωματογραφίας (Bitesize Bio, 2016).....	45
Σχήμα 13: Σχηματικό διάγραμμα ανιχνευτή δέσμμευσης ηλεκτρονίων για αέρια χρωματογραφία(Gas Chromatography: Detectors for Gas Chromatography, n.d.).....	47
Σχήμα 14: Διάγραμμα ανιχνευτή αζώτου φωσφόρου (Barry et al., 2004).....	49
Σχήμα 15: Διαγραμμα συστήματος LC-MS (Skoog et al., 2013).....	56
Σχήμα 16: Συνολική συγκέντρωση φυτοφαρμάκων σε διαφορετικούς τύπους φυτικών ελαίων (Cui et al., 2020).....	61
Σχήμα 17: Υπολείμματα οργανοχλωριωμένων εντομοκτόνων στα δείγματα ελαιολάδου και καλαμποκέλαιου (El et al., 2017).....	63
Σχήμα 18: Εκτιμώμενη ημερήσια πρόσληψη (EDI) και όριο επικινδυνότητας (THQ) για τις τιμές υπολειμμάτων οργανοχλωριωμένων εντομοκτόνων στα δείγματα ελαιολάδου και αραβοσιτέλαου (mg/kg)(El et al., 2017).....	64
Σχήμα 19: Σύνοψη του μέσου ποσοστού ανάκτησης ± RSD (%) (n = 5), LOD και LOQ των OCPs και PCB που αναλύθηκαν σε βρώσιμα φυτικά έλαια με την μέθοδο MSPD (Li et al., 2014).....	67
Σχήμα 20: Ελάχιστη, μέγιστη και διάμεση ποσοτική συγκέντρωση κάθε PAH, η συνολική περιεκτικότητα σε PAH, PAH4+Trp και PAH8 στα αναλυόμενα δείγματα ελαιολάδου (Ekner et al., 2022).....	73

Κατάλογος Πινάκων

<u>Πίνακας 1 Ανώτατα όρια συγκέντρωσης των POPs στα απόβλητα.....</u>	<u>30</u>
<u>Πίνακας 2 Μέγιστα επιτρεπτά επίπεδα (μg/kg) ΠΑΥ στα τρόφιμα.....</u>	<u>31</u>

Συντομογραφίες & Ακρωνύμια

POP Persistent Organic Pollutant

PAH Polycyclic Aromatic Hydrocarbon

OCP Organochlorine Pesticides

GC Gas Chromatography

HPLC High-Performance Liquid Chromatography

SPE Solid Phase Extraction

SPME Solid phase Microextraction

SBSE Stir-bar-sorptive extraction

LLE Liquid-liquid extraction

NPD Nitrogen Phosphorus Detector

ECD Electron Capture Detector

FPD Flame Photometric Detector

MS Mass Spectrometry

1 Εισαγωγή

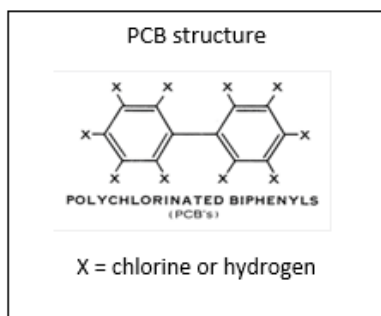
1.1 Εισαγωγικά στοιχεία για τους POP

Οι έμμονοι οργανικοί ή ανθεκτικοί ρύποι (Persistent Organic Pollutants) (POPs) είναι χημικές ουσίες που εμμένουν στο περιβάλλον, βιοσυσσωρεύονται μέσω του τροφικού ιστού και ενέχουν κίνδυνο να προκαλέσουν δυσμενείς επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία και το περιβάλλον (United Nations Environment Programme, UNEP).

Όπως και με άλλες χημικές ουσίες, αυτές οι ενώσεις μπορεί να είναι επιβλαβείς, ακόμη και αν τα επίπεδα ρύπανσης του περιβάλλοντος είναι χαμηλά. Επιπλέον, η παρατεταμένη έκθεση στην τοξική ουσία αυξάνει τον κίνδυνο βλάβης.

Οι POP είναι, εξ ορισμού, επίμονοι και αυτή η ιδιότητα σχετίζεται γενικά με τη χημική τους σταθερότητα. Σε αντίθεση με τις εξαιρετικά δραστικές ουσίες που είναι σχετικά βραχύβιες, οι έμμονοι ρύποι είναι εξαιρετικά ανθεκτικοί στη βιολογική, φωτολυτική και χημική αποδόμηση. Αυτό το χαρακτηριστικό κάνει τους POP να παραμένουν στο περιβάλλον για παρατεταμένη χρονική περίοδο (δηλαδή με χρόνο ημιζωής ($1/2t$) μεγαλύτερο από 6 μήνες), αντιπροσωπεύοντας έτσι κίνδυνο μακροχρόνιας έκθεσης. Η ανθεκτικότητα μιας χημικής ουσίας εξαρτάται από τη δυσκολία με την οποία διασπάται και αποικοδομείται σε άλλες λιγότερο επικίνδυνες ουσίες (Fitzgerald & Wikoff, 2014).

Αυτό συνδέεται με ορισμένα δομικά χαρακτηριστικά του μορίου, όπως η παρουσία αρωματικών συστημάτων και η αντικατάσταση ενός ή περισσότερων ατόμων υδρογόνου στην αρωματική δομή από ένα ή περισσότερα αλογόνα. Ο δεσμός άνθρακα-αλογόνου είναι στην πραγματικότητα πολύ σταθερός και ανθεκτικός στην υδρόλυση, και όσο μεγαλύτερος είναι ο αριθμός των ατόμων αλογόνου, τόσο μεγαλύτερη είναι η αντίσταση στη βιολογική και φωτολυτική αποικοδόμηση.



Σχήμα 1: Δομή των PCBs
(ATSDR Clinician Brief:
Polychlorinated Biphenyls |
ATSDR, 2024)

Από τεχνική άποψη, η σταθερότητα που επιτυγχάνεται με την αλογόνωση είναι ένα επιθυμητό χαρακτηριστικό. Η αντοχή στη καύση των πολυχλωριωμένων διφαινυλίων (PCB), για παράδειγμα, αυξάνεται με τη χλωρίωση, ενώ στην περίπτωση του 1,1,1-τριχλωρο-2,2-δις(4-χλωροφαινυλ)αιθανίου (DDT) εξασφαλίζει μεγαλύτερης διάρκειας επιπτώσεις στα έντομα.

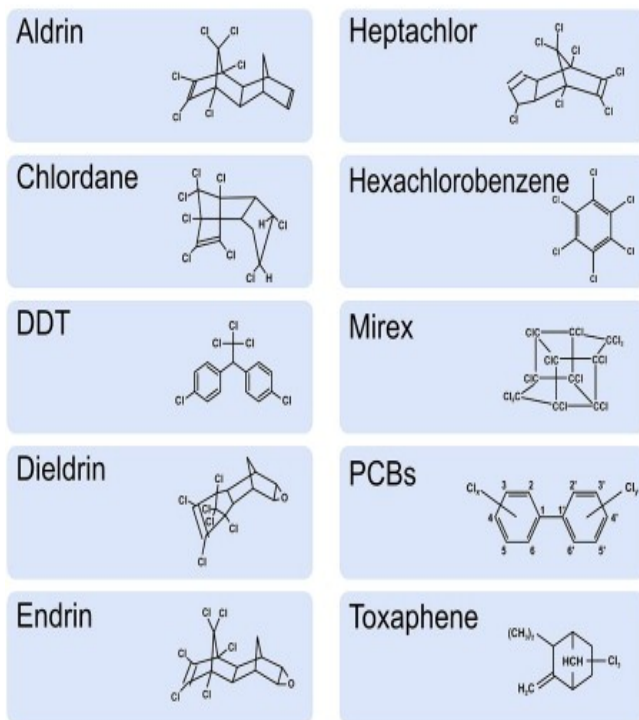
Από την άλλη πλευρά, όσο πιο σταθερές είναι οι ουσίες τόσο περισσότερο ανθίστανται στην αποικοδόμηση και τόσο περισσότερο παραμένουν στο περιβάλλον. Επιπλέον, POP μπορούν να βρεθούν σε κάθε μέρος του κόσμου, ακόμη και σε περιοχές όπου οι ανθρώπινες δραστηριότητες απουσιάζουν σχεδόν εντελώς, για παράδειγμα, στην Ανταρκτική και την Αρκτική. Στην πραγματικότητα, παρά το γεγονός ότι αυτά τα μόρια υπάρχουν κατά προτίμηση σε εδάφη, ιζήματα και ζωντανούς οργανισμούς, υπό κανονικές συνθήκες μπορούν να εξατμιστούν (Grimm et al. 2015). Συγκεκριμένα, οι ρύποι με σχετικά χαμηλή πτητικότητα δεν παραμένουν για πολύ στην ατμόσφαιρα, αλλά προσροφούνται στην επιφάνεια των αιωρούμενων σωματιδίων, και επικάθονται στο έδαφος. Ωστόσο, οι πιο πτητικοί POP παραμένουν στην ατμόσφαιρα για περισσότερο, ακόμη και εβδομάδες, προτού “εγκατασταθούν” ξανά στην επιφάνεια της Γης. Αυτό σημαίνει ότι οι άνεμοι μπορούν να τους μεταφέρουν χιλιάδες χιλιόμετρα μακριά από τις πηγές τους, που βρίσκονται σε παρόμοια συγκέντρωση σε όλο τον κόσμο. Σε ορισμένες περιπτώσεις, οι συγκεντρώσεις POP στα νερά και τα ιζήματα της Αρκτικής και της Ανταρκτικής μπορεί να είναι υψηλότερες από ό,τι αλλού. Αυτό το φαινόμενο φαίνεται να συνδέεται με τη μείωση της πτητικότητας της ουσίας με τη μείωση της θερμοκρασίας, όπου οι ρύποι που εξατμίζονται σε θερμά γεωγραφικά πλάτη μεταφέρονται από τους ανέμους σε πολικές περιοχές όπου συμπυκνώνονται και συγκεντρώνονται (Fitzgerald & Wikoff, 2014).

Οι POPs χαρακτηρίζονται επίσης από την ικανότητά τους να βιοσυσσωρεύονται. Ο βαθμός στον οποίο βιοσυσσωρεύονται εξαρτάται από τη διαλυτότητα της ουσίας στα λιπίδια. Οι εξαιρετικά λιπόφιλες ουσίες είναι ουσιαστικά αδιάλυτες στο νερό, όπως συνήθως φαίνεται από τις υψηλές τιμές του συντελεστή κατανομής n-οκτανόλης-νερού (K_{ow}). Έτσι, στο υδάτινο περιβάλλον, εμφανίζουν ισχυρή συγγένεια με τα αιωρούμενα σωματίδια, τα ιζήματα και τους ζωντανούς οργανισμούς, όπου φθάνουν σε

συγκεντρώσεις πολλές φορές υψηλότερες από ό,τι στο ίδιο το νερό (Gobas & Morrison, 2000). Οι αλογονωμένες οργανικές ενώσεις είναι λιγότερο διαλυτές στο νερό και περισσότερο διαλυτές στα λιπίδια σε σχέση με τις αντίστοιχες μη αλογονωμένες ενώσεις τους. Αυτό ενισχύει την τάση αυτών των ουσιών να συγκεντρώνονται στον λιπώδη ιστό του ζωντανού οργανισμού. Οι συγκεντρώσεις Πολυχλωριωμένων διφαινυλίων (Polychlorinated biphenyl) (PCB) στα ψάρια είναι, για παράδειγμα, δεκάδες έως εκατοντάδες χιλιάδες φορές υψηλότερες από ό,τι στο νερό στο οποίο ζουν τα ψάρια. Συνήθως, η ικανότητα των αλογονωμένων οργανικών ενώσεων να βιοσυσσωρεύονται αυξάνεται με το βαθμό αλογόνωσης, αν και σε ορισμένες περιπτώσεις, τα μόρια με μέγιστο βαθμό αλογόνωσης παρουσιάζουν μικρότερη τάση βιοσυσσώρευσης, λόγω της μεγαλύτερης δυσκολίας διέλευσης από τις κυτταρικές μεμβράνες των ζωντανών οργανισμών (US EPA, 2018).

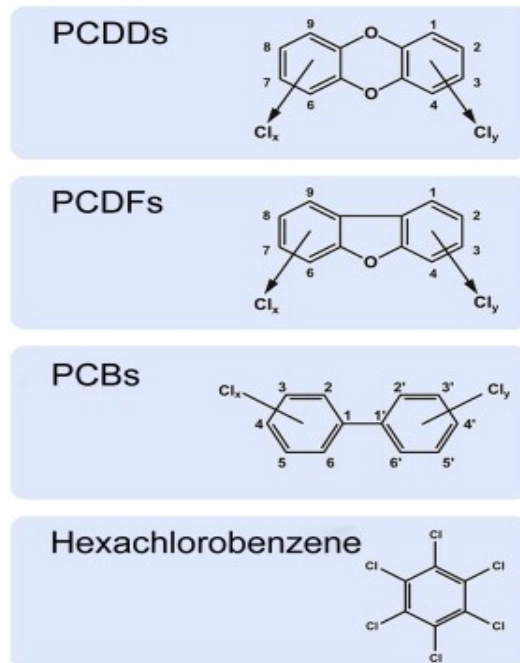
Ως αποτέλεσμα της βιοσυσσώρευσης (bioaccumulation), ορισμένες οργανικές ανθεκτικές ουσίες υπόκεινται σε διαδικασία βιομεγέθυνσης (biomagnification), επομένως αυτά τα μόρια βρίσκονται σε υψηλότερες συγκεντρώσεις σε ζώα στα υψηλότερα επίπεδα της τροφικής αλυσίδας. Αυτό συνδέεται με το γεγονός ότι τα αρπακτικά ζώα τρώνε εκατοντάδες φορές το βάρος τους στο θήραμά τους και έτσι οι συγκεντρώσεις των ανθεκτικών χημικών ουσιών είναι πολύ υψηλότερες στα αρπακτικά παρά στο θήραμά τους.

Intentionally produced POPs



Σχήμα 3: Δομή σκοπίμως τεχνητών POPs. P.R.S. Kodavanti, ... K.R.S. Sambasiva Rao, in Reference Module in Biomedical Sciences, 2014

Unintentionally produced POPs



Σχήμα 2: Δομή ακούσιας παραγωγής POPs. P.R.S. Kodavanti, ... K.R.S. Sambasiva Rao, in Reference Module in Biomedical Sciences, 2014

1.2 Οργανοχλωριωμένα φυτοφάρμακα (OCPs)

Τα φυτοφάρμακα είναι μια ομάδα χημικών ουσιών που χρησιμοποιούνται για την καταστροφή εντόμων, ζιζανίων, μυκήτων, βακτηρίων κ.λπ. Γενικά ονομάζονται εντομοκτόνα, μυκητοκτόνα, βακτηριοκτόνα, ζιζανιοκτόνα ή τρωκτικοκτόνα. Τα περισσότερα από τα φυτοφάρμακα έχουν την ικανότητα να καταστρέφουν μια μεγάλη ποικιλία παρασίτων ή ζιζανίων, αλλά μερικά αναπτύσσονται ενάντια σε συγκεκριμένα παράσιτα ή παθογόνα. Οι περισσότερες από αυτές τις χημικές ουσίες έχουν σχεδιαστεί με τέτοιο τρόπο ώστε να διαταράσσουν τις φυσιολογικές δραστηριότητες του οργανισμού-στόχου, οδηγώντας σε δυσλειτουργία και μειωμένη ζωτικότητα. Τα υπολείμματα φυτοφαρμάκων μπορεί να αποτελούν σημαντική πηγή ρύπανσης από περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως ο αέρας, το νερό και το έδαφος. Αυτό το φαινόμενο θα μπορούσε να αποτελέσει συνεχή απειλή για τη συνύπαρξη φυτικών και ζωικών κοινοτήτων του οικοσυστήματος. Τα προβλήματα που προκαλούνται από τα παράσιτα

οδηγούν σε απώλεια περίπου του ενός τρίτου της παγκόσμιας γεωργικής παραγωγής κάθε χρόνο, και αυτό παρά το γεγονός ότι η κατανάλωση φυτοφαρμάκων ανέρχεται σε περισσότερους από δύο εκατομμύρια τόνους (Rajendran, 2003). Στην Ινδία, η απώλεια ανέρχεται σε περισσότερες από 6.000 ρούπια ετησίως, από παράγοντες που συμβάλλουν όπως τα ζιζάνια (33%), οι ασθένειες (26%), τα έντομα (20%), τα πουλιά (10%), τα τρωκτικά και άλλοι (11%)). Κάθε χρόνο το μέγεθος του προβλήματος αυξάνεται με την εμφάνιση νεότερων παρασίτων και ασθενειών (Rajendran, 2003).

Η μεγαλύτερη χρήση φυτοφαρμάκων για υψηλή γεωργική παραγωγή έχει οδηγήσει σε αυξημένη ρύπανση των περιβαλλοντικών διαμερισμάτων του εδάφους, του νερού και του αέρα. Τα χαρακτηριστικά των φυτοφαρμάκων, όπως η υψηλή λιποφιλικότητα, η βιοσυσσώρευση, ο μεγάλος χρόνος ημιζωής και η δυνατότητα μεταφοράς σε μεγάλη απόσταση, έχουν αυξήσει τις πιθανότητες ρύπανσης του αέρα, του νερού και του εδάφους, ακόμη και μετά από πολλά χρόνια εφαρμογής. Μια μελέτη από τον Pimentel (1995) έδειξε ότι μόνο ένα μικρό ποσοστό (0,3%) των εφαρμοζόμενων φυτοφαρμάκων πηγαίνει στο παράσιτο στόχο ενώ το 99,7% πηγαίνει κάπου αλλού στο περιβάλλον. Η εφαρμογή μιας μεγάλης ποικιλίας φυτοφαρμάκων έχει συσταθεί για την αύξηση της παραγωγικότητας των καλλιεργειών σε τροπικές χώρες όπου η απώλεια των καλλιεργειών είναι σοβαρή λόγω της υψηλής θερμοκρασίας και υγρασίας, τα οποία οδηγούν στον γρήγορο πολλαπλασιασμό των παρασίτων (Kannan et al., 1993; Lakshmi, 1993). Σύμφωνα με μια μελέτη του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας, το 80% όλων των φυτοφαρμάκων χρησιμοποιούνται από τις αναπτυσσόμενες χώρες (Veil, 1990). Λόγω της έλλειψης κατάλληλης νομοθεσίας, των ακατάλληλων κανονισμών της αγοράς και της άγνοιας που επιδεικνύεται από τους ανθρώπους, οι αγροτικοί εργαζόμενοι από τις αναπτυσσόμενες χώρες είναι επιρρεπείς σε υψηλά επίπεδα γεωργικών χημικών ουσιών, συμπεριλαμβανομένων των φυτοφαρμάκων του 1990 (Smith & Jong, 2001). Αν και οι αγρότες θεωρούνται η κύρια ομάδα κινδύνου, οι παρασκευαστές, οι φορτωτές, οι αναμικτήρες, οι εργαζόμενοι στην παραγωγή και οι εργάτες γεωργικών εκμεταλλεύσεων είναι όλες εξαιρετικά ευαίσθητες ομάδες. Οι μη επαγγελματικοί κίνδυνοι μπορεί να οφείλονται στη ρύπανση του οικοσυστήματος ή του οικοτόπου στο σύνολό του. Μια εκτίμηση δείχνει ότι οι θάνατοι και οι χρόνιες ασθένειες λόγω δηλητηρίασης από

φυτοφάρμακα ανέρχονται σε περίπου ένα εκατομμύριο ετησίως παγκοσμίως (Environews, 1999).

Τα οργανοχλωριωμένα (OCs) είναι μια ομάδα χλωριωμένων ενώσεων που χρησιμοποιούνται ευρέως ως φυτοφάρμακα. Αυτές οι χημικές ουσίες ανήκουν στην κατηγορία των ανθεκτικών οργανικών ρύπων (POPs) με υψηλή ανθεκτικότητα στο περιβάλλον. Τα εντομοκτόνα OC χρησιμοποιήθηκαν παλαιότερα με επιτυχία για τον έλεγχο της ελονοσίας και του τύφου, ωστόσο είναι απαγορευμένα στις περισσότερες από τις προηγμένες χώρες (Aktar et al., 2009). Οι στατιστικές ανασκόπησης σχετικά με τη χρήση διαφορετικών φυτοφαρμάκων δείχνουν ότι το 40% όλων των φυτοφαρμάκων που χρησιμοποιούνται ανήκουν στην κατηγορία των οργανοχλωριωμένων χημικών ουσιών (Gupta, 2004, FAO, 2005). Λόγω του χαμηλού κόστους τους και της ανάγκης κατά των διαφόρων παρασίτων, τα οργανοχλωριωμένα εντομοκτόνα όπως το DDT, το εξαχλωροκυκλοεξάνιο (HCH), η αλδρίνη και η διελτρίνη είναι από τα πιο ευρέως χρησιμοποιούμενα φυτοφάρμακα στις αναπτυσσόμενες χώρες της Ασίας (FAO, 2005· Gupta, 2004· Lallas, 2001).

Τα βασικά χαρακτηριστικά των οργανοχλωριωμένων φυτοφαρμάκων είναι η υψηλή ανθεκτικότητα, η χαμηλή πολικότητα, η χαμηλή υδατοδιαλυτότητα και η υψηλή διαλυτότητα στα λιπίδια. Τα οργανοχλωριωμένα φυτοφάρμακα μπορούν να εισέλθουν στο περιβάλλον μετά από εφαρμογές φυτοφαρμάκων, μολυσμένα απόβλητα που απορρίπτονται σε χωματερές και απορρίψεις από βιομηχανικές μονάδες που συνθέτουν αυτές τις χημικές ουσίες. Είναι πτητικές και σταθερές. Μερικά μπορούν να προσκολληθούν στο έδαφος και στον αέρα, αυξάνοντας έτσι τις πιθανότητες υψηλής ανθεκτικότητας στο περιβάλλον, και αναγνωρίζονται ως παράγοντες χρόνιας έκθεσης σε ζώα και ανθρώπους.

Τα οργανοχλωριωμένα φυτοφάρμακα χωρίζονται συνήθως σε τέσσερις κατηγορίες, οι οποίες περιλαμβάνουν (Jayaraj et al., 2016):

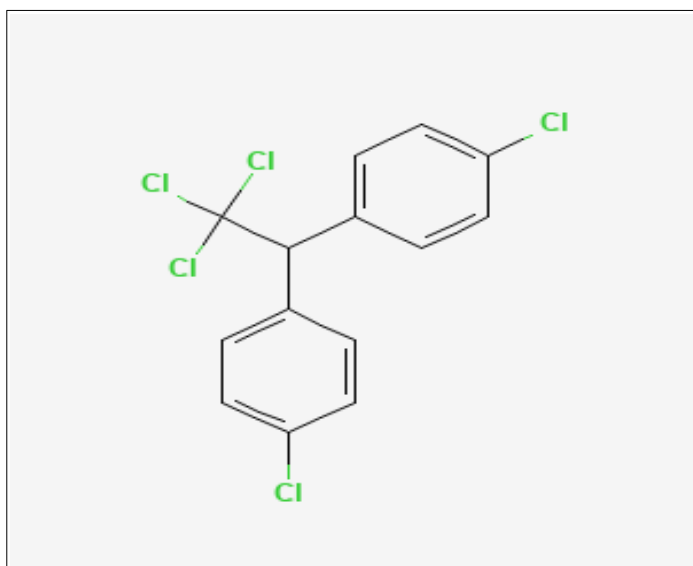
1. Το διχλωρο-διφαινυλο-τριχλωροαιθάνιο (dichloro-diphenyl-trichloroethane) (DDT) μαζί με τα παράγωγά του
2. Τα γ-ισομερή του εξαχλωροκυκλοεξανίου

3. Ομάδα των χλωριωμένων κυκλοδιενίων (όπως τα aldrin, endrin, isodrin, dieldrin, heptachlor, chlordane, endosulfan)
4. Το (τοξαφένιο) toxaphene (μίγμα ενώσεων)

1.2.1 DDT

Συντακτικός τύπος: $C_{14}H_9Cl_5$

Μοριακή μάζα: 354,49 g/mol



Σχήμα 4: Δομή DDT

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Clofenotane>

Το DDT (δichλωροδιφαινυλοτριχλωροαιθάνιο) συντέθηκε για πρώτη φορά το 1874 και οι εντομοκτόνες του ιδιότητες ανακαλύφθηκαν το 1939. Από τότε το DDT χρησιμοποιήθηκε ευρέως στον κόσμο για τον έλεγχο των εντόμων στις γεωργικές καλλιέργειες και εκείνων που μεταφέρουν ασθένειες όπως η ελονοσία και ο τύφος. Ωστόσο, η χρήση αυτής της ένωσης έχει απαγορευτεί σε πολλές χώρες από τη δεκαετία του 1970 λόγω των χημικών χαρακτηριστικών της, όπως η συσσώρευση και η βιοσυσσώρευση σε συστήματα λιπιδίων όλων των ζωικών ειδών που μπορεί να έχουν ως αποτέλεσμα την εμφάνιση πιθανών δυσμενών επιπτώσεων σε ανθρώπους και άγρια ζώα. Το DDT έχει προταθεί ότι είναι τοξικό για μια σειρά άγριων ζώων, συμπεριλαμβανομένων των πτηνών και των θαλάσσιων ζώων, και ο μεταβολίτης, το DDE (δichλωροδιφαινυλδichλωροαιθυλένιο) προκαλεί αραιώση του κελύφους των αυγών ορισμένων ειδών πτηνών όπως ο

φαλακρός και ο μαυροπελεκάνος, οδηγώντας σε μείωση των πληθυσμών τους. Παρά αυτές τις επιπτώσεις, το DDT εξακολουθεί να χρησιμοποιείται σε ορισμένες περιοχές των τροπικών και υποτροπικών περιοχών για τον έλεγχο της ελονοσίας και άλλων ασθενειών που μεταδίδονται από έντομα που προκαλούν υψηλά ποσοστά θνησιμότητας. Το 2006, ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (ΠΟΥ) επέτρεψε τη χρήση του DDT σε αυτές τις περιοχές για τη μείωση του ποσοστού θανάτων που προκαλούνται από ελονοσία. Το DDT και οι μεταβολίτες του έχουν μελετηθεί εκτενώς για την τοξικότητα και την καρκινογένειά τους σε πειραματόζωα και ανθρώπους και τα αποτελέσματα των ερευνών τους είναι καλά τεκμηριωμένα. Έχει αποδειχθεί ότι το DDT και οι μεταβολίτες του μπορεί να έχουν δυσμενείς επιπτώσεις σε διάφορα όργανα/ιστούς θηλαστικών, συμπεριλαμβανομένων του νευρικού, του ήπατος, των νεφρών, του αναπαραγωγικού, του ενδοκρινικού και του ανοσοποιητικού συστήματος. Επιπλέον, εξετάζεται επίσης μια πιθανή επίδραση του DDT ή των μεταβολιτών του στα μιτοχόνδρια, καθώς το μιτοχόνδριο διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στη διατήρηση της ακεραιότητας και των λειτουργιών των ηπατοκυττάρων και η μιτοχονδριακή δυσλειτουργία θεωρείται ένας από τους σημαντικούς μηχανισμούς για τη χημική ηπατική τοξικότητα και/ή καρκινογένεση.

Το DDT εισάγεται στον οργανισμό με την εισπνοή, από το στόμα και με δερματική απορρόφηση. Οι κίνδυνοι από δερματική απορρόφηση είναι μικροί όταν η σύνθεση είναι ξηρή ή σε μορφή σκόνης. Από την άλλη μεριά όταν διαλύεται στο πετρέλαιο ή σε οργανικούς διαλύτες, γρήγορα απορροφάται μέσω του δέρματος και αποτελεί ένα σημαντικό κίνδυνο. Για να πεθάνει ένας άνθρωπος που ζυγίζει π.χ. 70 κιλά πρέπει να καταναλώσει 17,5 g καθαρό DDT που είναι μία δόση σχετικά πολύ μεγάλη, είναι αρκετό όμως να βιοσυσσωρεύσει αυτή την ποσότητα αν μέσα σε δύο χρόνια καταναλώνει τροφές που περιέχουν μονάχα 0,1‰ DDT (NPIC, 1999) & (CDC - *Immediately Dangerous to Life or Health Concentrations (IDLH)*: DDT - NIOSH Publications and Products, 2019).

1.2.2 HCH εξαχλωροβενζόλιο (Hexachlorobenzene) - BHC (Εξαχλωριούχο Βενζόλιο) - Lindane

Το HCH (Hexachlorocyclohexane) αποτελείται από μίγμα πέντε ισομερών και παράγεται με τη χλωρίωση του βενζολίου με UV ακτινοβολία.

Περίπου 1 εκατομμύριο λίβρες HCH χρησιμοποιούνται ετησίως στις Ηνωμένες Πολιτείες (National Toxicology Program, Department of Health and Human Services, n.d.) & (Alavanja, 2009) . Χρησιμοποιείται κυρίως για την επεξεργασία σπόρων και για τον έλεγχο διαφόρων σκαθαριών που κατοικούν στο ξύλο. Πολύ λίγο HCH χρησιμοποιείται για τον έλεγχο των τερμιτών. Για το σκοπό αυτό, η εφαρμογή γίνεται κυρίως στο έδαφος ως επιφανειακός ψεκασμός και όχι με έγχυση ή διάνοιξη τάφρων. Το Lindane χρησιμοποιείται επίσης στη θεραπεία της ψώρας και της προσβολής από ψείρες.

Η παρασκευή του BHC έγινε για πρώτη φορά από τον περίφημο Άγγλο χημικό και φυσικό Faraday, αλλά την εντομοτοξική του ιδιότητα ανακάλυψε το 1940-41, σχεδόν ταυτόχρονα στην Αγγλία ο R. Slade και στη Γαλλία οι A. Dupire και M. Raucourt, δηλαδή 116 ολόκληρα χρόνια μετά. Η παρασκευή του BHC γίνεται με χλωρίωση του βενζολίου παρουσία του ηλιακού φωτός(καταλύτης), παραγονται 5 ισομερη με το γ- ισομερές να παρουσιάζει τη μεγαλύτερη εντομοκτόνο δράση, ενώ πιο μικρή έχει το α-ισομερές. Εξαιτίας της φυτοτοξικότητας που παρουσιάζει το BHC περιορίστηκε και σταδιακά αντικαταστάθηκε από ένα παράγωγο του καθαρό και άοσμο με περιεκτικότητα 95-99% σε γ-ισομερές, γνωστό στο εμπόριο ως Lindane προς τιμή του Van der Linden που το 1912 ανακάλυψε την ύπαρξη του γ-ισομερές μέσα στο BHC. Το lindane είναι μια ουσία στερεά, άοσμη και άχρωμη η οποία δεν είναι φυτοτοξική. Παρουσιάζει σταθερότητα στη θερμότητα, υγρασία και τα ισχυρά οξέα,ωστόσο, αποαλογονώνεται παρουσία αλκαλίων . Η υπολειμματική δράση είναι μικρή και στην ύπαιθρο δεν ξεπερνάει τις 14 μέρες. Βέβαια αυτό δε σημαίνει ότι είναι απολύτως ασφαλές για τον ανθρώπινο οργανισμό. Το Lindane όπως και το BHC είναι διαβόητα για την τοξικότητά τους στον άνθρωπο. Η παρατεταμένη έκθεση σε αυτά τα φυτοφάρμακα μπορεί να οδηγήσει σε μια σειρά προβλημάτων υγείας. Το πιο ανησυχητικό από αυτά είναι η νευροτοξικότητά τους, η οποία μπορεί να οδηγήσει σε επιληπτικές κρίσεις, σπασμούς, ακόμη και θάνατο σε σοβαρές περιπτώσεις. Τόσο το lindane όσο και το BHC μπορούν να συσσωρευτούν στους λιπώδεις ιστούς, προκαλώντας μακροπρόθεσμους κινδύνους για την υγεία. Επιπλέον, αυτά τα φυτοφάρμακα έχουν συσχετιστεί με αναπαραγωγικά και αναπτυξιακά προβλήματα, θέτοντας σημαντικές ανησυχίες για την ανθρώπινη υγεία.

Λόγω των αναγνωρισμένων κινδύνων που συνδέονται με το λινδάνιο και το BHC, πολλές χώρες έχουν λάβει ρυθμιστικά μέτρα για να περιορίσουν ή να απαγορεύσουν τη χρήση τους. Η Σύμβαση της Στοκχόλμης “Απόφαση [2006/507/EK](#) του Συμβουλίου, της 14ης Οκτωβρίου 2004, σχετικά με τη σύναψη, εξ ονόματος της Ευρωπαϊκής Κοινότητας, της σύμβασης της Στοκχόλμης για τους έμμονους οργανικούς ρύπους (EE L 209 της 31.7.2006, σ. 1-2)” για τους έμμονους οργανικούς ρύπους, μια διεθνής συνθήκη, αναφέρει τόσο το lindane όσο και το BHC ως έμμονους οργανικούς ρύπους (POPs). Ως αποτέλεσμα, πολλά έθνη έχουν καταργήσει ή έχουν απαγορεύσει πλήρως αυτά τα φυτοφάρμακα. Οι κανονιστικές διατάξεις τονίζουν την ανάγκη για ασφαλέστερες και πιο βιώσιμες εναλλακτικές λύσεις στη γεωργία και τη δημόσια υγεία.

1.2.3 Κύρια Σημεία της Σύμβασης της Στοκχόλμης (Jha et al., 2022)

1. Περιορισμός και Απαγόρευση Παραγωγής και Χρήσης POPs:

Η σύμβαση απαιτεί από τα συμβαλλόμενα κράτη να απαγορεύσουν ή να περιορίσουν την παραγωγή, χρήση, εισαγωγή και εξαγωγή συγκεκριμένων POPs. Αυτά περιλαμβάνουν εντομοκτόνα, βιομηχανικές χημικές ουσίες και παραπροϊόντα καύσης.

2. Μείωση και Εξάλειψη Εκπομπών:

Τα κράτη πρέπει να λάβουν μέτρα για τη μείωση ή την εξάλειψη των εκπομπών των POPs, που παράγονται ως παραπροϊόντα βιομηχανικών διεργασιών ή καύσεων.

3. Διαχείριση Αποβλήτων:

Η σύμβαση απαιτεί την ασφαλή διαχείριση και διάθεση των αποβλήτων που περιέχουν ή είναι μολυσμένα με POPs, με στόχο την ελαχιστοποίηση της διασποράς τους στο περιβάλλον.

4. Χρηματοδοτική και Τεχνική Υποστήριξη:

Αναγνωρίζοντας τις δυσκολίες που μπορεί να έχουν αναπτυσσόμενες χώρες στην εφαρμογή των απαιτήσεων, η σύμβαση προβλέπει τη χρηματοδοτική και τεχνική υποστήριξη προς αυτές.

5. Αξιολόγηση και Αναθεώρηση:

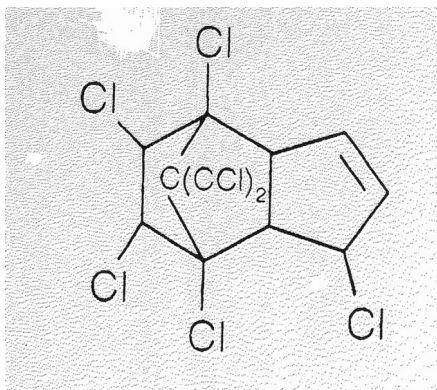
Προβλέπεται τακτική αναθεώρηση των POPs που περιλαμβάνονται στη σύμβαση και δυνατότητα προσθήκης νέων ουσιών μέσω μιας επιστημονικής διαδικασίας αξιολόγησης.

6. Εκπαίδευση και Ευαισθητοποίηση:

Τα συμβαλλόμενα κράτη ενθαρρύνονται να προωθήσουν την εκπαίδευση και την ευαισθητοποίηση του κοινού σχετικά με τους κινδύνους των POPs και τα μέτρα πρόληψης.

1.2.4 Ομάδα Χλωριωμένων Κυκλοδιενίων

Τα χλωριωμένα κυκλοδιένια είναι μια ομάδα οργανικών χημικών ενώσεων που χαρακτηρίζονται από μια κυκλική δομή που περιέχει άτομα χλωρίου.



Σχήμα 5: Κοινή δομή των
κυκλοδιενίων (Narges Khanjani
et al., 2007)

Ανήκουν στη μεγαλύτερη κατηγορία χλωριωμένων υδρογονανθράκων. Αυτές οι ενώσεις είναι γνωστές για τη χημική τους σταθερότητα και την αντοχή τους στην αποικοδόμηση, γεγονός που έχει εγείρει ανησυχίες για το περιβάλλον και την υγεία. Αυτές οι ενώσεις αρχικά φημίζονταν για την αποτελεσματικότητά τους στον έλεγχο των παρασίτων εντόμων, ιδιαίτερα των κουνουπιών, και πιστώθηκε ότι βοήθησαν στην καταπολέμηση ασθενειών όπως η ελονοσία και ο τύφος. Ωστόσο, τα χλωριωμένα κυκλοδιένια βρέθηκαν αργότερα ότι έχουν σημαντικές αρνητικές επιπτώσεις στο περιβάλλον και

στην υγεία, όπως όλα τα οργανοχλωριωμένα φυτοφάρμακα (National Research Council (US) Committee on Toxicology, 2011).

Chlordane

Το Chlordane είναι μέλος μιας ομάδας χημικών ενώσεων που ονομάζονται γενικά "χλωριωμένα κυκλοδιένια". Για τη χρήση του ως εντομοκτόνο, και ιδιαίτερα ως τερμιτοκτόνο, διατίθεται σε καθαρές και τεχνικές ποιότητες. Το καθαρό Chlordane είναι ένα παχύρρευστο, άχρωμο, άοσμο υγρό. Η διαλυτότητά του στο νερό είναι περίπου 9 µg/L στους 25°C. Είναι εξαιρετικά διαλυτό στους περισσότερους οργανικούς διαλύτες, συμπεριλαμβανομένων των υδρογονανθράκων του πετρελαίου (Brooks, 1974a,b). Το Chlordane έχει χρησιμοποιηθεί κυρίως για την εξάλειψη των τερμιτών γύρω από τα θεμέλια κατοικιών και για τον έλεγχο των εντόμων του εδάφους στην παραγωγή καλαμποκιού (National Research Council (US) Committee on Toxicology, 2011). Το Chlordane ήταν επίσης ένα ενεργό συστατικό σε πολλά φυτοφάρμακα οικιακής χρήσης και κήπου. Όπως και άλλα χλωριωμένα κυκλοδιένια, το χλωρδάνιο μπορεί να βιοσυσσωρευτεί στους λιπώδεις ιστούς των οργανισμών. Καθώς κινείται προς τα πάνω στην τροφική αλυσίδα, οι οργανισμοί σε υψηλότερα τροφικά επίπεδα μπορούν να συσσωρεύσουν υψηλότερες συγκεντρώσεις χλωρδανίου, γεγονός που μπορεί να οδηγήσει σε ανησυχίες για την υγεία τόσο για την άγρια ζωή όσο και για τον άνθρωπο. Το Chlordane έχει συσχετιστεί με διάφορα θέματα υγείας και περιβάλλοντος. Έχει συνδεθεί με πιθανές καρκινογόνες επιδράσεις και μπορεί να διαταράξει το ενδοκρινικό σύστημα. Η χρήση του είχε ως αποτέλεσμα τη μόλυνση του εδάφους και των υδάτων, η οποία μπορεί να επηρεάσει τα οικοσυστήματα. Λόγω των περιβαλλοντικών κινδύνων και των κινδύνων για την υγεία που συνδέονται με το χλωρδάνιο, πολλές χώρες έχουν απαγορεύσει ή περιορίσει τη χρήση του. Οι Ηνωμένες Πολιτείες, για παράδειγμα, απαγόρευσαν τις περισσότερες χρήσεις του chlordane τη δεκαετία του 1980. Αν και το χλωρδάνιο δεν παράγεται πλέον ούτε χρησιμοποιείται στα περισσότερα μέρη του κόσμου, η περιβαλλοντική του ανθεκτικότητα σημαίνει ότι μπορεί ακόμα να ανιχνευθεί

σε ορισμένες περιοχές, ειδικά σε παλαιότερα εδάφη, ιζήματα και νερό (Humans, 1991)& (National Research Council (US) Committee on Toxicology, 2011).

1.2.5 Αλδρίνη, Διελδρίνη, Ενδρίνη (Aldrin, Dieldrin, και Endrin)

Το Aldrin εισήχθη για πρώτη φορά στη δεκαετία του 1950 και κέρδισε γρήγορα δημοτικότητα ως ευέλικτο και μακράς διαρκείας φυτοφάρμακο. Ήταν ιδιαίτερα αποτελεσματικό ενάντια στους τερμίτες, τις ακρίδες και τα παράσιτα των καλλιεργειών. Οι αγρότες επαίνεσαν την ικανότητά του να παρέχει παρατεταμένη προστασία από αυτά τα καταστροφικά έντομα, μειώνοντας τις απώλειες των καλλιεργειών και αυξάνοντας ενδεχομένως τις αποδόσεις. Το Aldrin έχει χρησιμοποιηθεί με άριστα αποτελέσματα κυρίως, ως εντομοκτόνο εδάφους. Είναι εξαιρετικό για την καταπολέμηση των ακριδών και φυλλοφάγων εντόμων καθώς και των προνυμφών των κουνουπιών σε στάσιμα νερά. Ένα από τα πιο ανησυχητικά χαρακτηριστικά του aldrin είναι η αξιοσημείωτη περιβαλλοντική του αντοχή. Σε αντίθεση με πολλά άλλα φυτοφάρμακα, το aldrin δεν διασπάται εύκολα στο περιβάλλον. Μπορεί να παραμείνει στο έδαφος και στο νερό για παρατεταμένες περιόδους, συσσωρεύοντας με την πάροδο του χρόνου. Ενώ συνέβαλε στη μακροχρόνια αποτελεσματικότητά του ως φυτοφάρμακο, οδήγησε επίσης σε εκτεταμένη ρύπανση του περιβάλλοντος. Η σταθερότητα του Aldrin του επέτρεψε να διεισδύσει στα οικοσυστήματα, επηρεάζοντας όχι μόνο τους επιδιωκόμενους στόχους του αλλά και τα είδη που δεν αποτελούν στόχο. Η τάση του Aldrin να βιοσυσσωρεύεται είναι ένα άλλο θέμα. Καθώς απορροφάται από τα φυτά και εισέρχεται στην τροφική αλυσίδα, συσσωρεύεται στους λιπώδεις ιστούς των ζώων. Σε κάθε τροφικό επίπεδο, η συγκέντρωση της αλδρίνης μπορεί να αυξηθεί, με αποτέλεσμα υψηλότερες εκθέσεις για κορυφαίους θηρευτές, συμπεριλαμβανομένων των ανθρώπων. Αυτή η βιοσυσσώρευση όχι μόνο επηρεάζει την άγρια ζωή, αλλά ενέχει επίσης πιθανούς κινδύνους για την υγεία των ανθρώπων που καταναλώνουν μολυσμένους οργανισμούς (Zitko, 2003).

Το Aldrin έχει συσχετιστεί με μια σειρά από ανησυχίες για την υγεία. Θεωρείται τοξικό για τον άνθρωπο και την άγρια ζωή. Η μακροχρόνια έκθεση σε aldrin και σχετικές ενώσεις έχει συνδεθεί με πιθανές καρκινογόνες επιδράσεις και ενδοκρινικές διαταραχές. Η μόλυνση του περιβάλλοντος και οι πιθανοί κίνδυνοι για την υγεία

οδήγησαν σε ρυθμιστικές ενέργειες σε πολλές χώρες. Στις Ηνωμένες Πολιτείες, για παράδειγμα, οι περισσότερες χρήσεις του aldrin απαγορεύτηκαν τη δεκαετία του 1970 ως μέρος της ευρύτερης προσπάθειας για τη ρύθμιση και τη σταδιακή κατάργηση των οργανοχλωριωμένων φυτοφαρμάκων. Άλλα κράτη ακολούθησαν το παράδειγμά τους, εφαρμόζοντας περιορισμούς και απαγορεύσεις στη χρήση του aldrin για την προστασία τόσο της ανθρώπινης υγείας όσο και του περιβάλλοντος. Το Aldrin είναι ισχυρά τοξικό εντομοκτόνο για τον άνθρωπο και τα θερμόαιμα με αθροιστικές ιδιότητες και απορροφάται από το δέρμα. Η μέση θανατηφόρα δόση (LD50), για οξεία από το στόμα δηλητηρίαση, είναι για τους ποντικούς 50 mg/kg.

Το Dieldrin, ένα παράγωγο του aldrin, χρησιμοποιήθηκε ευρέως στα μέσα του 20ου αιώνα για την αποτελεσματικότητά του στον έλεγχο των γεωργικών παρασίτων. Εκτιμήθηκε για τις ευρέως φάσματος εντομοκτόνες του ιδιότητες. Η εξαιρετική περιβαλλοντική αντοχή του Dieldrin σήμαινε ότι αντιστέκεται στην αποδόμηση στο περιβάλλον, επιμένοντας στο έδαφος και το νερό. Επίσης, βιοσυσσωρεύεται στους λιπώδεις ιστούς των ζώων, με τους οργανισμούς υψηλότερου τροφικού επιπέδου να συσσωρεύουν υψηλότερες συγκεντρώσεις. Έχει μεγαλύτερη εντομοτοξικότητα και μεγαλύτερη υπολειμματική δράση από το Aldrin. Δεν είναι φυτοτοξικό με εξαίρεση τα κολοκυθοειδή.

Όπως το aldrin και το dieldrin συσχετίστηκε με κινδύνους για την υγεία, συμπεριλαμβανομένων πιθανών καρκινογόνων επιδράσεων και ενδοκρινικών διαταραχών. Κατά συνέπεια, πολλές χώρες επέβαλαν ρυθμιστικούς περιορισμούς και απαγορεύσεις. Οι Ηνωμένες Πολιτείες περιόρισαν και τελικά απαγόρευαν τη χρήση του στη δεκαετία του 1970.

Το Endrin εισήχθη τη δεκαετία του 1950 και ήταν γνωστό για την αποτελεσματικότητά του στον έλεγχο ενός ευρέος φάσματος γεωργικών παρασίτων, ιδιαίτερα των τρωκτικών. Χρησιμοποιήθηκε ως τρωκτικοκτόνο. Είναι μια ανοιχτοκίτρινη σπυρωτή σκόνη, αδιάλυτη στο νερό, διαλυτή όμως σε οργανικούς διαλύτες που ανήκουν στην ομάδα των αρωματικών υδρογονανθράκων και έρχεται σε αποσύνθεση στους 200°C. Είναι αρκετά σταθερό σε ελαφρά όξινο και αλκαλικό περιβάλλον και έτσι μπορεί να

συνδυασθεί με οποιοδήποτε από τα γνωστά γεωργικά φάρμακα, χωρίς να χάσει την εντομοτοξικότητά του.

Το Endrin μοιράζεται τα ίδια χαρακτηριστικά της περιβαλλοντικής ανθεκτικότητας και της βιοσυσσώρευσης με το Aldrin και το Dieldrin, με πιθανούς κινδύνους τόσο για το περιβάλλον όσο και για την ανθρώπινη υγεία. Μπορεί να προκαλέσει οξεία δηλητηρίαση από το στόμα όπως και το Dieldrin. Απορροφάται από το δέρμα, αλλά και από τους πνεύμονες (Matsumoto et al., 2009).

1.2.6 Τοξαφένιο (Toxaphene)

Το τοξαφένιο είναι ένα πολύπλοκο και άκρως αμφιλεγόμενο φυτοφάρμακο που έχει αφήσει σημαντικό αντίκτυπο στο περιβάλλον και τη δημόσια υγεία. Αρχικά εισήχθη ως γεωργικό και βιομηχανικό φυτοφάρμακο στη δεκαετία του 1940, χρησιμοποιήθηκε ευρέως στις Ηνωμένες Πολιτείες και έπειτα παγκοσμίως. Ωστόσο, η εμμονή της τοξαφαίνης στο περιβάλλον, η βιοσυσσώρευση στα οικοσυστήματα και οι σχετικοί κίνδυνοι για την υγεία έχουν οδηγήσει στην απαγόρευσή της και σε αυστηρούς κανονισμούς. Βιομηχανικά η παρασκευή του άρχισε το 1947 και στην Ελλάδα κυκλοφόρησε μόλις το 1960. Είναι μια ουσία με κίτρινο χρώμα που μοιάζει με κερί και έχει μυρωδιά λεμονιού.

Το Toxaphene αρχικά δημιουργήθηκε ως ένα μείγμα από περισσότερες από 670 διαφορετικές χημικές ουσίες, καθιστώντας το ένα εξαιρετικά πολύπλοκο μείγμα. Κέρδισε δημοτικότητα ως εντομοκτόνο και ακαρεοκτόνο ευρέος φάσματος, που χρησιμοποιείται για τον έλεγχο μιας ποικιλίας γεωργικών παρασίτων, ιδιαίτερα εντόμων και ακάρεων. Χρησιμοποιήθηκε επίσης ως συντηρητικό ξύλου, επιβραδυντικό φλόγας και σε βιομηχανικές εφαρμογές.

Το Toxaphene έχει συνδεθεί με ποικίλες ανησυχίες για την υγεία, συμπεριλαμβανομένων των πιθανών καρκινογόνων επιδράσεων και της αναπτυξιακής τοξικότητας. Η κληρονομιά του ως ρύπος στο έδαφος και το νερό εγκυμονεί συνεχείς κινδύνους για την υγεία στους εκτεθειμένους πληθυσμούς (Saleh, 1991) & (Reuber, 1979).

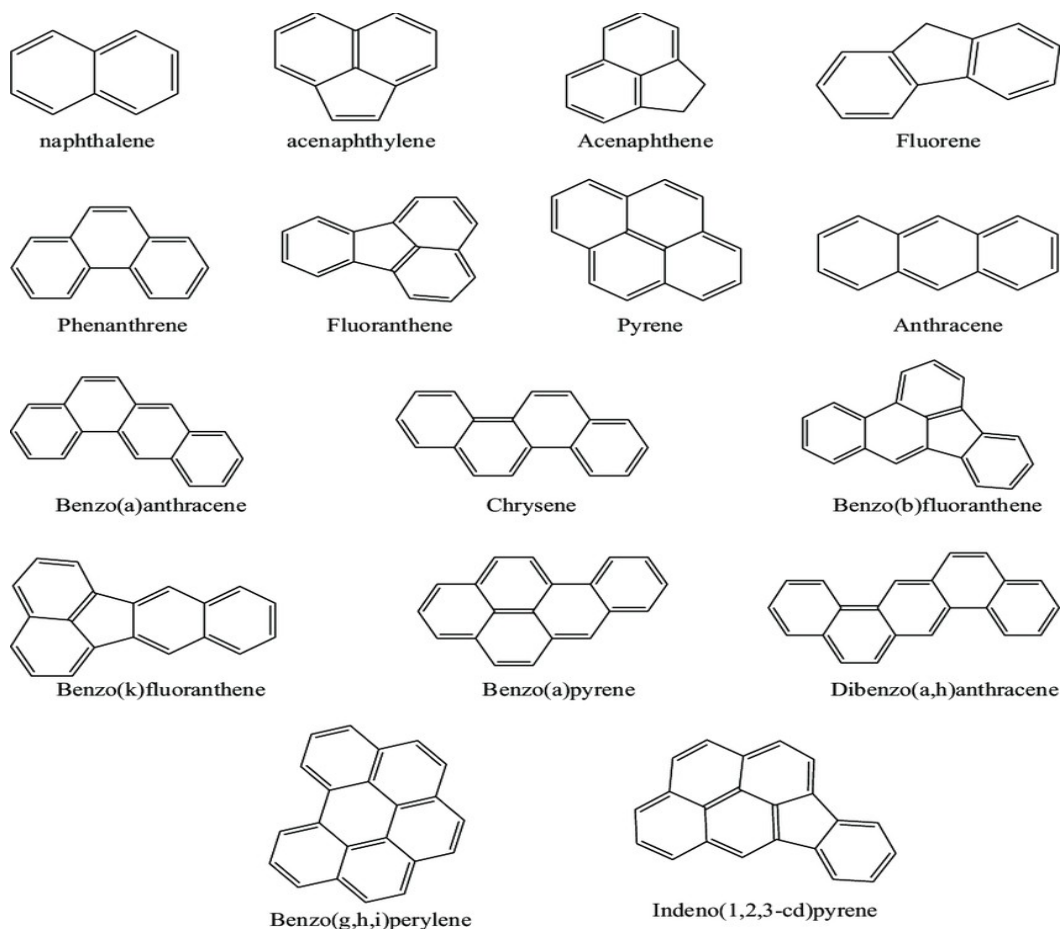
Ως απάντηση σε αυτούς τους κινδύνους, οι Ηνωμένες Πολιτείες απαγόρευσαν τη χρήση του Toxaphene για τους περισσότερους σκοπούς τη δεκαετία του 1990 και στη συνέχεια καταχωρήθηκε ως έμμοнос οργανικός ρύπος (POP) στη Σύμβαση της Στοκχόλμης για τους έμμοнос οργανικούς ρύπους το 2009. Πολλές άλλες χώρες έχουν επίσης απαγορεύσει ή περιορίσει τη χρήση του.

1.3 Πολυκυκλικοί Αρωματικοί Υδρογονάνθρακες (ΡΑΗ)

Ο όρος πολυκυκλική οργανική ύλη (polycyclic organic matter)(POM) ορίζει μια ευρεία κατηγορία ενώσεων που γενικά περιλαμβάνει όλες τις οργανικές δομές που περιέχουν τρεις ή περισσότερους συντηγμένους αρωματικούς δακτυλίους. Αυτές οι δομές μπορεί να περιέχουν τα στοιχεία άνθρακα, υδρογόνο, οξυγόνο, άζωτο και θείο.

Έχει εντοπιστεί POM που περιέχει έως και επτά συντηγμένους δακτυλίους και θεωρητικά θα μπορούσαν να σχηματιστούν εκατομμύρια ενώσεις POM. Ωστόσο, μόνο περίπου 100 είδη έχουν εντοπιστεί και μελετηθεί. Η πιο κοινή υποκατηγορία POM είναι οι πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες (PAHs). Αυτές οι ενώσεις περιέχουν μόνο άνθρακα και υδρογόνο.(Choi et al.,2010).

Οι PAH είναι μια μεγάλη ομάδα οργανικών ενώσεων με δύο ή περισσότερους συντηγμένους αρωματικούς (βενζολικούς) δακτυλίους. Οι χαμηλού μοριακού βάρους PAH (δύο και τρεις δακτύλιοι) εμφανίζονται στην ατμόσφαιρα κυρίως στη φάση ατμού, ενώ οι PAH με πολλούς δακτυλίους (πέντε δακτύλιοι ή περισσότεροι) συνδέονται σε μεγάλο βαθμό με σωματίδια. Οι PAH ενδιάμεσου μοριακού βάρους (τέσσερις δακτύλιοι) κατανέμονται μεταξύ των φάσεων ατμού και σωματιδίων, ανάλογα με την ατμοσφαιρική θερμοκρασία. Οι δεσμευμένοι σε σωματίδια PAH θεωρούνται πολύ επικίνδυνοι για την ανθρώπινη υγεία. Το βενζο[a]πυρένιο (B[a]P) χρησιμοποιείται συχνά ως δείκτης για τη συνολική έκθεση σε καρκινογόνους PAH, καθώς η συνεισφορά του B[a]P στο συνολικό δυναμικό καρκινογόνου δράσης είναι υψηλή (σε μια μελέτη που αναφέρθηκε ως εύρος 51–64%)(Choi et al.,2010).



Σχήμα 6: Molecular structures of PAHs (Sahoo et al., 2020)

Στην ατμόσφαιρα, οι PAH μπορεί να υπόκεινται σε άμεση φωτόλυση, αν και η προσρόφηση στα σωματίδια μπορεί να καθυστερήσει αυτή τη διαδικασία. Οι PAH μπορούν επίσης να αντιδράσουν με ρύπους όπως το όζον, οι ρίζες υδροξυλίου, το διοξείδιο του αζώτου και το διοξείδιο του θείου, παράγοντας διόνες, νιτρο- και δινιτρο-PAH και σουλφονικά οξέα, αντίστοιχα. Οι PAH μπορεί επίσης να αποικοδομηθούν από ορισμένους μύκητες και μικροοργανισμούς στο έδαφος και μπορούν να μεταβολιστούν από μια μεγάλη ποικιλία χερσαίων και υδρόβιων οργανισμών, αν και αναμένεται να βιοσυγκεντρωθούν σε οργανισμούς (υδρόβιους και χερσαίους) που δεν μπορούν να τους μεταβολίσουν (Choi et al., 2010).

Οι άνθρωποι εκτίθενται σε PAH μέσω διατροφικών και μη διατροφικών πηγών (π.χ. εισπνοή και επαφή με το δέρμα). Μεταξύ αυτών, οι διατροφικές πηγές αντιπροσωπεύουν την κύρια οδό έκθεσης. πάνω από το 70% της έκθεσης των μη

καπνιστών σε ΡΑΗ σχετίζεται με την κατανάλωση τροφής. Είναι σημαντικό ότι οι ΡΑΗ μπορούν να επηρεάσουν την ανθρώπινη υγεία μέσω διαφόρων επιβλαβών επιδράσεων, οι οποίες σχετίζονται κυρίως με την καρκινογένεση και τη μεταλλαξιογένεση εκτός από τις ανοσοκατασταλτικές επιδράσεις. Αν και δεν θεωρούνται όλοι οι ΡΑΗ καρκινογόνοι, μπορούν ακόμα να επηρεάσουν συνεργιστικά την ανθρώπινη υγεία λόγω του ρόλου τους ως ελεύθερες ρίζες και της βιοσυσσώρευσης που οδηγεί σε κυτταρική βλάβη. Πρόσφατες επιδημιολογικές μελέτες με ανθρώπους και ζώα έχουν δείξει ότι ο αυξανόμενος επιπολασμός του καρκίνου μπορεί να αποδοθεί εν μέρει στην έκθεση σε ΡΑΗ. Επιπλέον, άλλες επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει ότι ένα μεγάλο ποσοστό περιπτώσεων καρκίνου μπορεί να αποδοθεί -τουλάχιστον εν μέρει- σε διατροφικούς παράγοντες, συμπεριλαμβανομένης της διατροφικής έκθεσης σε ΡΑΗ (Sampaio et al., 2021). Επομένως, η παρουσία αυτών των οργανικών ενώσεων στα τρόφιμα είναι ανησυχητική και απαιτεί συνεχή παρακολούθηση.

Η απορρόφηση των ΡΑΗ διευκολύνεται από την αυξημένη διαλυτότητά τους στα λίπη και η λιπόφιλη φύση τους επιτρέπει να συνδέονται με την κυτταρική μεμβράνη. Αυτή η δέσμευση προκαλεί δομικές αλλαγές, παρεμποδίζοντας τις κανονικές λειτουργίες του κυττάρου. Μεταξύ των ΡΑΗ, το BaP είναι το πιο εύκολα διαλυτό στα λιπίδια. Αυτή η ένωση μπορεί να συσχετιστεί με μόρια κατανομής λιπιδίων, όπως χυλομικρά και άλλες λιποπρωτεΐνες, διεισδύοντας έτσι σε πολλά συστήματα που είναι υπεύθυνα για την απορρόφηση και κατανομή των λιπιδίων και, κατά συνέπεια, προάγοντας τη βιοσυσσώρευσή τους σε ιστούς και όργανα που συμμετέχουν ενεργά σε αυτές τις διαδικασίες, όπως το ήπαρ και τα μικρά έντερο (Sampaio et al., 2021).

Πιο συγκεκριμένα, η κατανομή των ΡΑΗ εξαρτάται από τα λιπαρά οξέα που σχετίζονται με τα τριγλυκερίδια, την ελεύθερη χοληστερόλη και τα φωσφολιπίδια που ενσωματώνονται στη δομή των χυλομικρών που συντίθενται από τα κύτταρα του εντέρου και μεταφέρονται από τα λεμφαγγεία. Αυτό ακολουθείται από κατανομή στους ιστούς - όπως ο σκελετικός μυϊκός ιστός, ο λιπώδης ιστός και το ήπαρ, μέσω λιποπρωτεΐνης πολύ χαμηλής πυκνότητας, λιποπρωτεΐνης χαμηλής πυκνότητας και λιποπρωτεΐνης υψηλής πυκνότητας - μέσω τριχοειδών αγγείων του αίματος. Είναι σημαντικό ότι η χρόνια έκθεση του ανθρώπου σε ΡΑΗ μπορεί να εξηγήσει την αύξηση

του επιπολασμού ορισμένων ασθενειών, όπως ο καρκίνος του πνεύμονα στους καπνιστές και οι εντερικές ασθένειες σε μη καπνιστές. Συγκεκριμένα, τα τρόφιμα που περιέχουν υψηλή περιεκτικότητα σε λιπίδια (π.χ. βόειο κρέας, πουλερικά και ψάρια) είναι εξαιρετικά συστήματα απελευθέρωσης αυτών των μορίων, επιτρέποντας την παθητική απορρόφησή τους από τον γαστρεντερικό σωλήνα (Sampaio et al., 2021).

Υπάρχουν διάφοροι τρόποι μόλυνσης των τροφίμων από ΡΑΗ. Η παρουσία τους στα τρόφιμα οφείλεται σε περιβαλλοντικές εναποθέσεις (ρύπανση του αέρα και του νερού) ή σε ορισμένα στάδια επεξεργασίας όπως το στέγνωμα, το ψήσιμο, το τηγάνισμα ή το κάπνισμα. Έτσι, οι ΡΑΗ έχουν βρεθεί σε διαφορετικές κατηγορίες τροφίμων, συμπεριλαμβανομένων προϊόντων όπως φυτικά λίπη και έλαια, μαργαρίνη, λαχανικά, καπνιστά προϊόντα, τσάι, καφές, ζάχαρη και αλκοολούχα ποτά. Για τους μη καπνιστές, η έκθεση σε ΡΑΗ συμβαίνει κυρίως με εισπνοή αέρα ή/και κατάποση τροφής. Έχει υπολογιστεί ότι η ανθρώπινη πρόσληψη ΡΑΗ είναι σημαντικά μεγαλύτερη από την κατανάλωση τροφής παρά από την αναπνοή μολυσμένου αέρα. Αυτές οι ενώσεις τραβούν την αυξανόμενη προσοχή της επιστημονικής κοινότητας επειδή ορισμένες από αυτές θεωρούνται καρκινογόνες ή γονιδοτοξικές (Cassimiro Belo et al., 2012).

Τα βρώσιμα έλαια και λίπη είναι οι πιο συνεισφέρουσες διατροφικές πηγές ΡΑΗ λόγω της λιπόφιλης φύσης τους και της μεγάλης κατανάλωσης. Είναι ευαίσθητα σε επιμόλυνση από διάφορες οδούς, συμπεριλαμβανομένης της περιβαλλοντικής ρύπανσης της πρώτης φυτικής ύλης ή/και στα στάδια βιομηχανικής επεξεργασίας πριν από τον καθαρισμό, όπως ξήρανση σπόρων με καπνό και εκχύλιση με διαλύτες. Η διύλιση των ελαίων (απόσπηση, λεύκανση και επεξεργασία με ξυλάνθρακα) μπορεί να οδηγήσει σε μείωση της ποσότητας αυτών των ρύπων (Cassimiro Belo et al., 2012).

Οι τοξικές επιδράσεις των ΡΑΗ εξαρτώνται από τη διάρκεια και τον τρόπο έκθεσης. Οι βραχυπρόθεσμες επιπτώσεις περιλαμβάνουν ερεθισμό του δέρματος και των ματιών, ναυτία, έμετο και φλεγμονή, ενώ οι μακροπρόθεσμες επιπτώσεις σχετίζονται με καρκίνους του δέρματος, των πνευμόνων, της ουροδόχου κύστης και του γαστρεντερικού. νεφρική και ηπατική βλάβη και καταρράκτης, καθώς και γενετική μετάλλαξη, κυτταρική βλάβη και θνησιμότητα που σχετίζεται με την καρδιοπνευμονική νόσο. Επιπλέον, οι ΡΑΗ μεταβολίζονται μέσω πολλών οδών που περιλαμβάνουν ένζυμα

φάσης I και II, συμπεριλαμβανομένων των οδών υπεροξειδάσης του κυτοχρώματος P450 και αλδο-κετο αναγωγάσης, δημιουργώντας μεταβολίτες όπως εποξειδία διόλης και κατιόντα ριζών. Αυτοί οι μεταβολίτες μπορούν να συνδεθούν με πρωτεΐνες και DNA, σχηματίζοντας προϊόντα προσθήκης DNA που οδηγούν σε βιοχημικές διαταραχές και κυτταρικές βλάβες, προκαλώντας κατά συνέπεια καρκινογόνο, μεταλλαξιογόνο, ανοσοκατασταλτική και τερατογόνο βλάβη. Αυτές οι γενετικές μεταλλάξεις σχετίζονται με την ανάπτυξη εμβρυϊκών δυσπλασιών και όγκων. Επιπλέον, λαμβάνοντας υπόψη ότι οι PAH συνήθως υπάρχουν ως ένα σύνθετο μείγμα διαφορετικών δομών, μπορούν να εμφανίσουν συνεργιστικά αποτελέσματα, αυξάνοντας πιθανώς την τοξικότητά τους. Πρόσφατα, νέα στοιχεία έδειξαν ότι η εντερική μικροχλωρίδα ρυθμίζει τη δραστηριότητα ξενοβιοτικών όπως οι PAH. Η μικροχλωρίδα του ξενιστή μπορεί να επιδεινώσει την τοξική δραστηριότητα των PAH μέσω οδών όπως ο εντεροηπατικός κύκλος, καθώς και μέσω αλλαγών στη γονιδιακή έκφραση από ηπατικά ένζυμα όπως το P450. Ωστόσο, οι συγκεκριμένοι μηχανισμοί που εμπλέκονται σε αυτή τη διαμόρφωση με τη μεσολάβηση μικροβίων παραμένουν ασαφείς (Sampaio et al., 2021) & (Choi et al., 2010).

Οι PAH μπορούν να προκαλέσουν μεταλλάξεις στα χρωμοσώματα, να επηρεάσουν τις διαδικασίες σύντηξης και σύνδεσης και ενδεχομένως να προκαλέσουν χρωμοσωμικές διακοπές (Choi et al., 2010).

Κατά συνέπεια, το γενετικό υλικό που αποθηκεύεται σε αυτά τα κύτταρα γίνεται ασταθές. Εάν δεν προκύψουν μηχανισμοί επιδιόρθωσης του DNA, ο γονοτοξικός παράγοντας θα επηρεάσει μόνιμα το DNA του κυττάρου κατά τη φάση έναρξης της διαδικασίας μεταγραφής, δημιουργώντας μια μη αποτρέψιμη μετάλλαξη που θα οδηγήσει σε ένα προνεοπλασματικό κύτταρο (Choudhuri et al., 2017) & (Choi et al., 2010).

Συνοπτικά, οι συνέπειες της μόλυνσης από PAH είναι σημαντικές και εκτεταμένες, επηρεάζοντας τόσο το περιβάλλον όσο και την ανθρώπινη υγεία. Ο μετριασμός αυτών των συνεπειών απαιτεί μια πολύπλευρη προσέγγιση, που συνδυάζει αυστηρούς κανονισμούς, προληπτικά μέτρα ελέγχου της ρύπανσης, προσπάθειες αποκατάστασης και συνεχή έρευνα για την καλύτερη κατανόηση του πλήρους φάσματος των κινδύνων που σχετίζονται με τους PAH. Αντιμετωπίζοντας πλήρως αυτές τις προκλήσεις,

μπορούμε να μειώσουμε τις δυσμενείς επιπτώσεις των ΡΑΗ και να εργαστούμε για ένα καθαρότερο, πιο υγιεινό περιβάλλον.

2 Φυτικά έλαια

Τα έλαια έχουν ποικίλες χρήσεις εκτός από εδώδιμες εφαρμογές. Υπάρχουν πλέον αυξανόμενες ενδείξεις ότι τα λιπαρά οξέα (FAs) διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στην ανθρώπινη διατροφή που περιλαμβάνει τη θεραπευτική και προφυλακτική πρόληψη ασθενειών, την ανάπτυξη του ανθρώπινου εμβρύου, τη λειτουργία του εγκεφάλου και παρέχουν προστασία από πολλές σοβαρές ασθένειες όπως καρδιαγγειακά, φλεγμονές κλπ (Orsanova et al., 2015). Πολλά λιπαρά οξέα είναι πλέον γνωστό ότι έχουν αντικαρκινικό δυναμικό. Η σημασία του ρόλου των λιπών και των λιπαρών οξέων στην ανθρώπινη διατροφή κερδίζει την προσοχή καθώς όλο και περισσότερες έρευνες γίνονται (Tian et al., 2023). Εκτός από ένα βασικό συστατικό της ανθρώπινης διατροφής, τα λιπαρά οξέα έχουν επίσης σημασία σε διάφορες βιομηχανικές εφαρμογές όπως σαπούνια και απορρυπαντικά, καλλυντικά, λιπαντικά, μελάνι, βερνίκι, χρώματα κ.λπ. Έτσι, υπάρχει μια συνεχώς διευρυνόμενη αγορά για τις καλλιέργειες ελαιούχων σπόρων τόσο από διατροφική όσο και από βιομηχανική άποψη. Επιπλέον, τα φυτά παράγουν μια μεγάλη ποικιλία λιπαρών οξέων με διαφορετικές δομές που προσδίδουν μοναδικές φυσικοχημικές ιδιότητες σε αυτά και τα καθιστούν χρήσιμα.

Τα φυτικά έλαια αποτελούν σημαντικό συστατικό της ανθρώπινης διατροφής. Τα κύρια βρώσιμα φυτικά έλαια από την άποψη της παραγωγής περιλαμβάνουν από ελαιοκαρπό, σόγια, canola, ηλίανθο και φιστίκι. Αποτελούν πηγή βρώσιμων λιπαρών οξέων (κορεσμένων, μονοακόρεστων ή πολυακόρεστων), τα οποία παίζουν σημαντικό ρόλο στον κυτταρικό μεταβολισμό ως τρόπος αποθήκευσης ενέργειας και επίσης παρέχοντας ενέργεια όταν απαιτείται. Τα λιπαρά οξέα είναι γνωστό ότι παίζουν σημαντικό ρόλο στην κυτταρική διαίρεση και ανάπτυξη. Αποτελούν αναπόσπαστο συστατικό των κυτταρικών μεμβρανών, ορμονών και νευροδιαβιβαστών. Η πρόσληψη διαφορετικών λιπαρών οξέων έχει άμεση επίδραση στην ανθρώπινη υγεία. Για παράδειγμα, η αυξημένη πρόσληψη κορεσμένων λιπαρών οξέων έχει συνδεθεί με καρδιαγγειακές παθήσεις. Έτσι, θεωρείται επιθυμητό να έχουμε δίαιτες χαμηλές σε κορεσμένα λιπαρά οξέα. Εκτός από αυτά, μερικά πολυακόρεστα λιπαρά οξέα πολύ μακριάς αλυσίδας (VLC-PUFA; C20-C22) όπως το αραχιδονικό οξύ (ARA; 20:4), το εικοσαπεντανοϊκό οξύ (EPA; 20:5) και το εικοσιδυαεξανοϊκό οξύ (DHA; 22:6).), που συνήθως προέρχονται από

θαλασσινές τροφές, έχει αποδειχθεί ότι διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη διατροφή του ανθρώπου (Orsavona et al., 2015) & (Tian et al., 2023).

2.1 Πως τα φυτικά έλαια επιμολύνονται

Οι έμμονοι οργανικοί ρύποι (POPs) εξακολουθούν να αποτελούν απειλή για το περιβάλλον λόγω των συνεχιζόμενων εκπομπών. Η Σύμβαση της Στοκχόλμης για τους POPs το έτος 2001 περιόρισε τη χρήση POP. Ωστόσο, μόλις το 2004 τέθηκε σε ισχύ το ψήφισμα. Πολύ μετά την έγκριση από την επιτροπή του συνεδρίου, η συνεχιζόμενη έκθεση σε POP μπορεί να αποδοθεί σε βαριές βιομηχανικές δραστηριότητες που περιλαμβάνουν τον τομέα διαχείρισης απορριμμάτων και άλλες βιομηχανίες που χρησιμοποιούν πρόσθετα και φυτοφάρμακα. Οι έμμονοι οργανικοί ρύποι έχουν βάση τον άνθρακα και μπορεί να είναι σε μορφή ατμού ή να προσροφηθούν από τα σωματίδια της ατμόσφαιρας. Οι κοινώς γνωστοί POPs είναι οι διοξίνες, τα διβενζοφουράνια, τα οργανοχλωριομένα φυτοφάρμακα (OCPs), οι πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες (PAH) και τα PCB. Επιπλέον, αυτές οι ενώσεις έχει αναφερθεί ότι έχουν μακροχρόνια επίδραση στο περιβάλλον λόγω της μη αποικοδομήσιμης φύσης τους. Στην Αφρική, ο μεγαλύτερος παράγοντας που συνεισφέρει στους POP είναι τα φυτοφάρμακα. Αυτό παρατηρείται κυρίως σε χώρες όπου η παραγωγή και το εμπόριο τροφίμων συμβάλλουν σημαντικά στο ακαθάριστο εγχώριο προϊόν (ΑΕΠ). Επιπλέον, η Γκάνα αναφέρεται ότι είναι ένας από τους κορυφαίους χρήστες φυτοφαρμάκων. Σε μια μελέτη ανασκόπησης στην Γκάνα, τα διχλωροδιφαινυλτριχλωροαιθάνια (DDTs) βρέθηκαν να είναι υψηλού κινδύνου στις υπό μελέτη ομάδες τροφίμων. Ωστόσο, η μείωση σε ορισμένα από τα αποτελέσματα θεωρείται ότι είναι αποτέλεσμα της δήλωσης της σύμβασης της Στοκχόλμης. Οι ερευνητές σημείωσαν περαιτέρω ότι οι άνθρωποι που δεν εκτίθενται σε POP στο κανονικό περιβάλλον εργασίας τους εκτίθενται μέσω της διατροφικής τους πρόσληψης ζωικών προϊόντων. Η έκθεσή τους μπορεί να επιδεινωθεί με την κατάποση φρούτων και λαχανικών που έχουν μολυνθεί από φυτοφάρμακα (Lebelo et al., 2021).

Στο πρόγραμμα παρακολούθησης φυτοφαρμάκων του 2017, η USFDA ανέλυσε 6069 τρόφιμα (1799 εγχώρια και 4270 εισαγόμενα) που καταναλώθηκαν από τον άνθρωπο και διαπίστωσε ότι το 96,2% των εγχώριων τροφίμων και το 89,6% των εισαγόμενων

δειγμάτων τροφίμων συμμορφώνονταν με τα ομοσπονδιακά πρότυπα. Δεν ανιχνεύθηκαν φυτοφάρμακα στο 52,5% και στο 50% των εγχώριων και εισαγόμενων δειγμάτων αντίστοιχα (U.S. Food and Drug Administration, 2017).

Οι χημικές προσμείξεις έχουν γίνει ανησυχία όσον αφορά την ασφάλεια των τροφίμων λόγω των υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων και των περιβαλλοντικών ρύπων που ανιχνεύονται στην προμήθεια τροφίμων. Μεγάλη ποσότητα ρύπων που παράγεται από τους ταχέως αναπτυσσόμενους γεωργικούς και βιομηχανικούς τομείς έχουν απελευθερωθεί στο περιβάλλον και έχουν βρει τον δρόμο τους στον εφοδιασμό τροφίμων. Δεδομένης της εκτεταμένης εμφάνισης χημικών μολυσματικών ουσιών στα τρόφιμα και των σοβαρών κινδύνων για την υγεία τους, η πρόληψη της μόλυνσης των τροφίμων αποτελεί προτεραιότητα για τη δημόσια υγεία. Τις τελευταίες δεκαετίες, έχει δοθεί έμφαση σε ένα υποσύνολο επιβλαβών οργανικών χημικών ουσιών, κυρίως ανθρωπογενούς προέλευσης, που ταξινομούνται συνήθως ως έμμονοι οργανικοί ρύποι (POPs).

Οι περισσότεροι POP είναι αλογονωμένες χημικές ουσίες και ο ισχυρός δεσμός μεταξύ άνθρακα και χλωρίου/βρωμίου/φθορίου καθιστά τους POP ανθεκτικούς στην περιβαλλοντική υποβάθμιση, συμπεριλαμβανομένων των χημικών, βιολογικών και φωτολυτικών αντιδράσεων. Για αυτούς τους μη αλογονωμένους POP, οι σταθερές χημικές τους δομές τους καθιστούν επίσης ανθεκτικούς στη φύση. Οι POPs είναι ανθεκτικοί στην περιβαλλοντική υποβάθμιση συμπεριλαμβανομένων των χημικών, βιολογικών και φωτολυτικών αντιδράσεων. Επομένως, αφού απελευθερωθούν, οι POP μπορούν να παραμείνουν στο περιβάλλον για μεγάλο χρονικό διάστημα. Ορισμένοι POP θα μπορούσαν να έχουν χρόνο ημιζωής ετών ή δεκαετιών και μπορούν να παραμείνουν στο περιβάλλον μέχρι να προσληφθούν από φυτά και ζώα. Οι POPs μπορούν να βιοσυσσωρεύονται στον λιπώδη ιστό των ζωντανών οργανισμών και, ως εκ τούτου, να συγκεντρώνονται καθώς κινούνται μέσω της τροφικής αλυσίδας.

Πηγές επιμόλυνσης με POPs κατά την παραγωγή καλλιεργειών που προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση περιλαμβάνουν τη χρήση λιμάτων για άρδευση, την απορροή από επιμολυσμένες τοποθεσίες στα χωράφια, τις αστικές δραστηριότητες, τη χρήση φυτοφαρμάκων και λιπασμάτων (Batt et al., 2017; Blocksom et al., 2010; Fair et al.,

2019• Ghisi et al., 2019• Nerín et al., 2016• Rather et al., 2017). Άλλες πηγές επιμόλυνσης από OCPs και πολυχλωριωμένο διφαινύλιο (PCB) μπορεί να οφείλονται στην εγγύτητα σε πηγές τοξικών αποβλήτων και στην ατμοσφαιρική εναπόθεση (Olatunji, 2019• Witczak & Abdel-gawad, 2012). Οι υπερφθοριωμένες αλκυλιωμένες ουσίες (PFAS) μικρότερης αλυσίδας συσσωρεύονται στα φύλλα και τους καρπούς, ενώ οι ενώσεις μεγαλύτερης αλυσίδας τείνουν να συσσωρεύονται στις ρίζες (Ghisi et al., 2019• Scher et al., 2018).

Πάνω από το 90% της ανθρώπινης έκθεσης σε POPs οφείλεται στην κατανάλωση μολυσμένων τροφίμων, ιδιαίτερα τροφίμων ζωικής προέλευσης. Τα ψάρια συγκαταλέγονται στις κύριες πηγές έκθεσης στους POP. Για την καλύτερη προστασία της δημόσιας υγείας, είναι σημαντικό να κατανοήσουμε τις οδούς POP στα τρόφιμα και το περιβάλλον είναι μεταξύ των σημαντικών οδών. Οι POPs έχουν χρησιμοποιηθεί και απελευθερωθεί στο περιβάλλον μέσω διαφόρων ανθρώπινων δραστηριοτήτων, όπως μέσω του βιομηχανικού και γεωργικού τομέα. Οι POP που απελευθερώνονται μπορούν εύκολα να μολύνουν τις καλλιέργειες, τα ζώα, τα θαλασσινά και το πόσιμο νερό και αποτελούν υψηλό κίνδυνο για την ανθρώπινη υγεία. Για παράδειγμα, τα φυτοφάρμακα όπως το DDT και το Dieldrin έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως στη γεωργία για να αυξήσουν την απόδοση των καλλιεργειών και να εξοντώσουν ανεπιθύμητα παράσιτα τις τελευταίες δεκαετίες. Ωστόσο, η εφαρμογή των OCPs μπορεί εύκολα να εισάγει ρύπους στο νερό και τις καλλιέργειες και την άγρια ζωή. Μελέτες διαπιστώνουν ότι τα υπολείμματα φυτοφαρμάκων είναι μεταξύ των πιο συχνά εντοπιζόμενων ρύπων τροφίμων. Ομοίως, άλλοι POP που υπάρχουν στο περιβάλλον, όπως τα PCB, τα εξαχλωροβενζόλια (HCBs), οι διοξίνες και τα φουράνια είναι επίσης συνήθως μολυσματικές ουσίες τροφίμων. Για τα ζώα, η βοσκή σε μολυσμένο έδαφος και γρασίδι, η γειτνίαση με περιοχές παραγωγής χημικών και οι τοπικές οδοί έκθεσης, όπως χρώματα, στεγανοποιητικά και επιστρώσεις που χρησιμοποιούνται στις δομές στις οποίες στεγάζονται τα ζώα, είναι μερικές από τις οδούς έκθεσης εκτός από τις μολυσμένες ζωτροφές και νερό (Ferrante et al., 2017; Pajurek, Pietron, Maszewski, Mikolajczyk, & Piskorska-pliszczynska, 2019; Weber et al., 2018; Zennegg, 2018).

Μια κύρια οδός μέσω της οποίας τα φυτικά έλαια μολύνονται είναι το περιβάλλον. Το έδαφος, όταν είναι ρυπασμένο από φυτοφάρμακα, βιομηχανικές δραστηριότητες και “ακατάλληλη διάθεση” απορριμμάτων, χρησιμεύει ως δεξαμενή για τους POP. Καθώς οι καλλιέργειες ελαιούχων σπόρων ευδοκιμούν σε αυτό το έδαφος, απορροφούν αυτούς τους ρύπους, οι οποίοι στη συνέχεια βρίσκουν τον δρόμο τους στους σπόρους που χρησιμοποιούνται για την εξαγωγή ελαίου. Επιπλέον, η αερομεταφερόμενη μεταφορά των POP εναποθέτει αυτές τις χημικές ουσίες στις επιφάνειες των ελαιούχων καλλιεργειών, δίνοντας έμφαση στη διάχυτη φύση της περιβαλλοντικής μόλυνσης. Επίσης, ο γεωργικός τομέας διαδραματίζει κεντρικό ρόλο στην εισαγωγή των POP στα φυτικά έλαια. Τα φυτοφάρμακα, που έχουν σχεδιαστεί για να προστατεύουν τις καλλιέργειες από παράσιτα, μπορεί να περιέχουν αυτούς τους επίμονους ρύπους. Μέσω εφαρμογών ρουτίνας κατά τη διάρκεια του κύκλου ανάπτυξης, οι καλλιέργειες ελαιούχων σπόρων συσσωρεύουν υπολείμματα αυτών των φυτοφαρμάκων. Οι ίδιες οι ουσίες που προορίζονται για την προστασία των καλλιεργειών παραδόξως συνεισφέρουν στην επιμόλυνση του τελικού προϊόντος. Ακόμη, το νερό, ένας θεμελιώδης πόρος στη γεωργία, έχει τη δυνατότητα εισαγωγής POP στα φυτικά έλαια. Το νερό άρδευσης, μολυσμένο από βιομηχανικές απορρίψεις ή άλλους ρύπους, χρησιμεύει ως άμεσος αγωγός για αυτές τις ανθεκτικές χημικές ουσίες. Κατά συνέπεια, το νερό που χρησιμοποιείται στη γεωργία γίνεται φορέας POP στο έδαφος και, στη συνέχεια, στα φυτά που προορίζονται για παραγωγή ελαίου. Στη συνέχεια, τα δοχεία αποθήκευσης και τα υλικά συσκευασίας, εάν αποτελούνται από ουσίες που περιέχουν POPs, ενέχουν κίνδυνο μετανάστευσης στο λάδι. Κατά τη μεταφορά, την αποθήκευση, ακόμη και σε περιβάλλοντα λιανικής, η πιθανότητα πρόσθετης επιμόλυνσης υπογραμμίζει την ανάγκη επαγρύπνησης σε κάθε στάδιο της εφοδιαστικής αλυσίδας. Η προετοιμασία του φαγητού συνήθως περιλαμβάνει πολλαπλά στάδια, συμπεριλαμβανομένης της επεξεργασίας, της συσκευασίας, της μεταφοράς και της αποθήκευσης. Κάθε βήμα θα μπορούσε να είναι μια πιθανή πηγή εισβολής POP. Τα τρόφιμα θα μπορούσαν να επιμολυνθούν από POP μέσω διαφορετικών οδών. Για παράδειγμα, οι πρώτες ύλες μπορεί να περιέχουν POP που μεταφέρονται από το περιβάλλον. Δεδομένου ότι οι POP είναι ανθεκτικοί στην βιοαποικοδόμηση, μπορούν να παραμείνουν στο περιβάλλον για μεγάλο χρονικό διάστημα. Οι προηγουμένως

απελευθερωμένοι POP στο περιβάλλον αποτελούν σημαντική πηγή επιμόλυνσης των τροφίμων και των ζωοτροφών με POP. Η πρόσληψη POP από το φυτικό φύλλωμα μπορεί να μεταφέρει αποτελεσματικά τους POP από τον αέρα στο φυτό και στη συνέχεια στην τροφή. Άλλες πηγές POP είναι τα στάδια προετοιμασίας τροφίμων, κατά τα οποία οι POP μπορούν να εισαχθούν τεχνητά από τον άνθρωπο. (Guo et al., 2019)

Τα βρώσιμα έλαια όπως το αραβοσιτέλαιο, το ελαιόλαδο, το φυσιτέλαιο και το ηλιέλαιο είναι ιδιαίτερα δημοφιλή παγκοσμίως και ο ρυθμός κατανάλωσης αυτών των ελαίων αυξάνεται. Το βρώσιμο φυτικό έλαιο είναι ένα σημαντικό συστατικό της καθημερινής διατροφής, ειδικά μεταξύ των Ασιατών, για παράδειγμα, η κατανάλωση βρώσιμου φυτικού ελαίου στην Κίνα από το 2018 έως το 2019 ήταν 39,78 εκατομμύρια τόνοι σύμφωνα με το Εθνικό Γραφείο Στατιστικής. Τα διάφορα στάδια παραγωγής βρώσιμου ελαίου, συσκευασίας, μεταφοράς ή αποθήκευσης, θα μπορούσαν να προκαλέσουν επιμολύνσεις στα έλαια. Επιπλέον, οι νέες βιομηχανικές διεργασίες, οι γεωργικές πρακτικές, η περιβαλλοντική ρύπανση και η κλιματική αλλαγή, τα νέα τοξικά υπολείμματα στο πετρέλαιο έχουν αυξηθεί (Farr e et al., 2013).

Αυτά τα προϊόντα μπορεί να επιμολυνθούν από περιβαλλοντική ρύπανση ή/και κατά τη διάρκεια των σταδίων επεξεργασίας πριν από τη διύλιση. Γενικά, αυτές οι μολύνσεις έχουν αρνητικό αντίκτυπο στην ασφάλεια των τροφίμων και μπορεί να αποτελέσουν τεράστια απειλή για την ανθρώπινη υγεία. Ως εκ τούτου, η ανίχνευση και η παρακολούθηση αυτών των ρύπων στα βρώσιμα έλαια είναι σημαντική για την αξιολόγηση της ασφάλειας των τροφίμων. Υπάρχει ωστόσο, ένας μεγάλος αριθμός μεθόδων για την ανάλυση ασφάλειας του βρώσιμου ελαίου, όπως η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC), η υγρή χρωματογραφία-συζευγμένη με φασματομετρία μάζας (LC-MS/MS) και η αέρια χρωματογραφία-φασματομετρία μάζας (GC-MS) (Xia et al., 2021).

2.2 Επίπεδα POP στα έλαια

Τα υπολείμματα φυτοφαρμάκων επηρεάζουν σοβαρά την υγεία των καταναλωτών μέσω της φύτευσης, της συγκομιδής, της εξαγωγής και της μεταφοράς ελαιούχων σπόρων, προκαλώντας τεράστιες απώλειες στην κοινωνία και την οικονομία (Hernando et al., 2007). Πολλές μελέτες ανέφεραν την επιμόλυνση με OCPs των βρώσιμων ελαίων. Οι Tian et al. (2016) ερεύνησαν τους οργανικούς ρύπους σε δείγματα βρώσιμων ελαίων από σογιέλαιο, ηλιέλαιο, κραμβέλαιο και καλαμποκέλαιο και πραγματοποίησε εκτιμήσεις κινδύνου για τα επίπεδα έκθεσης. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι στα έλαια που ερευνήθηκαν βρέθηκαν 14 έως 80 οργανικοί ρύποι με τις συνολικές συγκεντρώσεις τους να κυμαίνονται από 1,44 έως 54,77 mg/kg. Επιπλέον, μεταξύ αυτών των ρύπων, οι συνολικές ποσότητες υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων, συνθετικών ενδιάμεσων και άλλων (πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες, εστέρες φθαλικού οξέος κ.λπ.) κυμαίνονταν από 0,16–36,005, 0,095–9,78 και 0,045–19 mg/kg αντίστοιχα.

Κατά το ραφινάρισμα φυτικών ελαίων σε υψηλές θερμοκρασίες, οι εστέρες 3-μονοχλωροπροπανδιόλης (3-MCPD), πιθανοί καρκινογόνοι παράγοντες, σχηματίζονται από την ακυλογλυκερόλη παρουσία πηγής χλωρίου. Για τη διερεύνηση των οργανοχλωριωμένων ενώσεων στα φυτικά έλαια ως πιθανούς πρόδρομους για τους εστέρες 3-MCPD, έγιναν δοκιμές σε ακατέργαστα φοινικέλαια, έλαια σόγιας, ελαιοκράμβης, ηλιάνθου, καλαμποκιού, καρύδας και ελαιόλαδου για την παρουσία οργανοχλωριωμένων ενώσεων.

Οι εστέρες 3-μονοχλωροπροπανδιόλης (3-MCPD) είναι μολυσματικές ουσίες που δημιουργούνται κατά την απόσμηση φυτικών ελαίων στο διυλιστήριο. Έχουν αναφερθεί συγκεντρώσεις > 5,0 mg/kg από έλαια καρύδας, καλαμποκιού και φοινικέλαιου που χρησιμοποιήθηκαν κυρίως για την παραγωγή προϊόντων διατροφής. Οι εστέρες 3-MCPD στα τρόφιμα που καταναλώνονται υποβάλλονται σε σχεδόν πλήρη υδρόλυση στο ανθρώπινο πεπτικό σύστημα, αποδίδοντας ελεύθερο 3-MCPD, το οποίο κατηγοριοποιήθηκε από την Ευρωπαϊκή Επιστημονική Επιτροπή το 2001 ως καρκινογόνο και από τον Διεθνή Οργανισμό Έρευνας για τον Καρκίνο ως ενώσεις που είναι πιθανώς καρκινογόνες για τον άνθρωπο (Buhrke et al., 2011)&(Goh et al., 2021). Όπως αναφέρθηκε από μια in vivo μελέτη μοντέλου αρουραίων, η εισαγωγή του ελεύθερου 3-MCPD οδήγησε σε προοδευτική νεφροτοξικότητα τόσο σε αρσενικούς όσο και σε

θηλυκούς αρουραίους καθώς και σε τοξικότητα των όρχεων και υπερπλασία των μαστικών αδένων μόνο σε αρσενικούς αρουραίους (Gao et al., 2017).

2.3 Ανώτατα επιτρεπτά όρια για τους POPs

ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ (ΕΕ) 2019/1021

Στόχος αυτού του κανονισμού είναι η προστασία της ανθρώπινης υγείας και του περιβάλλοντος με την εξάλειψη ή τον περιορισμό της παραγωγής και χρήσης έμμονων οργανικών ρύπων (POPs) όπως ορίζονται στη Σύμβαση της Στοκχόλμης για τους έμμονους οργανικούς ρύπους ή στο πρωτόκολλο της σύμβασης του 1979 για τη μεγάλης εμβέλειας Διασυννοριακή ατμοσφαιρική ρύπανση από έμμονους οργανικούς ρύπους. Επιδιώκει να ελαχιστοποιήσει ή να εξαλείψει, όπου είναι δυνατόν, τις απελευθερώσεις τέτοιων ουσιών και να ρυθμίσει τα απόβλητα που περιέχουν ή έχουν μολυνθεί από αυτές. Ο κανονισμός περιλαμβάνει έναν κατάλογο συγκεκριμένων έμμονων οργανικών ρύπων. Αυτή η λίστα περιλαμβάνει διάφορες χημικές ουσίες, συμπεριλαμβανομένων των φυτοφαρμάκων, των βιομηχανικών χημικών ουσιών και των ακούσιων παραπροϊόντων, γνωστών για την εμμονή τους στο περιβάλλον και την πιθανή βλάβη στους ζωντανούς οργανισμούς. Ο κανονισμός 2019/1021 επιβάλλει περιορισμούς και ελέγχους στην παραγωγή, τη διάθεση στην αγορά και τη χρήση έμμονων οργανικών ρύπων. Αυτοί οι περιορισμοί διαφέρουν ανάλογα με τη συγκεκριμένη ουσία και την προβλεπόμενη ή ακούσια χρήση της. Υπάρχουν διατάξεις για την παρακολούθηση και την υποβολή εκθέσεων σχετικά με την παρουσία και τις επιπτώσεις των έμμονων οργανικών ρύπων. Αυτό συνεπάγεται υποχρεώσεις για τα κράτη μέλη να συλλέγουν και να παρέχουν δεδομένα σχετικά με τα επίπεδα και τις τάσεις αυτών των ρύπων στην επικράτειά τους. Ο κανονισμός περιλαμβάνει μηχανισμούς επιβολής, περιγράφοντας τις ευθύνες των κρατών μελών και προσδιορίζοντας κυρώσεις για μη συμμόρφωση. Η αποτελεσματική επιβολή είναι απαραίτητη για την επίτευξη των στόχων του κανονισμού (Regulation (EU) 2019/1021 of the European Parliament and of the Council of 20 June 2019 on Persistent Organic Pollutants (Recast)).

Μέχρι τώρα, μόνο για ορισμένους POP έχουν καθοριστεί όρια ασφαλείας, με βάση τις γνωστές τοξικές επιδράσεις, ωστόσο πολλοί νέοι αναδυόμενοι POP δεν έχουν

καθορισμένο όριο. Ως εκ τούτου, για την καλύτερη προστασία της ανθρώπινης υγείας, περισσότερες μελέτες θα πρέπει να επικεντρωθούν στην κατανόηση των τοξικών επιπτώσεων των POP.

Για το DDT και το HCH, ο FAO και ο ΠΟΥ ορίζουν αποδεκτές ημερήσιες προσλήψεις κάτω από 10.000 ng/kg σωματικού βάρους/ημέρα και 5.000 ng/kg σωματικού βάρους/ημέρα, αντίστοιχα (Guo et al., 2019).

Ουσία	Οριακή τιμή συγκέντρωσης που αναφέρεται στο άρθρο 7 παράγραφος 4 στοιχείο α)
DDT (1,1,1-τριχλωρο-2,2-δις(4-χλωροφαινυλ)αιθάνιο)	50 mg/kg
Χλωρδάνιο	50 mg/kg
Εξαχλωροκυκλοεξάνια, συμπεριλαμβανομένου του λινδανίου	50 mg/kg
Διελδρίνη	50 mg/kg
Ενδρίνη	50 mg/kg
Αλδρίνη	50 mg/kg
Επταχλώριο	50 mg/kg
Πολυχλωριωμένα διφαινύλια (PCB)	50 mg/kg
Τοξαφένιο	50 mg/kg

Πίνακας 1 Ανώτατα όρια συγκέντρωσης των POPs στα απόβλητα

ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ 1881/2006

Ο κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 1881/2006 της Επιτροπής (2) καθορίζει τα μέγιστα επιτρεπτά επίπεδα για πολυκυκλικούς αρωματικούς υδρογονάνθρακες (ΠΑΥ) σε τρόφιμα.

Τρόφιμα		Μέγιστα επιτρεπτά επίπεδα (μg/kg)
Βενζο[α]πυρένιο, βενζο[α]ανθρακένιο, βενζο[b]φλουορανθένιο και χρυσένιο	Βενζο[α]πυρένιο	Άθροισμα βενζο[α]πυρενίου, βενζο[α]ανθρακενίου, βενζο[b]φλουορανθενίου και χρυσενίου
Έλαια και λίπη (εξαιρουμένου του βουτύρου κακάο και του ελαίου κοκοφοίνικα) που προορίζονται για άμεση κατανάλωση από τον άνθρωπο ή για χρήση ως συστατικά σε τρόφιμα	2,0	10,0
Το έλαιο κοκοφοίνικα δεν προορίζεται για άμεση κατανάλωση από τον άνθρωπο ή για χρήση ως συστατικό τροφίμων	2,0	20,0

Πίνακας 2 Μέγιστα επιτρεπτά επίπεδα (μg/kg) ΠΑΥ στα τρόφιμα

3 Μέθοδοι Προσδιορισμού

Η δειγματοληψία και η προετοιμασία του δείγματος είναι κρίσιμα βήματα στην ανάλυση των Οργανικών Χλωριωμένων Ενώσεων (OCPs) και των Πολυκυκλικών Αρωματικών Υδρογονανθράκων (PAHs) σε φυτικά έλαια. Οι κατάλληλες τεχνικές σε αυτό το στάδιο διασφαλίζουν την αξιοπιστία και την ακρίβεια των επόμενων αναλυτικών μεθόδων. Αυτό το κεφάλαιο διερευνά τις βασικές μεθοδολογίες που εμπλέκονται στη συλλογή και προετοιμασία δειγμάτων για ανάλυση OCP και PAH σε φυτικά έλαια.

3.1 Τεχνικές δειγματοληψίας

Η εφαρμογή κατάλληλων τεχνικών δειγματοληψίας είναι θεμελιώδης για τη λήψη ενός αντιπροσωπευτικού δείγματος που αντικατοπτρίζει την πραγματική σύνθεση του φυτικού ελαίου. Η τυχαία δειγματοληψία, όπου τα δείγματα επιλέγονται χωρίς προκαθορισμένο μοτίβο, είναι ζωτικής σημασίας για τον μετριασμό της μεροληψίας επιλογής και τη διασφάλιση ότι το δείγμα που συλλέγεται είναι μια αμερόληπτη αναπαράσταση ολόκληρης της παρτίδας. Η στρωματοποιημένη δειγματοληψία χωρίζει τον πληθυσμό σε διακριτά στρώματα, λαμβάνοντας υπόψη παράγοντες όπως η γεωγραφική θέση ή οι μέθοδοι επεξεργασίας, παρέχοντας μια πιο λεπτομερή κατανόηση των προτύπων μόλυνσης. Η σύνθετη δειγματοληψία περιλαμβάνει τη συγχώνευση πολλαπλών μικρότερων δειγμάτων, ενισχύοντας τη συνολική αντιπροσωπευτικότητα καταγράφοντας παραλλαγές εντός και μεταξύ των διαφορετικών παρτίδων (Suresh et al., 2011).

Ο προσεκτικός σχεδιασμός για τη συλλογή δειγμάτων περιλαμβάνει την επιλογή δοχείων που είναι αδρανή και δεν αντιδρούν σε OCP και PAH, διατηρώντας τη χημική σύνθεση του φυτικού ελαίου. Η επιλογή του υλικού του δοχείου είναι κρίσιμη για την αποφυγή μόλυνσης κατά την αποθήκευση και τη μεταφορά. Οι κατάλληλες συνθήκες αποθήκευσης, συμπεριλαμβανομένου του ελέγχου της θερμοκρασίας και του φωτός, είναι επιτακτικές για την πρόληψη της υποβάθμισης των OCP και των PAH με την πάροδο του χρόνου. Αυτές οι συνθήκες είναι ζωτικής σημασίας για τη διατήρηση της σταθερότητας των ρύπων και την πρόληψη αλλαγών στις συγκεντρώσεις τους (Ohoro & Wepener, 2023).

Η ομογενοποίηση είναι ένα κρίσιμο βήμα για τη διασφάλιση της ομοιόμορφης κατανομής των ρύπων μέσα στο δείγμα. Χρησιμοποιούνται μηχανικές ή χειροκίνητες μέθοδοι με βάση το ιξώδες του φυτικού ελαίου. Η επίτευξη ομοιογένειας είναι απαραίτητη για τη λήψη αντιπροσωπευτικών υποδειγμάτων για μετέπειτα ανάλυση. Η επιλογή των διαλυτών εκχύλισης είναι καθοριστικής σημασίας, λαμβάνοντας υπόψη παράγοντες όπως η πολικότητα, η επιλεκτικότητα και η συμβατότητα με φυτικά έλαια. Η διαδικασία επιλογής περιλαμβάνει μια προσεκτική ισορροπία μεταξύ των πλεονεκτημάτων και των προκλήσεων που σχετίζονται με κάθε τύπο διαλύτη. Η απομόνωση οργανοχλωριωμένων ενώσεων (OCPs) και πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων (PAH) από φυτικά έλαια περιλαμβάνει μεθόδους εκχύλισης και καθαρισμού για τον διαχωρισμό αυτών των ρύπων από τη μήτρα του ελαίου (Chen et al., 2021) & (Ohoro & Wepener, 2023).

3.2 Μέθοδοι για την απομόνωση OCPs και PAHs από φυτικά έλαια

Τα τελευταία χρόνια, έχουν αναπτυχθεί πολυάριθμες καινοτόμες αναλυτικές μέθοδοι για την προετοιμασία δειγμάτων, την εκχύλιση και τον εντοπισμό υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων. Αυτές οι προσεγγίσεις είναι πιο αυτοματοποιημένες και φιλικές προς το περιβάλλον, με αποτέλεσμα τη μείωση τόσο των αποβλήτων όσο και των σημαντικών όγκων οργανικών διαλυτών.

Ο προσδιορισμός των PAH στα λιπίδια είναι δύσκολος λόγω των χαμηλών επιπέδων μεμονωμένων PAH (mg/kg), της πολυπλοκότητας των διαδικασιών εκχύλισης και καθαρισμού και της απαίτησης καλής χρωματογραφικής ανάλυσης καθώς και της ανάγκης για ευαίσθητη ανίχνευση για τον τελικό ποσοτικό προσδιορισμό. Ως εκ τούτου, έχουν αναπτυχθεί διάφορες μέθοδοι εκχύλισης και καθαρισμού PAH από βρώσιμα έλαια. Οι υιοθετούμενες μέθοδοι ανάλυσης συνήθως αποτελούνται από μια διαδικασία εκχύλισης με διαλύτη που ακολουθείται από χρωματογραφία στήλης και αέρια ή υγρή χρωματογραφία, και η ανίχνευση των ενώσεων επιτυγχάνεται με φασματοσκοπία φθορισμού ή φασματομετρία μάζας. Οι περισσότερες από τις μεθόδους που εφαρμόζονται για τον προσδιορισμό των PAH σε έλαια και λίπη περιλαμβάνουν ένα

στάδιο σαπωνοποίησης με μεθανολικό διάλυμα KOH και εκχύλιση υγρού-υγρού (LLE) με εξάνιο, κυκλοεξάνιο ή ισοοκτάνιο. Στη συνέχεια, το προκύπτον εκχύλισμα καθαρίζεται με μια στήλη (πυριτίου, αλουμίνας, Sephadex ή Florisil). Η εκχύλιση δια της στερεάς φάσης (Solid Phase Extraction) (SPE) είναι μια καθιερωμένη τεχνική καθαρισμού δειγμάτων, καθώς έχει την ικανότητα να διαχωρίζει τις ενώσεις-στόχους με εξαιρετική επιλεκτικότητα λόγω ενός εκτεταμένου φάσματος εμπορικά διαθέσιμων ροφητών και μιας ποικιλίας συνθηκών εκχύλισης που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για επιτευχθεί ο επιθυμητός καθαρισμός ή διαχωρισμός. Γενικά, η χρήση φυσιγγίων SPE απαιτεί λιγότερους οργανικούς διαλύτες και μικρότερο χρόνο ανάλυσης από τις παραδοσιακές διαδικασίες LLE (Cassimiro Belo et al., 2012).

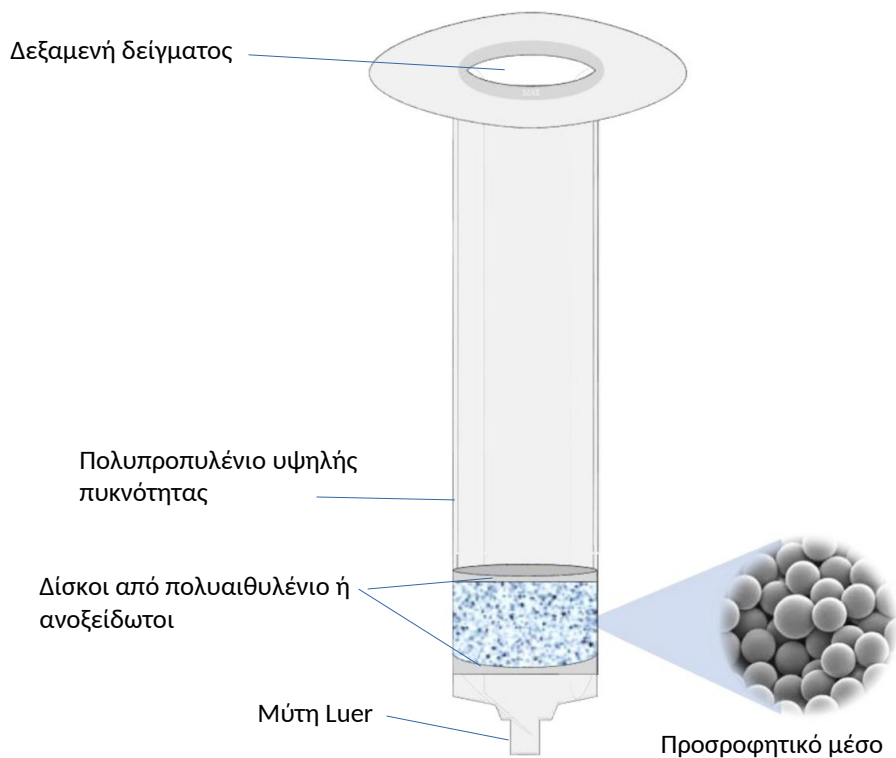
Ακολουθούν ορισμένες κοινά χρησιμοποιούμενες μέθοδοι για την απομόνωση των OCP και των PAH από φυτικά έλαια.

Η SPE και η LLE θεωρούνται οι βασικές τεχνικές απομόνωσης. Υπάρχουν ωστόσο και άλλες εναλλακτικές τεχνικές όπως η μέθοδος QuEChERS (Quick Easy Cheap Effective Rugged Safe), η υγρή εκχύλιση υπό πίεση (pressurized liquid extraction) (PLE), η μικροεκχύλιση στερεάς φάσης (SPME) και η εκχύλιση με ανάδευση σε προσροφητική ράβδο (stir-bar-sorptive extraction) (SBSE)

3.2.1 Εκχύλιση στερεάς φάσης (solid phase extraction) (SPE)

Η εκχύλιση στερεάς φάσης (SPE) είναι ένας αποτελεσματικός τρόπος προετοιμασίας δειγμάτων στη χημεία. Μια μέθοδος συλλογής δειγμάτων και ανάλυσης μπορεί να είναι η SPE. Σπάνια χρησιμοποιείται χωρίς περαιτέρω βήματα προετοιμασίας, όπως αραιώση ή ρύθμιση pH. Παρόμοια με την εκχύλιση υγρού-υγρού (LLE), η SPE βασίζεται σε παρόμοιες αρχές. Η κατανομή των αναλυτών ή των διαλυμένων ουσιών μεταξύ δύο φάσεων είναι παρόμοια και στις δύο διαδικασίες. Η SPE δεν απαιτεί ανάμειξη δύο υγρών φάσεων, όπως η LLE, αλλά περιλαμβάνει διασπορά της αναλυόμενης ουσίας μεταξύ δύο υγρών φάσεων (μέσο δείγματος και προσροφητικό μέσο). Το υγρό δείγμα διέρχεται μέσω προσροφητικών σωματιδίων στα οποία οι αναλυόμενες ουσίες έχουν μεγαλύτερη συγγένεια από το υγρό. Στη συνέχεια, οι αναλυόμενες ουσίες εκχυλίζονται με έκλουση με κατάλληλο διαλύτη. Αυτή η μέθοδος εκχύλισης απλοποιεί την ανάλυση αφαιρώντας μεγάλο μέρος της μήτρας του δείγματος. Λόγω της ευκολίας και της

οικονομίας από άποψη χρόνου και διαλυτών, η SPE γίνεται πιο διαδεδομένη για την προσυγκέντρωση της αναλυόμενης ουσίας και την αφαίρεση μήτρας απ' ό,τι η LLE. Επιπλέον, η LLE είναι αναποτελεσματική στην εξαγωγή πολικών ενώσεων, χρονοβόρα, τείνει να σχηματίζει γαλακτώματα, απαιτεί μεγάλη ποσότητα διαλυτών για να εξατμιστεί και χρησιμοποιεί χημικά δυνητικά τοξικά. (Badawy et al., 2022)



Σχήμα 7: Σχηματικό διάγραμμα φυσιγγίου SPE (Badawy et al., 2022)

Η εκχύλιση στερεάς φάσης βασίζεται στην κατανομή της αναλυόμενης ουσίας μεταξύ μιας στερεάς φάσης που είναι συνήθως το προσροφητικό μέσο που συγκρατείται σε μια στήλη και μιας υγρής φάσης που είναι μια μήτρα δείγματος ή ένας διαλύτης με αναλύτες. Ως αποτέλεσμα της κατανομής με προσρόφηση ή διείσδυση μορίων σε στερεά επιφάνεια, δημιουργείται μια ισορροπία και η αναλυόμενη ουσία διατηρείται στη στερεά επιφάνεια σύμφωνα με τον συντελεστή κατανομής.

Η SPE κανονικής φάσης περιλαμβάνει μια πολική στατική φάση και η κατακράτηση προκύπτει από την αλληλεπίδραση μεταξύ των πολικών λειτουργικών ομάδων της αναλυόμενης ουσίας και των πολικών ομάδων στην επιφάνεια του προσροφητικού

μεσου. Η ανεστραμμένη φάση περιλαμβάνει μια μη πολική στατική φάση με μια πολική ή μέτρια πολική κινητή φάση και γενικά χρησιμοποιείται για υδατικά δείγματα των οποίων η κύρια δύναμη αλληλεπίδρασης είναι οι δυνάμεις van der Waals. Τα πιο συχνά προσροφητικά στερεά μέσα που χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό των οργανοχλωριωμένων φυτοφαρμάκων στα έλαια είναι η αλούμινα, το πυριτικό μαγνήσιο και ο γραφίτοποιημένος άνθρακας (Ötles & Kartal, 2016).

3.2.2 Εκχύλιση υγρού-υγρού (Liquid-liquid extraction) (LLE)

Η εκχύλιση υγρού-υγρού (LLE) αποτελεί μια ισχυρή τεχνική στον τομέα της αναλυτικής χημείας, ιδιαίτερα στο πλαίσιο της εξαγωγής έμμονων οργανικών ρύπων (POPs) από βρώσιμα έλαια. Οι POPs, μια κατηγορία περιβαλλοντικών ρύπων, αποτελούν σημαντική απειλή για την ανθρώπινη υγεία λόγω της ικανότητάς τους να συσσωρεύονται στους λιπώδεις ιστούς. Τα βρώσιμα έλαια, που αποτελούν βασικό στοιχείο σε πολλές δίαιτες, μπορούν να χρησιμεύσουν ως φορείς αυτών των επιβλαβών ουσιών.

Η εκχύλιση υγρού-υγρού βασίζεται στην αρχή της κατανομής, αξιοποιώντας τις διαφορετικές διαλυτότητες των ενώσεων σε δύο μη αναμίξιμα υγρά. Στο πλαίσιο της ανάλυσης βρώσιμων ελαίων για POPs, χρησιμοποιείται συχνά ένα κοινό ζεύγος διαλυτών - για παράδειγμα, εξάνιο και νερό. Οι αναλύτες στόχοι, οι POPs σε αυτή την περίπτωση, διαχωρίζονται μεταξύ της φάσης ελαίου και της φάσης του διαλύτη, διευκολύνοντας την απομόνωσή τους και την επακόλουθη ανάλυσή τους.

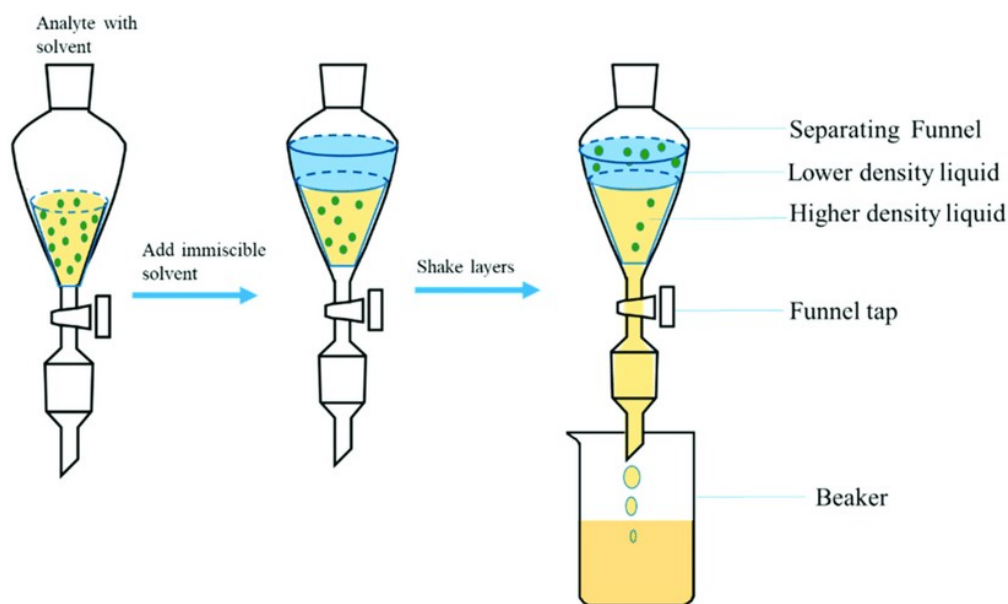
Η διαδικασία εκχύλισης συνήθως περιλαμβάνει πολλά στάδια. Αρχικά, το δείγμα βρώσιμου ελαίου αναμιγνύεται με τον διαλύτη εκχύλισης σε διαχωριστική χοάνη. Η επιλογή του διαλύτη είναι κρίσιμη, καθώς πρέπει να είναι μη αναμίξιμος με το λάδι αλλά να έχει υψηλή συγγένεια με τους POP-στόχους. Το εξάνιο, η αιθανόλη, η μεθανόλη και ο οξικός αιθυλεστέρας, με τη μη πολική φύση τους, χρησιμοποιούνται συνήθως για το σκοπό αυτό. Το μίγμα στη συνέχεια αφήνεται να διαχωριστεί σε διακριτές στοιβάδες, με το ανώτερο στρώμα να περιέχει το βρώσιμο λάδι και το κάτω στρώμα να περιέχει τα διαλυμένα POPs στο διαλύτη.

Η επανάληψη αυτής της διαδικασίας μπορεί να είναι απαραίτητη για να διασφαλιστεί η αποτελεσματική εξαγωγή. Η συλλεγόμενη φάση διαλύτη, τώρα εμπλουτισμένη με τους εκχυλισμένους POPs, υφίσταται περαιτέρω στάδια καθαρισμού και συμπύκνωσης, όπως

περιστροφική εξάτμιση ή εκχύλιση στερεάς φάσης, πριν από την ανάλυση (Chai & Pawliszyn, 1995).

Σε κάποιες περιπτώσεις πριν από τη διαδικασία απομόνωσης υγρού-υγρού προστίθεται κάποιο οξύ στα δείγματα καθώς επιτρέπει τον προσδιορισμό των ελεύθερων και συζευγμένων φυτοφαρμάκων και τις φθαλικές ενώσεις που επικαλύπτουν τα φυτοφάρμακα κατά τη διάρκεια της αέριας χρωματογραφίας. Τα πιο συνηθισμένα οξέα που χρησιμοποιούνται είναι το υδροχλωρικό οξύ, το μυρμηκικό οξύ και το θειικό οξύ. Ωστόσο, η προσθήκη αυτή έχει και το μειονέκτημα ότι μπορεί να περιορίσει τον προσδιορισμό ορισμένων οργανοχλωριωμένων φυτοφαρμάκων τα οποία είναι ευαίσθητα στην επεξεργασία με οξύ (Domini et al. 2006).

Μετά την εκχύλιση υγρού-υγρού, ο ποσοτικός προσδιορισμός των POPs σε βρώσιμα έλαια πραγματοποιείται τυπικά χρησιμοποιώντας εξελιγμένες αναλυτικές τεχνικές όπως αέρια χρωματογραφία-φασματομετρία μάζας (GC-MS) ή υγρή χρωματογραφία-φασματομετρία μάζας (LC-MS). Αυτές οι μέθοδοι παρέχουν υψηλή ευαισθησία και επιλεκτικότητα, επιτρέποντας την ανίχνευση ιχνοποσοτήτων POPs. Η χρήση σταθερών εσωτερικών προτύπων με σήμανση ισοτόπων ενισχύει περαιτέρω την ακρίβεια και την ακρίβεια της ανάλυσης.



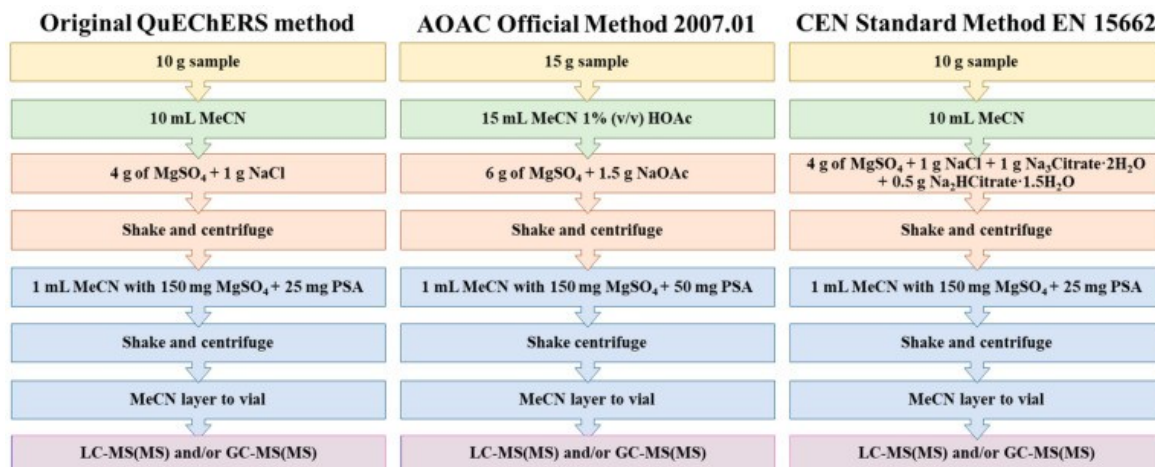
Σχήμα 8: Διαγραμματική απεικόνιση εκχύλισης υγρού-υγρού (Nichols, L. Overview of Extraction)

Η εκχύλιση υγρού-υγρού είναι μια από τις παλαιότερες μεθόδους εκχύλισης αλλά εξακολουθεί να χρησιμοποιείται πιο συχνά. Αυτή η προσέγγιση εξαγωγής βασίζεται σε δύο μη αναμίξιμους διαλύτες, ο υδατικός διαλύτης και ο οργανικός διαλύτης. Ο διαλύτης που περιέχει την αναλυόμενη ουσία τοποθετείται σε ένα χωνί, και ένας μη αναμίξιμος διαλύτης προστίθεται, σχηματίζοντας δύο στοιβάδες που ανακινούνται μεταξύ τους. Η αναλυόμενη ουσία στη συνέχεια μεταναστεύει από τον αρχικό διαλύτη στο δεύτερο διαλύτη με βάση τη σχετική διαλυτότητά τους στον διαλύτη.

3.2.3 Μέθοδος QuEChERS (*Quick Easy Cheap Effective Rugged Safe*)

Η μέθοδος QuEChERS, που σημαίνει Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe, είναι μια μέθοδος προετοιμασίας δειγμάτων που χρησιμοποιείται συνήθως στην αναλυτική χημεία για την εκχύλιση και τον καθαρισμό φυτοφαρμάκων, οργανικών ρύπων και άλλων αναλυτών από πολύπλοκες μήτρες, όπως βρώσιμα έλαια. Η μέθοδος αναπτύχθηκε αρχικά για την ανάλυση υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων σε φρούτα και λαχανικά, αλλά η ευελιξία της οδήγησε στην εφαρμογή της σε διάφορους τομείς, συμπεριλαμβανομένης της εξαγωγής οργανικών ρύπων όπως τα οργανοχλωρικά φυτοφάρμακα (OCPs) και οι πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες (PAH) από βρώσιμα έλαια. Η μέθοδος QuEChERS κατέστησε δυνατή την ποσοτικοποίηση ενός πολύ ευρύτερου φάσματος φυτοφαρμάκων (ακόμη και εκατοντάδων) από διαφορετικές χημικές κατηγορίες ταυτόχρονα με γρήγορο, απλό και οικονομικό τρόπο, ελαχιστοποιώντας παράλληλα τις ποσότητες δείγματος και οργανικού διαλύτη που χρησιμοποιούνται. Αυτή η φιλική προς το περιβάλλον μέθοδος πολλαπλών υπολειμμάτων για την ανάλυση ρουτίνας υψηλής απόδοσης των φυτοφαρμάκων περιλαμβάνει μόνο δύο στάδια, τα οποία ελαχιστοποιούν τα σφάλματα: (i) ένα βήμα εκχύλισης σε μικροκλίμακα με ακετονιτρίλιο (MeCN) που βασίζεται στον καταμερισμό μέσω αλατότητας σε συνδυασμό με (ii) ένα μέσο διασποράς SPE (d-SPE) χρησιμοποιώντας ένα μείγμα προσροφητικών για τον καθαρισμό που αποτελούνται από άνυδρο $MgSO_4$, μαζί με πρωτοταγή δευτεροταγή αμίνη (PSA) για την αφαίρεση ιχών νερού και συστατικών της μήτρας του δείγματος (οργανικά οξέα, λιπαρά οξέα και σάκχαρα), αντίστοιχα, χωρίς μεγάλο όγκο για την παραλαβή ή εκχύλιση διαλυτών,

ανάμειξη, διήθηση ή εξάτμιση. Αυτό επιτρέπει σε έναν χειριστή να εκτελεί πολλαπλές εκχυλίσεις ταυτόχρονα μέσα σε σύντομο χρονικό διάστημα (Poole, 2021).



Σχήμα 9: Διάγραμμα των τριών βασικών μεθόδων QuEChERS (Anastassiades et al., 2003)

Αυτές οι μέθοδοι ονομάζονται επίσημες μέθοδοι επειδή δημοσιεύθηκαν από την AOAC (Association of Official Analytical Chemists) και την Ευρωπαϊκή Επιτροπή Τυποποίησης, αντίστοιχα. Επιπλέον, η μέθοδος QuEChERS ξεχωρίζει για την αφαίρεση παρεμποδισέων της μήτρας του δείγματος και την επίτευξη πολύ ακριβών αποτελεσμάτων και υψηλής ευαισθησίας. Ωστόσο η μέθοδος αυτή δεν ενδείκνυται να χρησιμοποιηθεί στα φυτικά έλαια, καθώς κάποια λιπόφιλα φυτοφάρμακα όπως το DDE και το HCB έχουν αποδειχθεί ότι ανακτώνται ελάχιστα έως καθόλου όσο περισσότερο αυξάνεται η λιπαρή ουσία (Lehotay, 2011) & (Poole, 2021).

3.2.4 Μικροεκχύλιση στερεάς φάσης (Solid Phase MicroExtraction) (SPME)

Η Μικροεκχύλιση Στερεάς Φάσης (SPME) είναι μια ισχυρή και ευέλικτη τεχνική προετοιμασίας δειγμάτων που χρησιμοποιείται στην αναλυτική χημεία για την εξαγωγή και τη συμπύκνωση αναλυτών από ένα ευρύ φάσμα μητρών. Η μέθοδος χρησιμοποιεί μια μικρή, επικαλυμμένη ίνα που λειτουργεί τόσο ως φάση εκχύλισης όσο και ως εργαλείο δειγματοληψίας. Η ίνα SPME είναι τυπικά επικαλυμμένη με μια στατική φάση και η επιλογή του υλικού επίστρωσης είναι κρίσιμη. Οι κοινές επικαλύψεις περιλαμβάνουν πολυδιμεθυλοσιλοξάνιο (PDMS), πολυακυρλικό και άλλα πολυμερή. Η επιλογή εξαρτάται από τη φύση των αναλυτών που στοχεύονται. Η διαδικασία ξεκινά με

την έκθεση της επικαλυμμένης ίνας στη μήτρα του δείγματος. Αυτή η μήτρα θα μπορούσε να είναι ένα υγρό (π.χ. νερό, αίμα, έλαιο), ένα αέριο (π.χ. αέρας, ανώτερος χώρος πάνω από ένα υγρό) ή οι πτητικές ενώσεις που προέρχονται από ένα στερεό δείγμα. Με την έκθεση στο δείγμα, οι αναλυόμενες ουσίες που υπάρχουν στη μήτρα αρχίζουν να κατανέμονται στο υλικό επικάλυψης της ίνας. Αυτό είναι αποτέλεσμα της απορρόφησης των αναλυτών στη στατική φάση (Snežana Agatonović-Kuštrin et al., 2023) & (Raynie, 2006).

Η διαδικασία εκχύλισης περιλαμβάνει το να επιτρέπεται στο σύστημα να φτάσει σε ισορροπία, κατά τη διάρκεια του οποίου η συγκέντρωση των αναλυτών στην ίνα SPME σταθεροποιείται. Η διάρκεια της έκθεσης εξαρτάται από παράγοντες όπως οι ιδιότητες της αναλυόμενης ουσίας και η φύση της μήτρας του δείγματος. Μετά την περίοδο εξισορρόπησης, η ίνα SPME αφαιρείται από τη μήτρα του δείγματος. Το καλο με την SPME είναι η απλότητα της και στο γεγονός ότι συνδυάζει τη δειγματοληψία και την εξαγωγή σε ένα μόνο βήμα.

Το επόμενο βήμα περιλαμβάνει την εισαγωγή της ίνας SPME στο αναλυτικό όργανο, συνήθως έναν αέριο χρωματογράφο (GC) ή έναν υγρό χρωματογράφο (LC). Στο όργανο, η ίνα θερμαίνεται, με αποτέλεσμα οι απορροφούμενες αναλυόμενες ουσίες να εκροφηθούν από την επικάλυψη και να εισέλθουν στο χρωματογραφικό σύστημα. Οι εκροφημένες αναλυόμενες ουσίες στη συνέχεια διαχωρίζονται με βάση τις χημικές τους ιδιότητες καθώς ταξιδεύουν μέσω της χρωματογραφικής στήλης. Τέλος, οι διαχωρισμένες αναλυόμενες ουσίες ανιχνεύονται, συχνά χρησιμοποιώντας τεχνικές όπως η φασματομετρία μάζας (MS) ή η ανίχνευση ιονισμού φλόγας (FID).

Τα πλεονεκτήματα της τεχνικής αυτής λοιπόν είναι:

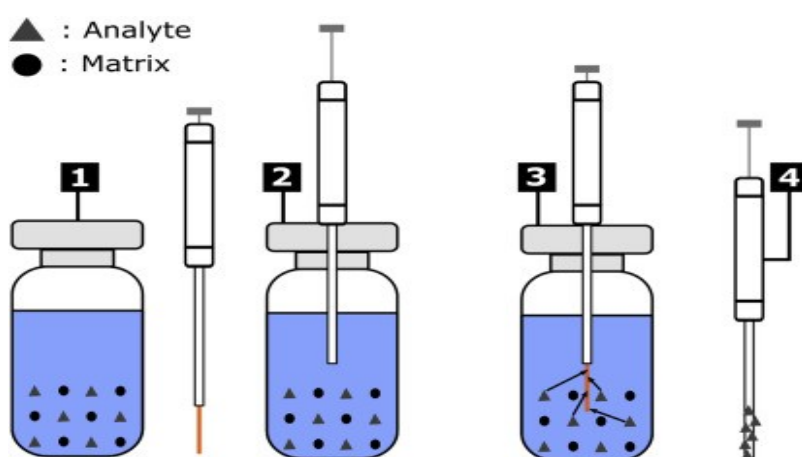
- Η SPME απλοποιεί τη διαδικασία προετοιμασίας του δείγματος συνδυάζοντας τη δειγματοληψία και την εξαγωγή σε ένα μόνο βήμα, μειώνοντας σημαντικά τον συνολικό χρόνο ανάλυσης.
- Η SPME είναι μια τεχνική χωρίς διαλύτες ή απαιτεί ελάχιστες ποσότητες διαλυτών σε σύγκριση με τις παραδοσιακές μεθόδους εκχύλισης, γεγονός που την καθιστά φιλική προς το περιβάλλον.

- Μπορεί να εφαρμοστεί σε μια ποικιλία μητρών δειγμάτων, συμπεριλαμβανομένων υγρών, αερίων και στερεών, επιδεικνύοντας την ευελιξία της.
- Η συγκέντρωση των αναλυτών στην ίνα μπορεί να οδηγήσει σε υψηλότερη ευαισθησία στις αναλυτικές μετρήσεις.

Το κύριο μειονέκτημα της SPME είναι η ποσότητα της διαθέσιμης φάσης, η οποία περιορίζει τη μάζα της αναλυόμενης ουσίας που μπορεί να εξαχθεί. Η in-tube διαμόρφωση της SPME είναι μια προσπάθεια αντιμετώπισης αυτού του ζητήματος. Άλλες τεχνικές, ιδίως η εκχύλιση με ανάδευση με προσροφητική ράβδο (SBSE), αναπτύσσονται για την παροχή μεγαλύτερης μάζας και επιφάνειας προσροφητικής φάσης (Raynie, 2006).

Σύμφωνα με το σχήμα 10

- 1) Το δείγμα τοποθετείται σε ένα φιαλίδιο.
- 2) Η βελόνα SPME εισάγεται με την ίνα SPME ανασυρμένη.
- 3) Στη συνέχεια, η ίνα SPME βυθίζεται στο δείγμα. Οι αναλύτες που μας ενδιαφέρουν εμπλουτίζουν τις ίνες.
- 4) Η βελόνα SPME μπορεί στη συνέχεια να αφαιρεθεί.

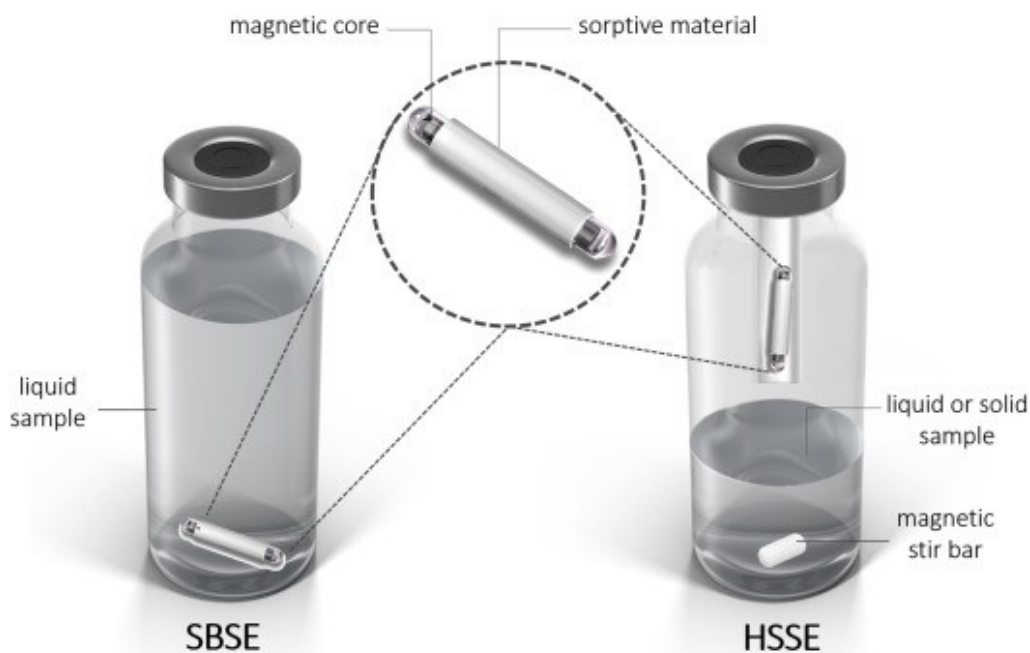


Σχήμα 10: Γενική αρχή εμβάπτισης της SPME
(Wegglar et al., 2020)

Οπότε, συμπερασματικά έχουμε πως η SPME περιλαμβάνει δύο διακριτούς μηχανισμούς: (1) την προσρόφηση της αναλυόμενης ουσίας σε μια στρώση προσροφητικού υλικού επικαλυμμένου σε μια συντηγμένη ίνα πυριτίου που ακολουθείται από (2) τη μεταφορά των προσροφημένων αναλυτών στην είσοδο χρωματογραφίας. Η έγχυση μπορεί να πραγματοποιηθεί είτε με θερμική εκρόφηση είτε με έγχυση υγρού μετά από υγρή εκχύλιση της ίνας.

3.2.5 Εκχύλιση με ανάδευση με προσροφητική ράβδο (Stir-bar-sorptive extraction) (SBSE)

Η εκχύλιση με ράβδο ανάδευσης (SBSE) είναι μια τεχνική προετοιμασίας δειγμάτων που χρησιμοποιείται στην αναλυτική χημεία για την εκχύλιση πτητικών και ημιπτητικών ενώσεων από υγρά δείγματα. Είναι μια χωρίς διαλύτες και αυτοματοποιημένη μέθοδος εκχύλισης που χρησιμοποιεί μια ράβδο ανάδευσης επικαλυμμένη με ροφητικό υλικό για την εξαγωγή αναλυτών που ενδιαφέρουν από τη μήτρα του δείγματος.



Σχήμα 11: Προσροφητική εκχύλιση με ράβδο ανάδευσης. Δειγματοληψία εμβάπτισης (αριστερά) και headspace (δεξιά)(Zuloaga et al., 2020)

Η διαδικασία είναι η εξής:

1. Ράβδος ανάδευσης με επικάλυψη με ροφητή: Η ράβδος ανάδευσης που χρησιμοποιείται στο SBSE είναι συνήθως κατασκευασμένη από μη μαγνητικά υλικά όπως γυαλί ή πολυτετραφθοροαιθυλένιο (PTFE) και επικαλυμμένη με ένα λεπτό στρώμα κατάλληλου ροφητικού υλικού. Τα κοινά ροφητικά περιλαμβάνουν το πολυδιμεθυσιλοξάνιο (PDMS) και άλλα παρόμοια πολυμερή.
2. Εκχύλιση: Η ράβδος ανάδευσης βυθίζεται στο υγρό δείγμα και χρησιμοποιείται μαγνητικός αναδευτήρας για την ανάδευση του δείγματος. Κατά τη διάρκεια αυτής της διαδικασίας, οι αναλυόμενες ουσίες στο δείγμα προσροφούνται πάνω στην απορροφητική επικάλυψη της ράβδου ανάδευσης.
3. Εκρόφηση: Μετά την εκχύλιση, η ράβδος ανάδευσης αφαιρείται από το δείγμα και οι αναλυόμενες ουσίες εκροφούνται από την επικάλυψη ροφήματος. Αυτό επιτυγχάνεται συχνά με θέρμανση της ράβδου ανάδευσης σε μονάδα θερμικής εκρόφησης ή με βύθισή της σε διαλύτη.
4. Ανάλυση: Οι εκροφημένες αναλυόμενες ουσίες στη συνέχεια αναλύονται χρησιμοποιώντας διάφορες αναλυτικές τεχνικές, όπως αέρια χρωματογραφία (GC) ή υγρή χρωματογραφία (LC), σε συνδυασμό με έναν κατάλληλο ανιχνευτή (π.χ., φασματομετρία μάζας).

Ωστόσο η τεχνική αυτή χρησιμοποιείται κυρίως για μη πολικές ενώσεις και κατ' επέκταση δεν έχει εφαρμογές σε λιπαρές ύλες όπως τα φυτικά έλαια (Zuloaga et al., 2020).

4 Τεχνικές ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης

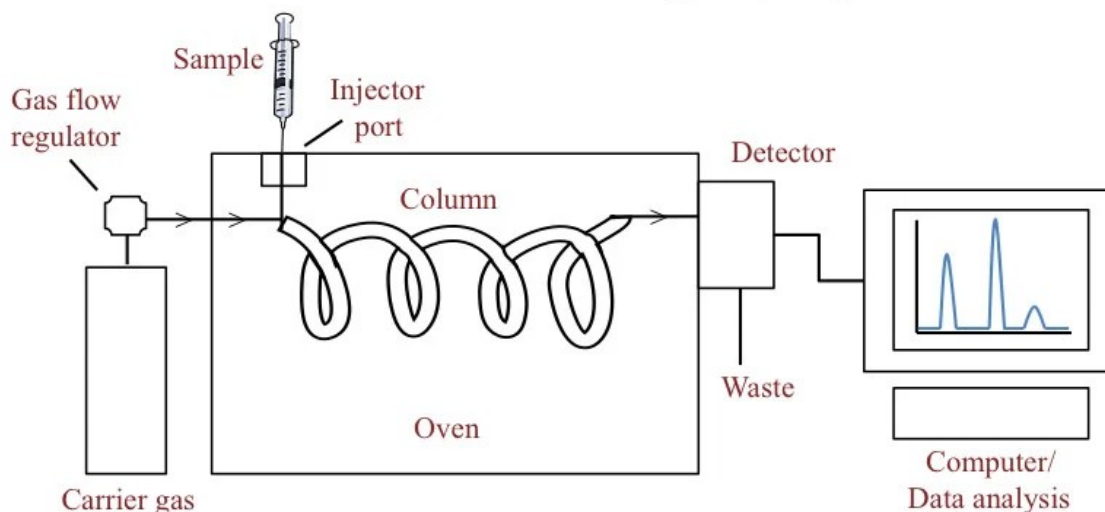
4.1 Αέρια Χρωματογραφία

Ο προσδιορισμός και η ποσοτικοποίηση των POPs και PAHs, γίνεται κυρίως με ενόργανη ανάλυση. Η μέθοδος που χρησιμοποιείται περισσότερο είναι η αέρια χρωματογραφία. Αναπτύχθηκε αρχικά από τους Martin και James το 1952 και εφαρμόζεται ευρέως στον προσδιορισμό υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων (Adekunle et al., 2018) & (C. Armendáriz et al., 2004).

Αρχή της αέριας χρωματογραφίας: Το διάλυμα δείγματος που εγχέεται στο όργανο εισέρχεται σε ένα ρεύμα αερίου το οποίο μεταφέρει το δείγμα σε έναν σωλήνα διαχωρισμού που είναι γνωστός ως "στήλη". (Το ήλιο ή το άζωτο χρησιμοποιείται ως το λεγόμενο φέρον αέριο.) Τα διάφορα συστατικά διαχωρίζονται μέσα στη στήλη. Ο ανιχνευτής μετρά την ποσότητα των συστατικών που εξέρχονται από τη στήλη. Για τη μέτρηση ενός δείγματος με άγνωστη συγκέντρωση, ένα πρότυπο δείγμα με γνωστή συγκέντρωση εγχύεται στο όργανο. Ο τυπικός χρόνος κατακράτησης του δείγματος (χρόνος εμφάνισης) και η περιοχή συγκρίνονται με το δείγμα δοκιμής για τον υπολογισμό της συγκέντρωσης.

Τα συστατικά του δείγματος θα διαχωριστούν μεταξύ των δύο φάσεων: της στατικής φάσης και της κινητής φάσης. Οι ενώσεις που έχουν μεγαλύτερη συγγένεια για τη στατική φάση περνούν περισσότερο χρόνο στη στήλη και έτσι εκλύονται αργότερα και έχουν μεγαλύτερο χρόνο κατακράτησης (R_t) από τα δείγματα που έχουν υψηλότερη συγγένεια για την κινητή φάση. Η συγγένεια για τη στατική φάση καθοδηγείται κυρίως από διαμοριακές αλληλεπιδράσεις και η πολικότητα της στατικής φάσης μπορεί να επιλεγεί για να μεγιστοποιήσει τις αλληλεπιδράσεις και συνεπώς τον διαχωρισμό (Douglas A. Skoog et al., 2014).

Gas Chromatography



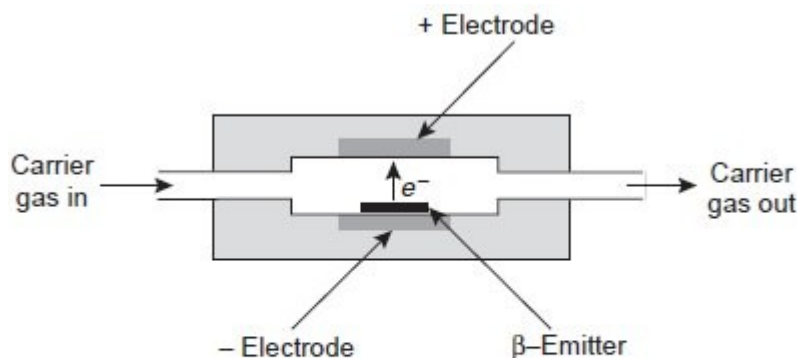
Σχήμα 12: Αρχή της Αέριας Χρωματογραφίας (Bitesize Bio, 2016)

Οι ανιχνευτές οι οποίοι συνδέονται με την αέρια χρωματογραφία και που χρησιμοποιούνται ευρέως στις αναλύσεις υπολειμμάτων οργανοχλωριωμένων φυτοφαρμάκων είναι ο ανιχνευτής σύλληψης ηλεκτρονίων ECD (Electron Capture Detector), ο ανιχνευτής αζώτου φωσφόρου NPD (Nitrogen Phosphorous Detector) και ο FPD (Flame Photometric Detector), οι οποίοι είναι εκλεκτικοί ως προς τις ουσίες που ανιχνεύουν (Μηλιάδης Γ.Ε, 2005). Ένας από τους σημαντικότερους ανιχνευτές είναι ο φασματογράφος μαζών ο οποίος συνδέεται με τον αέριο χρωματογράφο (GC/MS) και δίνει εξαιρετικά αποτελέσματα, όταν πρόκειται για προσδιορισμό ουσιών. Για καλύτερα ακόμα αποτελέσματα ο αέριος χρωματογράφος μπορεί να συνδυαστεί με δύο φασματόμετρα μάζας σε σειρά (GC/MS/MS) η οποία μέθοδος μπορεί να χρησιμοποιηθεί και για την ταυτοποίηση των συστατικών του δείγματος. Η φασματομετρία μάζας σε σειρά (Tandem Mass) περιλαμβάνει τη χρήση πολλαπλών σταδίων ανάλυσης μάζας (συνήθως δύο ή περισσότερων) για την παροχή πρόσθετων δομικών πληροφοριών σχετικά με τις αναλυόμενες ουσίες. Στο GC-MS/MS, μετά την αρχική ανάλυση μάζας, επιλεγμένα ιόντα ενδιαφέροντος κατακερματίζονται περαιτέρω και αναλύονται σε δεύτερο αναλυτή μάζας. Αυτή η διαδικασία μπορεί να ενισχύσει την ειδικότητα, την ευαισθησία και την επιλεκτικότητα της ανάλυσης. (Douglas A. Skoog et al., 2014).

4.1.1 Ανιχνευτής σύλληψης ηλεκτρονίων (ECD)

Ο ανιχνευτής σύλληψης ηλεκτρονίων (ECD) είναι μια ευαίσθητη και επιλεκτική τεχνική ανίχνευσης που χρησιμοποιείται στην αέρια χρωματογραφία (GC). Είναι ιδιαίτερα χρήσιμο για την ανίχνευση ενώσεων που περιέχουν ηλεκτραρνητικά στοιχεία όπως αλογόνα, νιτροομάδες και ορισμένα φυτοφάρμακα, φαρμακευτικά προϊόντα και περιβαλλοντικούς ρύπους (Skoog et al., 2007).

- Αρχή της μεθόδου: Η αρχή πίσω από την ECD περιλαμβάνει τη σύλληψη ηλεκτρονίων από ηλεκτραρνητικά είδη που υπάρχουν στο δείγμα. Ο ανιχνευτής περιέχει μια ραδιενεργή πηγή (συνήθως νικέλιο-63 ή μερικές φορές τρίτιο) που εκπέμπει σωματίδια βήτα (ηλεκτρόνια). Αυτά τα ηλεκτρόνια έλκονται από τη θετικά φορτισμένη άνοδο, δημιουργώντας μια ροή ρεύματος.
- Αλληλεπίδραση δείγματος: Καθώς τα συστατικά του δείγματος εκλούονται από τη στήλη GC και διέρχονται από τον ανιχνευτή, αυτά που περιέχουν ηλεκτραρνητικά άτομα δεσμεύουν μερικά από τα ηλεκτρόνια, προκαλώντας μείωση του ρεύματος που ρέει μεταξύ της καθόδου και της ανόδου.
- Απόκριση σήματος: Η μείωση του ρεύματος είναι ανάλογη της συγκέντρωσης των ηλεκτραρνητικών ενώσεων στο δείγμα. Ο ανιχνευτής παράγει ένα σήμα που ενισχύεται και καταγράφεται, συνήθως ως κορυφές σε ένα χρωματογράφημα.
- Επιλεκτικότητα και ευαισθησία: Ο ECD είναι εξαιρετικά εκλεκτικός για ενώσεις με υψηλή συγγένεια ηλεκτρονίων, όπως αλογονωμένες ενώσεις. Μπορεί να ανιχνεύσει αυτές τις ενώσεις σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις, συχνά στην περιοχή των μερών ανά τρισεκατομμύριο (ppt).
- Εφαρμογές: Ο ECD βρίσκει εφαρμογές στην περιβαλλοντική ανάλυση (π.χ. ανίχνευση φυτοφαρμάκων, PCB και διοξινών), στη φαρμακευτική ανάλυση (π.χ. προσδιορισμό υπολειμμάτων φαρμάκων) και στην ιατροδικαστική ανάλυση (π.χ. ανίχνευση εκρηκτικών και φαρμάκων).



Σχήμα 13: Σχηματικό διάγραμμα ανιχνευτή δέσμησης ηλεκτρονίων για αέρια χρωματογραφία (Gas Chromatography: Detectors for Gas Chromatography, n.d.).

4.1.2 Ανιχνευτής αζώτου φωσφόρου (NPD)

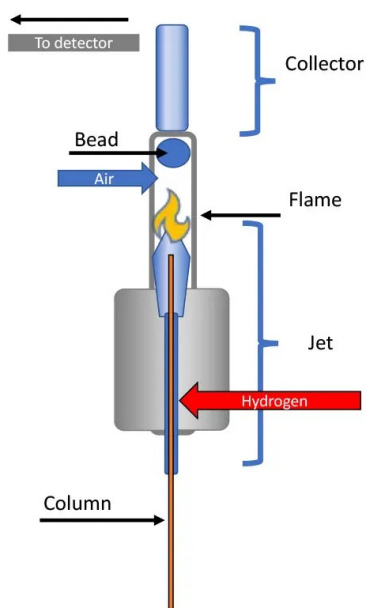
Ο ανιχνευτής φωσφόρου αζώτου (NPD) είναι ένας άλλος τύπος ανιχνευτή που χρησιμοποιείται στην αέρια χρωματογραφία (GC) για την επιλεκτική ανίχνευση ενώσεων που περιέχουν άζωτο και φώσφορο. Είναι ιδιαίτερα χρήσιμο για την ανίχνευση ενώσεων όπως οργανοφωσφορικά φυτοφάρμακα, ζιζανιοκτόνα που περιέχουν άζωτο και άλλους περιβαλλοντικούς ρύπους που περιέχουν άζωτο και φώσφορο (Skoog et al., 2007).

- Αρχή της μεθόδου: Ο NPD λειτουργεί με βάση την αρχή της ανίχνευσης θερμικής αγωγιμότητας. Όταν οι ενώσεις που περιέχουν άζωτο ή φώσφορο εκκλύονται από τη στήλη GC και εισέρχονται στον ανιχνευτή, υφίστανται πυρόλυση (θερμική αποσύνθεση) σε φλόγα πλούσια σε υδρογόνο. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα το σχηματισμό χημικά ενεργών ειδών, όπως τα άτομα αζώτου ή φωσφόρου, τα οποία έχουν διαφορετική θερμική αγωγιμότητα σε σύγκριση με το φέρον αέριο (συνήθως ήλιο). Η μεταβολή της θερμικής αγωγιμότητας λόγω της παρουσίας αυτών των ατόμων ανιχνεύεται και μετράται.
- Δομή: Ο NPD αποτελείται συνήθως από μια πλούσια σε υδρογόνο φλόγα (υδρογόνο και αέρας ή οξυγόνο) που διατηρείται μέσα σε ένα μεταλλικό ή κεραμικό πίδακα. Το δείγμα που εκλύεται από τη στήλη GC αναμιγνύεται με υδρογόνο και καίγεται στη φλόγα. Τα προϊόντα που προκύπτουν, συμπεριλαμβανομένων των χημικά ενεργών ειδών αζώτου και φωσφόρου, μεταβάλλουν τη θερμική αγωγιμότητα της φλόγας.

- Ευαισθησία και επιλεκτικότητα: Το NPD είναι εξαιρετικά εκλεκτικό για ενώσεις που περιέχουν άζωτο και φώσφορο, καθιστώντας το χρήσιμο για την ανίχνευση ορισμένων κατηγοριών ενώσεων ενώ είναι σχετικά μη ευαίσθητο σε πολλές άλλες ενώσεις. Αυτή η επιλεκτικότητα προκύπτει από τη συγκεκριμένη χημεία που εμπλέκεται στο σχηματισμό θερμικά αγωγίμων ειδών από άτομα αζώτου και φωσφόρου.
- Εφαρμογές: Ο NPD χρησιμοποιείται συνήθως σε περιβαλλοντικές αναλύσεις (π.χ. ανίχνευση φυτοφαρμάκων και ζιζανιοκτόνων), εγκληματολογική ανάλυση (π.χ. ανίχνευση εκρηκτικών), φαρμακευτική ανάλυση (π.χ. ταυτοποίηση φαρμακευτικών ενώσεων) και πετροχημική ανάλυση (π.χ. προσδιορισμός αζώτου - και ενώσεις που περιέχουν φώσφορο σε προϊόντα πετρελαίου).
- Πλεονεκτήματα: Υψηλή ευαισθησία και επιλεκτικότητα για ενώσεις που περιέχουν άζωτο και φώσφορο, συμβατότητα με συστήματα GC και σχετικά απλή λειτουργία.

Περιορισμοί: Περιορισμένη δυνατότητα εφαρμογής σε ενώσεις χωρίς άζωτο ή φώσφορο, ευαισθησία σε παρεμβολές από ορισμένες ενώσεις συν-έκλυσης και ανάγκη για προσεκτική βελτιστοποίηση των συνθηκών λειτουργίας.

- Σύγκριση με άλλους ανιχνευτές: Ο NPD συγκρίνεται συχνά με άλλους ανιχνευτές όπως ο ανιχνευτής σύλληψης ηλεκτρονίων (ECD) και ο ανιχνευτής ιονισμού φλόγας (FID). Ενώ ο NPD προσφέρει επιλεκτικότητα για ενώσεις που περιέχουν άζωτο και φώσφορο, ο ECD είναι επιλεκτικός για ενώσεις που μπορούν να συλλάβουν ηλεκτρόνια και ο FID είναι πιο καθολικός αλλά λιγότερο επιλεκτικός.



Σχήμα 14: Διάγραμμα ανιχνευτή αζώτου φωσφόρου (Barry et al., 2004)

4.1.3 Φωτομετρικός Ανιχνευτής Φλόγας (FPD)

Ο Φωτομετρικός Ανιχνευτής Φλόγας (FPD) είναι ένας επιλεκτικός και ευαίσθητος ανιχνευτής που χρησιμοποιείται στην αέρια χρωματογραφία (GC) για την ανάλυση ενώσεων που περιέχουν θείο και φώσφορο. Είναι ιδιαίτερα χρήσιμο σε περιβαλλοντικές, πετροχημικές και φαρμακευτικές αναλύσεις όπου η ανίχνευση ενώσεων θείου και φωσφόρου είναι απαραίτητη (Douglas Arvid Skoog, 2014).

- Αρχή μεθόδου: Ο FPD λειτουργεί με βάση την αρχή της φωτομετρίας φλόγας. Όταν οι ενώσεις που περιέχουν θείο ή φώσφορο εκκλύονται από τη στήλη GC και εισέρχονται στον ανιχνευτή, καίγονται σε φλόγα πλούσια σε υδρογόνο (συνήθως με μείγμα υδρογόνου και αέρα ή οξυγόνου). Στη φλόγα, τα άτομα θείου ή φωσφόρου διεγείρονται σε υψηλότερα επίπεδα ενέργειας από τη θερμότητα της φλόγας. Καθώς αυτά τα άτομα επιστρέφουν στη βασική τους κατάσταση, εκπέμπουν χαρακτηριστικά μήκη κύματος φωτός, τα οποία είναι ειδικά για το θείο ή τον φώσφορο.
- Δομή: Το FPD αποτελείται συνήθως από μια κεφαλή καυστήρα όπου το δείγμα που εκκλύεται από τη στήλη GC αναμιγνύεται με υδρογόνο και καίγεται σε φλόγα. Το εκπεμπόμενο φως στη συνέχεια διέρχεται μέσω ενός μονοχρωματικού

φίλτρου ή παρεμβολών που επιλέγει τα συγκεκριμένα μήκη κύματος φωτός που αντιστοιχούν σε θείο ή φώσφορο. Η ένταση του φωτός μετριέται από ένα σωλήνα φωτοπολλαπλασιαστή και το σήμα ενισχύεται και καταγράφεται.

- Ευαισθησία και επιλεκτικότητα: Ο FPD είναι εξαιρετικά επιλεκτικός για ενώσεις θείου και φωσφόρου λόγω των ειδικών μηκών κύματος του φωτός που εκπέμπεται κατά την καύση. Αυτή η επιλεκτική ανίχνευση επιτρέπει τον ευαίσθητο ποσοτικό προσδιορισμό των ενώσεων θείου και φωσφόρου ακόμη και σε πολύπλοκα μείγματα. Ο FPD μπορεί να ανιχνεύσει αυτές τις ενώσεις σε χαμηλά επίπεδα, συνήθως στην περιοχή μερών ανά δισεκατομμύριο (ppb) έως μέρη ανά εκατομμύριο (ppm).
- Εφαρμογές: Το FPD βρίσκει εκτεταμένες εφαρμογές στην περιβαλλοντική ανάλυση (π.χ. ανίχνευση ενώσεων θείου σε δείγματα αέρα, νερού και εδάφους), πετροχημικές αναλύσεις (π.χ. προσδιορισμός ενώσεων θείου σε προϊόντα πετρελαίου), φαρμακευτικές αναλύσεις (π.χ. ταυτοποίηση θείου που περιέχουν φαρμακευτικές ενώσεις) και παρακολούθηση της βιομηχανικής διαδικασίας.
- Πλεονεκτήματα: Υψηλή ευαισθησία και επιλεκτικότητα για ενώσεις θείου και φωσφόρου, μεγάλο γραμμικό δυναμικό εύρος, συμβατότητα με συστήματα GC και σχετικά απλή λειτουργία. Περιορισμοί: Περιορισμένη δυνατότητα εφαρμογής σε ενώσεις χωρίς θείο ή φώσφορο, ευαισθησία σε παρεμβολές από ορισμένες ενώσεις συν-έκλυσης και ανάγκη για προσεκτική βελτιστοποίηση των συνθηκών λειτουργίας.

4.1.4 Ανιχνευτής φασματομετρίας μαζών (MS)

Το φασματόμετρο μάζας είναι ένα εξελιγμένο αναλυτικό όργανο που χρησιμοποιείται για την αναγνώριση και ποσοτικοποίηση της χημικής σύνθεσης ενός δείγματος με βάση την αναλογία μάζας προς φορτίο των ιόντων του. Τα φασματόμετρα μάζας χρησιμοποιούνται ευρέως σε διάφορους τομείς όπως η χημεία, η βιοχημεία, η περιβαλλοντική επιστήμη, η φαρμακολογία και η εγκληματολογία. Προσφέρουν υψηλή ευαισθησία, ειδικότητα και ευελιξία, καθιστώντας τα απαραίτητα εργαλεία σε σύγχρονα αναλυτικά εργαστήρια. Ακολουθεί μια ανάλυση των στοιχείων του και πώς λειτουργεί:

1. Πηγή ιονισμού: Το δείγμα ιονίζεται πρώτα στην πηγή ιονισμού.
Χρησιμοποιούνται διάφορες τεχνικές ιονισμού ανάλογα με τη φύση του δείγματος και τις απαιτούμενες πληροφορίες. Οι κοινές μέθοδοι ιονισμού περιλαμβάνουν τον ιονισμό ηλεκτρονίων (EI), τον ιονισμό με ηλεκτροψεκασμό (ESI) και την εκρόφηση/ιονισμό με λέιζερ υποβοηθούμενο από υπόστρωμα (MALDI).
2. Αναλυτής μάζας: Τα ιόντα που παράγονται στην πηγή ιονισμού διαχωρίζονται στη συνέχεια με βάση την αναλογία μάζας προς φορτίο (m/z) στον αναλυτή μάζας. Οι διαφορετικοί τύποι αναλυτών μάζας περιλαμβάνουν:
 - Χρόνου πτήσης (Time-of-Flight) (TOF): Τα ιόντα επιταχύνονται μέσω ενός ηλεκτρικού πεδίου και διαχωρίζονται με βάση τους χρόνους πτήσης τους.
 - Τετράπολος: Τα ιόντα φιλτράρονται με βάση τη σταθερότητά τους ενώ περνούν μέσα από ένα σύνολο ηλεκτρικών πεδίων.
 - Παγίδα ιόντων: Τα ιόντα παγιδεύονται και στη συνέχεια εκτινάσσονται επιλεκτικά με βάση τους λόγους m/z τους.
 - Τροχιά: Τα ιόντα παγιδεύονται και ταλαντώνονται σε ένα ηλεκτροστατικό πεδίο, με τις συχνότητές τους να καθορίζονται από τους λόγους m/z τους.
3. Ανιχνευτής: Μόλις διαχωριστούν, τα ιόντα ανιχνεύονται από έναν ανιχνευτή, ο οποίος μετρά την αφθονία τους και δημιουργεί ένα φάσμα μάζας. Οι κοινοί ανιχνευτές περιλαμβάνουν πολλαπλασιαστές ηλεκτρονίων, κύπελλα Faraday και πλάκες μικροκαναλιού.
4. Ανάλυση δεδομένων: Το φάσμα μάζας που λαμβάνεται από τον ανιχνευτή παρέχει πληροφορίες σχετικά με την αναλογία μάζας προς φορτίο και την αφθονία των ιόντων που υπάρχουν στο δείγμα. Αναλύοντας αυτό το φάσμα, ο ερευνητής μπορεί να αναγνωρίσει τις ενώσεις που υπάρχουν στο δείγμα και να προσδιορίσει τις σχετικές συγκεντρώσεις τους (Garg & Zubair, 2023).

Η Αέρια Χρωματογραφία-Φασματομετρία Μάζας (GC-MS) αποτελεί βασική τεχνική στη σφαίρα της αναλυτικής χημείας, προσφέροντας απaráμιλλες δυνατότητες στον προσδιορισμό, τον ποσοτικό προσδιορισμό και τον χαρακτηρισμό πολύπλοκων μιγμάτων. Το GC-MS συνδυάζει τις δυνατότητες διαχωρισμού της αέριας

χρωματογραφίας (GC) με την ικανότητα ανίχνευσης και αναγνώρισης της φασματομετρίας μάζας (MS). Αυτή η συνέργεια επιτρέπει την ολοκληρωμένη ανάλυση πτητικών και ημι-πτητικών ενώσεων που υπάρχουν σε ένα ευρύ φάσμα μητρών δειγμάτων. Η χρήση των οργάνων GC/MS είναι εκτεταμένη λόγω της ικανότητάς τους να αναγνωρίζουν πολυάριθμα συστατικά μέσα σε διάφορα μίγματα. Παίζουν καθοριστικό ρόλο στον εντοπισμό των ρύπων στο νερό και είναι επίσης ικανά για τον προσδιορισμό και την αναγνώριση φυτοφαρμάκων, ιδιαίτερα εκείνων που ανήκουν στην ομάδα των οργανοχλωριωμένων φυτοφαρμάκων (Emwas et al., 2015).

Η χρωματογραφία GC/MS συνδυάζεται και με περισσότερα φασματόμετρα μαζών, σε σειρά, το οποίο δημιουργεί τα λεγόμενα συστήματα GC/MS/MS. Στο GC-MS/MS, το δείγμα διαχωρίζεται πρώτα με την GC, με κάθε συστατικό να εκλούεται από τη χρωματογραφική στήλη σε διαφορετικούς χρόνους κατακράτησης. Οι διαχωρισμένες ενώσεις στη συνέχεια εισάγονται στο φασματόμετρο μάζας, όπου υποβάλλονται σε ανάλυση φασματομετρίας μάζας σε σειρά. Στο πρώτο στάδιο, τα πρόδρομα ιόντα που ενδιαφέρουν επιλέγονται με βάση την αναλογία μάζας προς φορτίο (m/z) και κατακερματίζονται σε μικρότερα ιόντα προϊόντος. Αυτά τα ιόντα προϊόντος υποβάλλονται στη συνέχεια σε περαιτέρω ανάλυση μάζας στον δεύτερο αναλυτή, επιτρέποντας τη λήψη πρόσθετων δομικών πληροφοριών. Η χρήση πολλαπλών σταδίων ανάλυσης μάζας ενισχύει την ειδικότητα, την ευαισθησία και την εκλεκτικότητα της ανάλυσης. Το GC-MS/MS είναι ιδιαίτερα χρήσιμο για την ανάλυση σύνθετων δειγμάτων που περιέχουν ενώσεις με παρόμοια φάσματα μάζας, όπου το απλό GC-MS μπορεί να δυσκολεύεται να διαφοροποιήσει μεταξύ στενά συγγενών ενώσεων (W M A Niessen & Correa, 2017), (Douglas Arvid Skoog, 2014).

4.2 Υγρή Χρωματογραφία (Liquid Chromatography)

Η πρώτη γνωστή χρωματογραφία αποδίδεται παραδοσιακά στον Ρώσο βοτανολόγο Mikhail Tswett, ο οποίος χρησιμοποίησε στήλες ανθρακικού ασβεστίου για να διαχωρίσει φυτικές ενώσεις κατά την έρευνά του για τη χλωροφύλλη. Αυτό συνέβη τον 20ο αιώνα (1901). Περαιτέρω ανάπτυξη της χρωματογραφίας σημειώθηκε, όταν το βραβείο Νόμπελ απονεμήθηκε στους Archer John Porter Martin και Richard Laurence

Millington Synge το 1952. Κατάφεραν να καθιερώσουν τις βασικές αρχές της χρωματογραφίας και επίσης να αναπτύξουν τη θεωρία των πλακών.

Η υγρή χρωματογραφία είναι μια τεχνική που χρησιμοποιείται για τον διαχωρισμό ενός δείγματος στα επιμέρους μέρη του. Αυτός ο διαχωρισμός συμβαίνει με βάση τις αλληλεπιδράσεις του δείγματος με την κινητή και τη στατική φάση. Επειδή υπάρχουν πολλοί συνδυασμοί σταθερών/κινητών φάσεων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν κατά τον διαχωρισμό ενός μείγματος, υπάρχουν αρκετοί διαφορετικοί τύποι χρωματογραφίας που ταξινομούνται με βάση τις φυσικές καταστάσεις αυτών των φάσεων. Η χρωματογραφία στήλης υγρού-στερεού, η πιο δημοφιλής τεχνική χρωματογραφίας και αυτή που συζητείται εδώ, διαθέτει μια υγρή κινητή φάση που διέρχεται αργά προς τα κάτω μέσω της στερεάς στατικής φάσης, φέρνοντας μαζί της τα διαχωρισμένα συστατικά. Τα συστατικά μέσα σε ένα μείγμα διαχωρίζονται σε μια στήλη με βάση τη συγγένεια κάθε συστατικού για την κινητή φάση. Έτσι, εάν τα συστατικά είναι διαφορετικής πολικότητας και μια κινητή φάση διακριτής πολικότητας διέρχεται από τη στήλη, το ένα στοιχείο θα μεταναστεύσει μέσω της στήλης πιο γρήγορα από το άλλο. Επειδή τα μόρια της ίδιας ένωσης θα κινούνται γενικά σε ομάδες, οι ενώσεις διαχωρίζονται σε διακριτές ζώνες εντός της στήλης. Εάν τα συστατικά που διαχωρίζονται είναι χρωματιστά, μπορούν να φανούν οι αντίστοιχες ζώνες τους. Διαφορετικά, όπως στην υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC), η παρουσία των ζωνών ανιχνεύεται χρησιμοποιώντας άλλες τεχνικές ενόργανης ανάλυσης όπως η φασματοσκοπία UV-Vis (Skoog et al., 2007).

Η αναλυτική τεχνική διαχωρισμού που είναι πιο διαδεδομένη είναι η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC), εμφανίζει υψηλή ευαισθησία, είναι κατάλληλη για να διαχωρίζει μη πτητικές και ευαίσθητες ουσίες και προσαρμόζεται εύκολα σε ακριβείς ποσοτικούς προσδιορισμούς. Έχει τη δυνατότητα να προσδιορίσει πλήθος ουσιών όπως αμινοξέα, πρωτεΐνες, υδατάνθρακες, φυτοφάρμακα, αντιβιοτικά, στεροειδή, αλλά και πολλές ανόργανες ουσίες. Η HPLC αναπτύχθηκε ως μέθοδος για την επίλυση ορισμένων από τις αδυναμίες της τυπικής υγρής χρωματογραφίας. Η κλασική υγρή χρωματογραφία έχει αρκετούς σοβαρούς περιορισμούς ως μέθοδος διαχωρισμού. Όταν ο διαλύτης οδηγείται από τη βαρύτητα, ο διαχωρισμός είναι πολύ αργός, και εάν ο

διαλύτης οδηγείται από το κενό, σε μια τυπική στήλη, το ύψος της πλάκας αυξάνεται και η επίδραση του κενού αναιρείται. Ο περιοριστικός παράγοντας στην υγρή χρωματογραφία ήταν αρχικά το μέγεθος της στήλης, αφού οι στήλες μπορούσαν να γεμίσουν με σωματίδια τόσο μικρά όσο 3 μm, μπορούσαν να γίνουν ταχύτεροι διαχωρισμοί σε μικρότερες, στενότερες, στήλες. Απαιτήθηκε υψηλή πίεση για να εξαναγκαστεί η κινητή φάση και το δείγμα μέσα από αυτές τις νέες στήλες και απαιτούνταν προηγούμενως περιττές συσκευές για να διατηρηθεί η αναπαραγωγιμότητα των αποτελεσμάτων σε αυτά τα νέα όργανα. Η χρήση υψηλών πιέσεων σε μια στενή στήλη επέτρεψε την επίτευξη αποτελεσματικότερου διαχωρισμού σε πολύ λιγότερο χρόνο από ό,τι απαιτούνταν για προηγούμενες μορφές υγρής χρωματογραφίας. Απαιτείται εξειδικευμένη συσκευή για την HPLC λόγω των υψηλών πιέσεων και των χαμηλών ανοχών κάτω από τις οποίες πραγματοποιείται ο διαχωρισμός. Εάν τα αποτελέσματα πρόκειται να είναι αναπαραγώγιμα, τότε οι συνθήκες του διαχωρισμού πρέπει επίσης να είναι αναπαραγώγιμες. Επομένως, ο εξοπλισμός HPLC πρέπει να είναι υψηλής ποιότητας και επομένως ακριβός (Skoog et al., 2007).

4.2.1 Διαλύτης

Η κινητή φάση, ή διαλύτης, στην HPLC είναι συνήθως ένα μείγμα πολικών και μη πολικών υγρών συστατικών των οποίων οι αντίστοιχες συγκεντρώσεις ποικίλλουν ανάλογα με τη σύνθεση του δείγματος. Καθώς ο διαλύτης διέρχεται μέσω μιας στήλης πολύ στενής οπής, τυχόν μολυντές θα μπορούσαν στη χειρότερη περίπτωση να βουλώσουν τη στήλη ή τουλάχιστον να προσθέσουν μεταβλητότητα στους χρόνους κατακράτησης κατά τη διάρκεια επαναλαμβανόμενων διαφορετικών δοκιμών. Επομένως, ο διαλύτης HPLC πρέπει να διατηρείται απαλλαγμένος από διαλυμένα αέρια, και σωματίδια (Skoog et al., 2007).

4.2.2 Στήλη

Στη στήλη HPLC, τα συστατικά του δείγματος διαχωρίζονται με βάση τις διαφορετικές αλληλεπιδράσεις τους με τη στατική φάση της στήλης. Οι στήλες που χρησιμοποιούνται στην υγρή χρωματογραφία έχουν ποικίλα μεγέθη που κυμαίνονται από 5 έως 25 εκατοστά. Εάν ένα είδος αλληλεπιδρά πιο έντονα με τη στατική φάση στη στήλη, θα αφιερώσει περισσότερο χρόνο προσροφημένο στο προσροφητικό υλικό της στήλης και

επομένως θα έχει μεγαλύτερο χρόνο συγκράτησης. Οι στήλες μπορούν να γεμιστούν με στερεά όπως πυρίτιο ή αλουμίνα. αυτές οι στήλες ονομάζονται ομοιογενείς στήλες. Εάν η στατική φάση στη στήλη είναι υγρή, η στήλη θεωρείται συνδεδεμένη στήλη (Skoog et al., 2007).

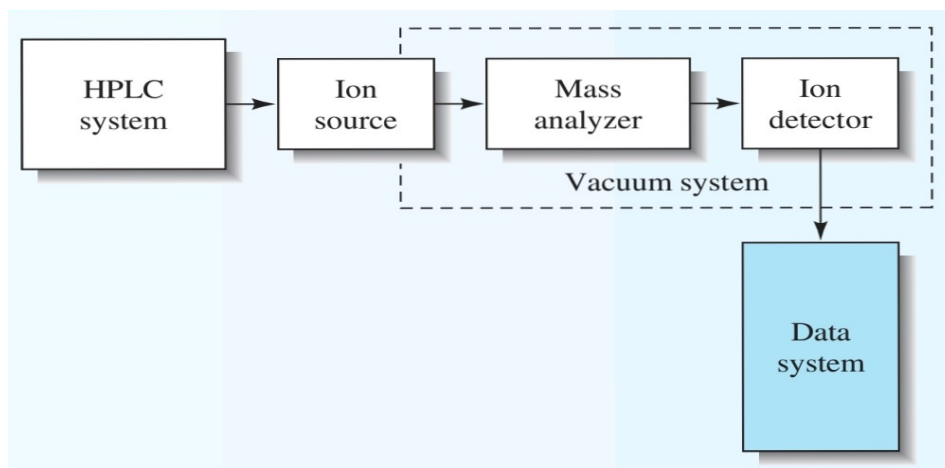
4.2.3 Αντλία

Η αντλία οδηγεί τον διαλύτη και το δείγμα μέσα από τη στήλη. Για να μειωθεί η διακύμανση στην έκλουση, η αντλία πρέπει να διατηρεί σταθερή ροή, χωρίς μεταβολές. Αυτό επιτυγχάνεται με αντλίες πολλαπλών εμβόλων. Η παρουσία δύο εμβόλων επιτρέπει τον έλεγχο του ρυθμού ροής από το ένα έμβολο, καθώς το άλλο επαναοπλίζει. Μια αντλία σύριγγας μπορεί να χρησιμοποιηθεί για ακόμη μεγαλύτερο έλεγχο του ρυθμού ροής. Ωστόσο, η αντλία σύριγγας δεν μπορεί να παράγει τόση πίεση όσο μια αντλία εμβόλου, επομένως δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε όλες τις εφαρμογές HPLC (Skoog et al., 2007).

4.2.4 Ανιχνευτής

Ο ανιχνευτής HPLC, που βρίσκεται στο τέλος της στήλης, πρέπει να καταγράφει την παρουσία διαφόρων συστατικών του δείγματος, αλλά δεν πρέπει να ανιχνεύει τον διαλύτη. Για το λόγο αυτό δεν υπάρχει καθολικός ανιχνευτής που να λειτουργεί για όλους τους διαχωρισμούς. Ένας κοινός ανιχνευτής HPLC είναι ένας ανιχνευτής απορρόφησης UV, καθώς τα περισσότερα μεσαία έως μεγάλα μόρια απορροφούν την υπεριώδη ακτινοβολία. Ανιχνευτές που μετρούν τον φθορισμό και τον δείκτη διάθλασης χρησιμοποιούνται επίσης για ειδικές εφαρμογές. Μια σχετικά νέα εξέλιξη είναι ο συνδυασμός διαχωρισμού HPLC με ανιχνευτή NMR. Αυτό επιτρέπει στα καθαρά συστατικά του δείγματος να αναγνωρίζονται και να ποσοτικοποιούνται με πυρηνικό μαγνητικό συντονισμό αφού έχουν διαχωριστεί με HPLC, σε μία ολοκληρωμένη διαδικασία. Επίσης, μια ισχυρή αναλυτική τεχνική που χρησιμοποιείται στη χημεία και τη βιοχημεία για τον διαχωρισμό, την αναγνώριση και την ποσοτικοποίηση των συστατικών σε ένα μείγμα είναι το σύστημα υγρής χρωματογραφίας με ανιχνευτή φασματομετρίας μαζών LC-MS. Στο LC-MS, ένα δείγμα διαχωρίζεται πρώτα χρησιμοποιώντας υγρή χρωματογραφία, όπου διέρχεται από μια στατική φάση ενώ μεταφέρεται από έναν υγρό διαλύτη (την κινητή φάση). Τα συστατικά του δείγματος αλληλεπιδρούν διαφορετικά με τη στατική φάση, προκαλώντας τον διαχωρισμό τους με

βάση τις χημικές τους ιδιότητες. Μετά τον διαχωρισμό, τα συστατικά εισάγονται σε ένα φασματόμετρο μάζας όπου ιονίζονται και στη συνέχεια ταξινομούνται με βάση την αναλογία μάζας προς φορτίο (m/z). Τα δεδομένα που προκύπτουν παρέχουν πληροφορίες σχετικά με το μοριακό βάρος και τη δομή των συστατικών στο δείγμα. Για να γίνει η σύζευξη όμως αυτού του συστήματος, πρέπει να ξεπεραστεί ένα πρόβλημα, το πρόβλημα αυτό είναι το γεγονός πως το φασματόμετρο μαζών απαιτεί αέριο δείγμα, ενώ η διαχωρισμένη ουσία που εξέρχεται από την υγρή χρωματογραφία βρίσκεται σε υγρή μορφή, διαλυμένη στον διαλύτη. Για να ξεπεραστεί αυτός ο περιορισμός και να γίνει εισαγωγή του δείγματος στο φασματόμετρο μαζών πρέπει με κάποιο τρόπο να απομακρυνθεί ο διαλύτης. Για να γίνει αυτό, κυρίως χρησιμοποιείται η τεχνική ιοντισμού σε χαμηλή ροή υπό ατμοσφαιρική πίεση. Ένα συνοπτικό διάγραμμα τυπικού συστήματος LC-MS εμφανίζεται παρακάτω στο σχήμα 13. Γίνεται εισαγωγή του εκλούσματος της στήλης LC υπό ατμοσφαιρική πίεση σε μια πηγή ιοντισμού, όπως ηλεκτροψεκασμού ή χημικού ιοντισμού. Τα ιόντα που παράγονται ξεχωρίζουν μεταξύ τους με έναν αναλυτή μαζών και ανιχνεύονται με ανιχνευτή ιόντων.



Σχήμα 15: Διαγραμμα συστήματος LC-MS (Skoog et al., 2013)

4.2.5 Κανονική φάση/αντίστροφη φάση

Εάν η στατική φάση είναι πιο πολική από την κινητή φάση, ο διαχωρισμός θεωρείται κανονική φάση. Εάν η στατική φάση είναι λιγότερο πολική από την κινητή φάση, ο διαχωρισμός θεωρείται αντίστροφη φάση. Σε HPLC αντίστροφης φάσης ο χρόνος κατακράτησης μιας ένωσης αυξάνεται με τη μείωση της πολικότητας του συγκεκριμένου είδους. Το “κλειδί” για έναν αποτελεσματικό και αποδοτικό διαχωρισμό είναι ο προσδιορισμός της κατάλληλης αναλογίας μεταξύ πολικών και μη πολικών στοιχείων στην κινητή φάση. Ο στόχος είναι όλες οι ενώσεις να εκκλούνται σε όσο το δυνατόν συντομότερο χρόνο, επιτρέποντας ταυτόχρονα την ανάλυση μεμονωμένων κορυφών. Οι τυπικές στήλες για τον κανονικό διαχωρισμό φάσεων είναι γεμάτες με αλουμίνα ή πυρίτιο. Οι φάσεις αλκυλίου, αλειφατικού ή φαινυλικού δεσμού χρησιμοποιούνται τυπικά για διαχωρισμό ανάστροφης φάσης (Skoog et al., 2007).

4.2.6 Βαθμιωτή έκλυση / Ισοκρατική έκλυση

Εάν η σύνθεση της κινητής φάσης παραμένει σταθερή καθ' όλη τη διάρκεια του διαχωρισμού, ο διαχωρισμός θεωρείται ισοκρατική έκλυση. Συχνά ο μόνος τρόπος για να γίνει έκλυση όλων των ενώσεων του δείγματος σε εύλογο χρονικό διάστημα, ενώ εξακολουθεί να διατηρείται η ανάλυση κορυφής, είναι η αλλαγή της αναλογίας πολικών προς μη πολικών ενώσεων στην κινητή φάση κατά τη διάρκεια της δοκιμής του δείγματος. Γνωστή ως χρωματογραφία βαθμίδωσης, αυτή είναι η τεχνική επιλογής όταν ένα δείγμα περιέχει συστατικά μεγάλου εύρους πολικότητας. Για μια βαθμιδωτή έκλυση αντίστροφης φάσης, ο διαλύτης ξεκινά σχετικά πολικός και αργά γίνεται πιο μη πολικός. Η βαθμιδωτή έκλυση προσφέρει τον πληρέστερο διαχωρισμό των κορυφών, χωρίς να χρειάζεται υπερβολικό χρονικό διάστημα. Ένα δείγμα που περιέχει ενώσεις μεγάλου εύρους πολικότητας μπορεί να διαχωριστεί με βαθμιδωτή έκλυση σε συντομότερη χρονική περίοδο χωρίς απώλεια ανάλυσης στις προηγούμενες κορυφές ή υπερβολική διεύρυνση των μεταγενέστερων κορυφών. Ωστόσο, η βαθμιδωτή έκλυση απαιτεί πιο περίπλοκο και ακριβό εξοπλισμό και είναι πιο δύσκολο να διατηρηθεί ένας σταθερός ρυθμός ροής ενώ υπάρχουν συνεχείς αλλαγές στη σύνθεση της κινητής φάσης. Η βαθμιδωτή έκλυση, ειδικά σε υψηλές ταχύτητες, αναδεικνύει τους περιορισμούς των πειραματικών συσκευών χαμηλότερης ποιότητας, καθιστώντας τα αποτελέσματα που λαμβάνονται λιγότερο αναπαραγώγιμα σε εξοπλισμό που είναι ήδη

επιρρεπής σε παραλλαγές. Εάν ο ρυθμός ροής ή η σύνθεση της κινητής φάσης παρουσιάζει διακυμάνσεις, τα αποτελέσματα δεν θα μπορούν να αναπαραχθούν (Skoog et al., 2007).

5 Εφαρμογές των μεθόδων σε έρευνες για τον προσδιορισμό OCPs και PAHs στα φυτικά έλαια

Σε αυτό το κεφάλαιο θα παρατεθούν έρευνες από τη βιβλιογραφία, στις οποίες έχει γίνει εφαρμογή των μεθόδων που παρουσιάστηκαν παραπάνω για την προσδιορισμό και την ποσοτικοποίηση οργανοχλωριωμένων φυτοφαρμάκων και των πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων στα βρώσιμα φυτικά έλαια.

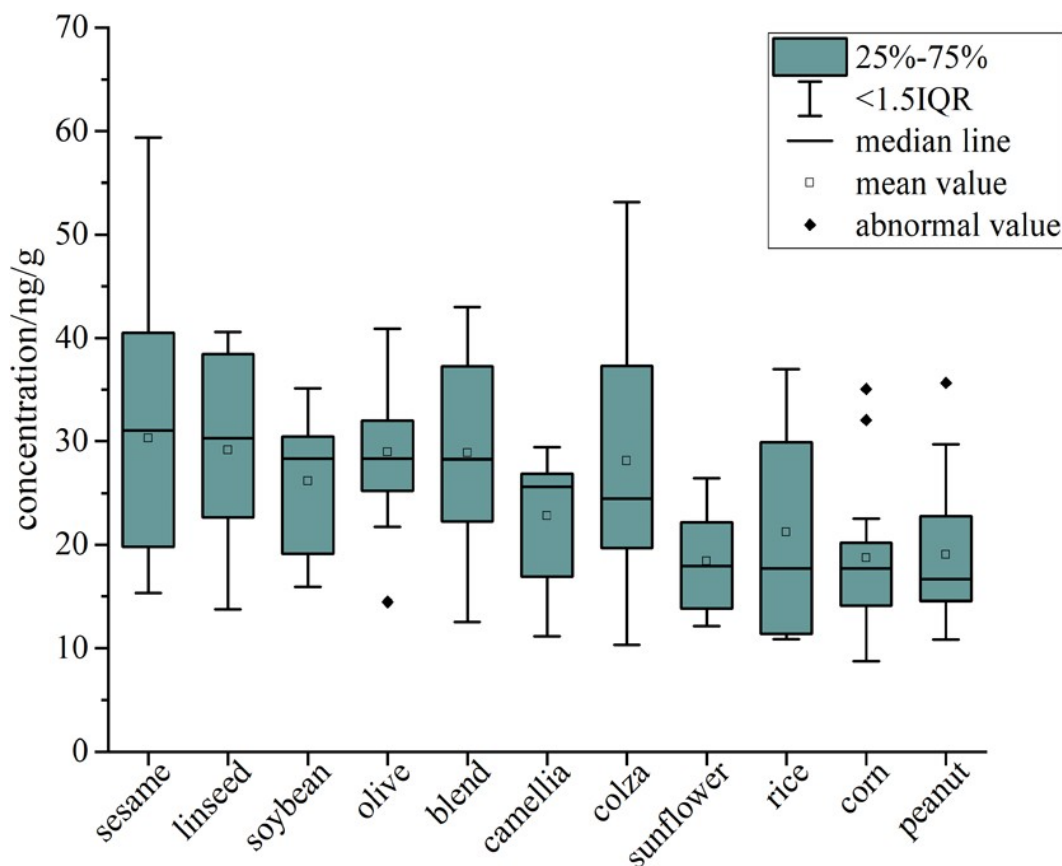
5.1 OCPs σε 11 τύπους φυτικών ελαίων των Cui et al., 2020

Αυτή η μελέτη αξιολογεί τα προφίλ κατανομής και συγγενών στοιχείων των υπολειμματικών OCP σε 11 τύπους φυτικών ελαίων που συλλέγονται από τις κινεζικές αγορές. Λόγω της λιποφιλικότητας και της χημικής τους σταθερότητας, αποσυντίθενται αργά στο περιβάλλον, με αποτέλεσμα οι οργανισμοί υψηλότερου τροφικού επιπέδου να εκτίθενται σε υψηλά επίπεδα OCPs, αποτελώντας έτσι κίνδυνο για την υγεία των ανθρώπων και άλλων ζώων. Πολλά OCP διαταράσσουν το ενδοκρινικό σύστημα, είναι μεταλλαξιγόνα ή καρκινογόνα, προκαλώντας θάνατο και χρόνιες ασθένειες, όπως νεοπλασίες, αλλά είναι επίσης γνωστές και άλλες ασθένειες του ήπατος, του νευρικού συστήματος. Παρά την απαγόρευση για πολλά χρόνια, αυτές οι ενώσεις χλωριωμένων υδρογονανθράκων εξακολουθούν να υπάρχουν στο περιβάλλον σε υψηλές συγκεντρώσεις, όπως έδειξε η μελέτη των Tian et al. 2016, όπου βρέθηκαν σε δείγματα βρώσιμων ελαίων 14 έως 80 οργανικοί ρύποι με τις συνολικές συγκεντρώσεις τους να κυμαίνονται από 1,44 έως 54,77 mg/kg, που αναφέρθηκε και στο θεωρητικό μέρος της εργασίας στη σελίδα 28.

Όλα τα φυτικά έλαια (124 δείγματα) συλλέχθηκαν τον Νοέμβριο του 2018. Μερικά από αυτά συλλέχθηκαν από σούπερ μάρκετ, καταστήματα και αγροτικές αγορές που είναι όλες περιοχές στο Πεκίνο, το Hebei, την Εσωτερική Μογγολία και το Shandong της Κίνας. Τα άλλα συλλέχθηκαν από πολλές μεγάλες πλατφόρμες ηλεκτρονικού εμπορίου στην Κίνα. Τα δείγματα καλύπτουν βασικά τις ποικιλίες και τις κύριες μάρκες κατανάλωσης κινεζικών οικιακών φυτικών ελαίων και καλύπτουν επίσης μεγάλους, μεσαίους και μικρούς κανονικούς κατασκευαστές με διαφορετικές κλίμακες και διαφορετικές τεχνολογίες επεξεργασίας. Επομένως, τα δείγματα είναι αντιπροσωπευτικά. Όλα τα δείγματα χωρίζονται ως εξής: σησαμέλαιο (n = 19), ελαιόλαδο (n = 17), αραβοσιτέλαιο

(n = 13), έλαιο colza (n = 13), λάδι καμέλιας (n = 9), φυσικέλαιο (n = 20), σογιέλαιο (n = 7), λινέλαιο (n = 5), λάδι ανάμειξης (n = 8), ηλιέλαιο (n = 6) και ρυζέλαιο (n = 7). Τα ελαιόλαδα παράγονταν στην Ισπανία και την Ελλάδα, αλλά τέσσερα από αυτά, που ελήφθησαν με έκθλιψη, υποσουσκευάστηκαν στο Tianjin και στο Shandong της Κίνας, ενώ τα άλλα είδη βρώσιμων φυτικών ελαίων παράγονταν στην Κίνα (Cui et al., 2020).

Στη μελέτη αυτή, όλα τα δείγματα εκχυλίστηκαν χρησιμοποιώντας την τροποποιημένη μέθοδο QuEChERS πριν από την ανάλυση με αέρια χρωματογραφία - φασματομετρία μάζας τριπλού τετραπόλου. Η έρευνα αυτή έδειξε πως τα δείγματα σησαμέλαιου είχαν την υψηλότερη συγκέντρωση OCPs, με εύρος 15,30– 59,38 ng/g, ενώ τα δείγματα φυσικέλαιου είχαν τις χαμηλότερες συγκεντρώσεις OCP, εντός της περιοχής 10,83–35,65 ng/g. Αξιολογήθηκε επίσης η πιθανή επίδραση της τεχνολογίας επεξεργασίας στα υπολείμματα φυτοφαρμάκων σε αυτά τα φυτικά έλαια. Δύο κοινές τεχνικές που χρησιμοποιούνται για την εξαγωγή ελαίου από σπόρους είναι η μηχανική συμπίεση και η εκχύλιση με διαλύτη. Η μηχανική συμπίεση μπορεί να πραγματοποιηθεί με δύο στρατηγικές, δηλαδή, ψυχρή και θερμή έκθλιψη. Ωστόσο, η υδατική εκχύλιση είναι μια παραδοσιακή διαδικασία παραγωγής κινέζικου βρώσιμου λαδιού. Διαπιστώθηκε ότι η μέθοδος συμπίεσης αφήνει περισσότερα OCPs σε φυτικά έλαια από ότι η υδατική εκχύλιση και η ψυχρή έκθλιψη. Σύμφωνα λοιπόν με τα αποτελέσματα, υπολογίστηκε ότι η μέση ημερήσια πρόσληψη διαφορετικών φυτοφαρμάκων είναι μεταξύ 0,01 και 2,20 ng/kg σωματικού βάρους/ημέρα για αστικά και αγροτικά νοικοκυριά. Ως εκ τούτου, μπορεί να επιβεβαιωθεί ότι, δεδομένης της ποσότητας της συγκέντρωσης OCP που ανιχνεύεται στα φυτικά έλαια που συλλέγονται από τις κινεζικές αγορές, δεν υπάρχουν προφανείς κίνδυνοι για την υγεία για τα αστικά και αγροτικά νοικοκυριά από την πρόσληψη.



Σχήμα 16: Συνολική συγκέντρωση φυτοφαρμάκων σε διαφορετικούς τύπους φυτικών ελαίων (Cui et al., 2020).

Τα δείγματα σησαμέλαιου έχουν την υψηλότερη διάμεση συγκέντρωση με εύρος 15,30–59,38 ng/g, ενώ οι συγκεντρώσεις στο αραβοσιτέλαιο και το φυσιτικό έλαιο είναι εντός του εύρους των 8,75–35,05 ng/g (μέση συγκέντρωση: 17,70 ng/g) και 10,83–35,65 ng/g (διάμεση συγκέντρωση: 16,67 ng/g), αντίστοιχα, τα οποία είναι σημαντικά χαμηλότερα από εκείνα στο σησαμέλαιο, το λινέλαιο, το ελαιόλαδο, το μείγμα ελαίου και το έλαιο κολζα (μέση συγκέντρωση: 31,05, 30,28, 28,30, 28,27 και 24,48 ng/g, αντίστοιχα). Ωστόσο, δεν βρέθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ ελαίου σόγιας (καμέλια, ηλίανθος και ρύζι) και καλαμποκέλαιου (φυσιτικό έλαιο) (Cui et al., 2020).

5.2 OCPs σε βούτυρο, ελαιόλαδο και αραβοσιτέλαιο

Η παρούσα έρευνα των El et al., 2017 πραγματοποιήθηκε για τον προσδιορισμό των συγκεντρώσεων οργανοχλωριωμένων φυτοφαρμάκων στο βούτυρο, το ελαιόλαδο και το αραβοσιτέλαιο. Συνολικά 125 δείγματα (75 βούτυρο, 25 το καθένα από ελαιόλαδο και

καλαμποκέλαιο) συλλέχθηκαν από το Κυβερνείο Ελ Μίνια της Αιγύπτου. Τα επίπεδα αυτών των ενώσεων προσδιορίστηκαν με αέρια χρωματογραφία με ανιχνευτή δέσμησης ηλεκτρονίων (GC-ECD). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι 30,4 (38/125), 24,8% (31/125), 21,6% (27/125), 21,6% (27/125), 16,8% (21/125), 14,4% (18/125) , 14,4%(18/125), 12,8%(16/125), 9,6%(12/125), 8,8%(11/125), 8%(10/125), 1,6%(2/125) και 0,8 % (1/125) των δειγμάτων που εξετάστηκαν ανιχνεύθηκαν με Heptachlor, Endrin, Aldrin, Dichlorodiphenyldichloroethylene(p,p'-DDE), Dichlorodiphenyldichloroethane(p,p'-DDD), Gamma hexachlorocyclohexane(Gamma HCH), Heptachlor epoxide, Dieldrin, Endosulfan, methoxychlor, Alpha hexachlorocyclohexane(Alpha HCH), Delta hexachlorocyclohexane(Delta HCH) and Gamma Chlordane. Κανένα από τα δείγματα που εξετάστηκαν δεν αποκάλυψε την παρουσία Dichlorodiphenyltrichloroethane (p,p'-DDT) και 11 δείγματα περιείχαν υπολείμματα οργανοχλωριωμένων φυτοφαρμάκων πάνω από τα ανώτατα όρια υπολειμμάτων της Ευρωπαϊκής Ένωσης. Τα πρότυπα δείγματα συγκεντρώσεων για την ανάλυση φυτοφαρμάκων: Alpha HCH, Gamma HCH, Delta HCH, Heptachlor, Heptachlor epoxide, Aldrin, γ-Chlordane, Endosulfan, Dieldrin, Endrin, p,p'-DDE, p,p'-DDD και p,p'-DDT, methoxychlor ελήφθησαν από τον Dr. Ehrenstorfer, Augsburg στη Γερμανία, με καθαρότητες μεγαλύτερες από 98,5%. Γενικά, η συχνότητα εμφάνισης οργανοχλωριωμένων φυτοφαρμάκων στα δείγματα λαδιών που συλλέχθηκαν βρέθηκε να είναι παρόν σε 25 (100%) και 24(96%) ελαιολάδου και καλαμποκέλαιου αντίστοιχα. Το ποσοστό των δειγμάτων που περιείχαν συγκεντρώσεις μεγαλύτερες των ορίων για το ελαιόλαδο ήταν 8% ακολουθούμενο από αραβοσιτέλαιο με 4% (El et al., 2017).

Η προκατεργασία των δειγμάτων έγινε ως εξής: χρησιμοποιήθηκαν 40 χιλιοστόλιτρα πετρελαϊκού αιθέρα για να διαλυθούν τρία γραμμάρια ελαίου ή βουτύρου. Αυτό χωρίστηκε σε τρία ίσα μέρη και τοποθετήθηκε σε ακετονιτρίλιο που είχε κορεσθεί με πετρελαϊκό αιθέρα (3 x 30 ml). Μετά από αραιώση με αλατούχο διάλυμα (600 ml), το κλάσμα ακετονιτρίλιου χωρίστηκε και πάλι σε πετρελαϊκό αιθέρα (3 x 100 ml). Στη συνέχεια, ξηράνθηκε πάνω από άνυδρο θειικό νάτριο και συμπυκνώθηκε σε όγκο μικρότερο από 5 ml χρησιμοποιώντας περιστροφικό εξατμιστήρα κενού στους 30°C για τον καθαρισμό του Florisil (Kodba & Vončina, 2007). Τα εκχυλισμένα δείγματα καθαρίστηκαν και το υπόλοιπο λίπος αφαιρέθηκε χύνοντας το εκχύλισμα σε μια γυάλινη

χρωματογραφική στήλη (25 mm) που καλύφθηκε με ένα στρώμα άνυδρου θειικού νατρίου 1 cm και περιελάμβανε 25 g ενεργοποιημένου Florisil. Αφού χρησιμοποιήθηκαν 100 χιλιοστόλιτρα πετρελαϊκού αιθέρα για την έκπλυση της παρασκευασμένης στήλης, το εκχυλισμένο δείγμα τοποθετήθηκε στη στήλη. Για την έκλουση της στήλης χρησιμοποιήθηκαν 300 ml ενός διαλύτη έκλουσης (20% διχλωρομεθάνιο + 80% πετρελαϊκός αιθέρας). Το συλλεγμένο έκλουσμα στη συνέχεια συμπυκνώθηκε μέχρι ξηρού σε περιστροφικό εξατμιστήρα κενού και διαλύθηκε σε 5 ml εξανίου (Salem et al., 2009).

Ένα κλάσμα από κάθε εκχύλισμα αποθηκεύτηκε σε καταψύκτη στους -20°C για εξασφάλιση πλήρους καθαρισμού και στη συνέχεια κάθε εκχύλισμα μεταφέρθηκε σε φιαλίδια έγχυσης για να είναι έτοιμο για ανάλυση με την αέρια χρωματογραφία με ανιχνευτή σύλληψης ηλεκτρονίων.

Table 3: Residues of organochlorine insecticides in the olive and corn oil samples (mg/kg)

pesticides detected	Olive oil				Corn oil			
	No.	%	MEAN.	the samples exceed MRL*	No.	%	MEAN.	the sample exceed MRL
Alpha HCH	0	0	ND	0	0	0	ND	0
Gamma HCH	0	0	ND	0	10	40	0.00026± 0.000056	0
Delta HCH	0	0	ND	0	0	0	n.d.	0
Heptachlor	8	32	0.000338± 0.00005	0	8	32	0.0002625± 0.00006	0
Heptachlor epoxide	9	36	0.000322± 0.0001011	0	1	4	0.0003± 0.0003	0
Aldrin	6	24	0.0003± 0.00007	0	0	0	ND	0
γ-Chlordane	0	0	ND	0	0	0	ND	0
Endosulfan	0	0	ND	0	0	0	ND	0
Dieldrin	0	0	ND	0	0	0	ND	0
Endrin	10	40	0.00058± 0.0002843	2	5	20	0.00094± 0.000766	1
p,p'-DDE	0	0	ND	0	15	60	0.00078± 0.000354	0
p,p'-DDD	10	40	0.00038± 0.000186	0	0	0	ND	0
p,p'-DDT	0	0	ND	0	0	0	ND	0
Methoxychlor	0	0	ND	0	0	0	ND	0

ND : not detected

Σχήμα 17: Υπολείμματα οργανοχλωριωμένων εντομοκτόνων στα δείγματα ελαιολάδου και καλαμποκέλαιου (El et al., 2017).

Table 4: Estimated daily intake (EDI) and target hazard quotient (THQ) for the mean values of organochlorine insecticide residues in the olive and corn oil samples (mg/kg b.w)

pesticides detected	Olive oil		Corn oil	
	EDI	THQ	EDI	THQ
Alpha HCH	0	a	0	a
Gamma HCH	0	0	0.000000001	0.000003392
Delta HCH	0	a	0	a
Heptachlor	0.000000005	0.000010583	0.000000001	0.000002055
Heptachlor epoxide	0.000000005	0.000387777	0.000000001	0.000090321
Aldrin	0.000000005	0.000156556	0	0
γ-Chlordane	0	0	0	0
Endosulfan	0	0	0	0
Dieldrin	0	0	0	0
Endrin	0.000000009	0.000030267	0.000000004	0.000012264
p,p'-DDE	0	a	0.000000003	a
p,p'-DDD	0.000000006	a	0	a
p,p'-DDT	0	0	0	0
Methoxychlor	0	0	0	0

Σχήμα 18: Εκτιμώμενη ημερήσια πρόσληψη (EDI) και όριο επικινδυνότητας (THQ) για τις τιμές υπολειμμάτων οργανοχλωριωμένων εντομοκτόνων στα δείγματα ελαιολάδου και αραβοσιτέλαου (mg/kg)(El et al., 2017).

Για την ποσοτική εκτίμηση κινδύνου υπολογίστηκε το Target Hazard Quotient (THQ) (ο λόγος της πιθανής έκθεσης σε μια ουσία και το επίπεδο στο οποίο δεν αναμένονται δυσμενείς επιπτώσεις). Οι αναλογίες κινδύνου αξιολογήθηκαν με αυτήν την εξίσωση $THQ = EDI / RFD$ όπου η RFD (από του στόματος δόση αναφοράς) (mg/kg-ημέρα) για κάθε οργανοχλωρίδιο (ORD, 2017). EDI (Εκτιμώμενη ημερήσια πρόσληψη) (mg/kg-ημέρα) υπολογίστηκε από αυτή την εξίσωση (Mahmoud et al., 2016). $EDI = (C \times W) / Bw$ Όπου C (mg/kg) είναι η συγκέντρωση υπολειμμάτων OCP σε μολυσμένα δείγματα, το W αντιπροσωπεύει την ημερήσια μέση κατανάλωση τροφής και το Bw αντιπροσωπεύει το σωματικό βάρος. Η μέση ημερήσια κατανάλωση ανά ενήλικα (70 kg ΣΒ) θεωρήθηκε ότι είναι 8 για το βουτυρο 1,1 για το ελαιολαδο και 0,3 g για το καλαμποκέλαιο (Food Balance Sheets, 2014). Ένας λόγος κινδύνου μεγαλύτερος από ένα υποδηλώνει ότι μπορεί να υπάρχουν πιθανοί κίνδυνοι για την ανθρώπινη υγεία (Jiang et al., 2005).

Στη μελέτη των Barrek et al., 2003 περιγράφεται η ανάπτυξη μιας μεθόδου για την ανάλυση υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων στο ελαιόλαδο με GC-MS και HPLC-MS, χωρίς όμως να γίνεται κάποια έρευνα για την ταυτοποίηση φυτοφαρμάκων σε συγκεκριμένα ελαιόλαδα. Τα φυτοφάρμακα διαχωρίστηκαν από την ελαιώδη μήτρα με χρωματογραφία αποκλεισμού μεγέθους. Μετά την εκχύλιση, 20 φυτοφάρμακα διαχωρίστηκαν και αναλύθηκαν με GC-MS και 11 άλλα HPLC-MS σε λειτουργία ηλεκτροψεκασμού. Η ανάπτυξη αυτής της μεθόδου έδωσε τη δυνατότητα να εντοπίσουν και να ποσοτικοποιηθούν τα φυτοφάρμακα ενδιαφέροντος. Τα φυτοφάρμακα χωρίστηκαν σε διαφορετικές κατηγορίες με βάση προηγούμενες μελέτες και επιλέχθηκαν συγκεκριμένα ιόντα για ανάλυση χρησιμοποιώντας GC-MS και HPLC-MS. Έτσι, η μέθοδος που αναπτύχθηκε, χρησιμοποιώντας χρωματογραφία αποκλεισμού μεγέθους (size-exclusion chromatography SEC) ακολουθούμενη από GC-MS και HPLC-MS, είναι αποτελεσματική για την ανάλυση υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων στο ελαιόλαδο, καθώς κατάφερε να ταυτοποιήσει όλα τα φυτοφάρμακα που χρησιμοποιήθηκαν.

5.3 OCPs και PCBs σε φυτικά έλαια

Η ανάπτυξη μεθόδων για την εξαγωγή λιποδιαλυτών μη πολικών ενώσεων (δηλαδή, OCPs και PCB) από ολόκληρη τη λιπαρή μήτρα (όπως τα βρώσιμα φυτικά έλαια) αποτελεί πρόκληση, επειδή είναι δύσκολο να αποφευχθεί η συνεκχύλιση λιπαρής ύλης, η οποία είναι επιβλαβής για στήλες και ανιχνευτές, ακόμη και σε μικρές ποσότητες. Προς το παρόν, οι κοινά εφαρμοζόμενες μέθοδοι για την ανάλυση OCP και PCB σε μήτρες ελαίων περιλαμβάνουν διαχωρισμό υγρού με οργανικούς διαλύτες που ακολουθείται από καθαρισμό με SPE. Η SPE χρησιμοποιεί στήλες προσρόφησης με διαφορετικούς ροφητές (π.χ. Florisil, alumina, silica gel) και έτσι είναι εφαρμόσιμη για την αφαίρεση λιπιδίων. Ο σκοπός της εργασίας των Li et al., 2014 είναι να αναπτύξει και να επικυρώσει μια διαδικασία ενός σταδίου για την ταυτόχρονη εκχύλιση και καθαρισμό 21 OCP και PCB από βρώσιμα φυτικά έλαια, με βάση το matrix solid-phase dispersion (MSPD) χρησιμοποιώντας πυρίτιο εμποτισμένο με θειικό οξύ ως μέσο διασποράς.

Τέσσερα είδη βρώσιμων φυτικών ελαίων χρησιμοποιήθηκαν για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας της μεθόδου (Li et al., 2014).

Επιλεγμένα μεμονωμένα πρότυπα διαλύματα OCPs (α -HCH, β -HCH, γ -HCH, δ -HCH, quintozone, hexachlorobenzene, heptachlor, trans-chlordane, cis-chlordane, p,p'-DDD, o,p'-DDT, p,p'-DDT, p,p'-DDE, and mirex) σε συγκέντρωση 100 $\mu\text{g/mL}$ σε n-εξάνιο, ελήφθησαν από το Αγροτικό Ίδρυμα Προστασίας Περιβάλλοντος στην Τιαντζίν της Κίνας. Τα πρότυπα διαλύματα εργασίας παρασκευάστηκαν με αραιώση του παραπάνω πρότυπου διαλύματος σε n-εξάνιο σε κατάλληλα επίπεδα συγκέντρωσης. Όλα τα πρότυπα διαλύματα αποθηκεύτηκαν στο σκοτάδι στους 4 °C και αφέθηκαν για 1 ώρα σε θερμοκρασία περιβάλλοντος πριν από τη χρήση. Όλα τα βρώσιμα φυτικά έλαια αγοράστηκαν από σούπερ μάρκετ στο Πεκίνο της Κίνας. Το παρθένο ελαιόλαδο παρήχθη στην Ισπανία και τα άλλα είδη βρώσιμου φυτικού ελαίου παράγονταν στην Κίνα (Li et al., 2014).

Τα OCP εκλούστηκαν με 10 mL n εξανίου/διχλωρομεθανίου (70:30, v/v) και προσδιορίστηκαν με αέρια χρωματογραφία εξοπλισμένη με ανιχνευτή σύλληψης ηλεκτρονίων (GC-ECD). Τα όρια ανίχνευσης (LODs) και τα όρια ποσοτικοποίησης (LOQ) ήταν στην περιοχή από 0,04–0,74 ng/g και 0,14–2,45 ng/g. Επιτεύχθηκαν καλές ανακτήσεις στο εύρος 69,6–105,3% με τις τιμές των σχετικών τυπικών αποκλίσεων (RSD) να είναι κάτω από 15% στις περισσότερες περιπτώσεις (Li et al., 2014).

Σε αυτή τη μελέτη, το MSPD εφαρμόστηκε με επιτυχία για τον προσδιορισμό 14 OCP και 7 PCB σε βρώσιμα φυτικά έλαια. Το πυρίτιο εμποτισμένο με θειικό οξύ, έδειξε ειδική και αποτελεσματική επίδραση στον διαχωρισμό των οργανοχλωριωμένων ενώσεων από τα βρώσιμα φυτικά έλαια. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η ακρίβεια και η ευαισθησία της βελτιστοποιημένης διαδικασίας MSPD ήταν αποδεκτές για την ανάλυση των ρύπων OCPs και PCBs σε διάφορα είδη βρώσιμων φυτικών ελαίων (Li et al., 2014).

Summary of mean percent recovery \pm RSD (%) ($n = 5$), LOD and LOQ of OCPs and PCBs analysed in edible vegetable oils by the developed MSPD method.

Compounds	Recovery (%) (mean ± RSD)								LOD	LOQ	
	Olive oil		Corn oil		Sesame oil		Soybean oil				
	10 ng/g	40 ng/g	10 ng/g	40 ng/g	10 ng/g	40 ng/g	10 ng/g	40 ng/g	ng/g	ng/g	
1	α-HCH	88.2 ± 2.3	79.8 ± 2.7	86.9 ± 2.3	81.8 ± 6.6	83.2 ± 3.3	83.8 ± 3.2	90.5 ± 3.3	71.6 ± 5.5	0.06	0.19
2	HCB	87.8 ± 6.1	90.3 ± 2.2	91.2 ± 2.2	85.1 ± 3.8	86.7 ± 3.7	85.4 ± 4.8	86.0 ± 3.4	71.8 ± 7.1	0.04	0.14
3	β-HCH	96.5 ± 2.0	87.2 ± 1.8	94.3 ± 4.3	90.6 ± 1.5	85.9 ± 5.5	89.4 ± 2.6	93.7 ± 1.5	88.7 ± 4.3	0.11	0.37
4	γ-HCH	97.5 ± 4.7	91.5 ± 3.1	89.2 ± 3.5	85.5 ± 4.4	83.2 ± 4.6	85.6 ± 3.1	88.1 ± 1.4	77.9 ± 3.9	0.07	0.23
5	Quintozene	93.9 ± 4.0	97.4 ± 1.7	92.7 ± 2.4	87.6 ± 5.1	86.8 ± 3.9	86.5 ± 4.1	90.4 ± 4.2	75.8 ± 5.6	0.05	0.17
6	δ-HCH	105.3 ± 3.3	90.1 ± 4.7	93.7 ± 8.0	90.4 ± 2.9	88.2 ± 8.9	88.8 ± 2.7	92.6 ± 1.8	88.3 ± 3.8	0.09	0.31
7	PCB28	90.5 ± 3.9	86.0 ± 2.7	93.8 ± 3.5	91.9 ± 1.3	88.6 ± 5.8	91.0 ± 6.7	87.0 ± 3.5	81.1 ± 10.1	0.19	0.65
8	Heptachlor	87.9 ± 7.2	86.1 ± 2.7	78.1 ± 6.7	77.7 ± 5.5	69.6 ± 10.6	79.3 ± 5.5	81.1 ± 9.6	71.3 ± 9.0	0.38	1.26
9	PCB52	92.3 ± 5.7	90.2 ± 2.7	91.1 ± 3.1	94.9 ± 1.3	88.4 ± 4.6	94.2 ± 6.4	90.0 ± 2.0	84.6 ± 12.2	0.29	0.95
10	Trans-chlordane	92.9 ± 3.9	89.3 ± 1.6	89.0 ± 1.3	88.8 ± 2.6	85.0 ± 3.1	89.3 ± 4.4	90.8 ± 2.0	79.8 ± 10.0	0.05	0.16
11	PCB101	92.6 ± 3.3	88.6 ± 2.5	90.4 ± 3.5	88.6 ± 2.6	85.8 ± 1.4	94.6 ± 7.9	92.0 ± 1.7	81.8 ± 9.3	0.14	0.45
12	Cis-chlordane	85.0 ± 3.2	85.4 ± 1.9	93.6 ± 2.7	91.0 ± 2.1	91.4 ± 3.6	91.8 ± 4.9	99.6 ± 2.9	87.1 ± 10.6	0.06	0.19
13	p,p'-DDE	93.3 ± 4.7	95.4 ± 2.1	88.1 ± 2.0	89.7 ± 1.5	89.3 ± 3.3	88.7 ± 6.4	89.6 ± 2.9	82.4 ± 13.4	0.07	0.22
14	PCB118	97.2 ± 9.3	89.8 ± 2.1	90.7 ± 2.5	95.0 ± 1.9	84.0 ± 2.4	93.7 ± 7.3	93.0 ± 2.3	87.0 ± 11.3	0.14	0.46
15	p,p'-DDD	104.1 ± 3.3	95.4 ± 2.4	88.7 ± 2.3	91.1 ± 2.0	92.5 ± 1.9	89.9 ± 4.1	92.3 ± 1.8	87.7 ± 8.4	0.13	0.42
16	o,p'-DDT	102.7 ± 9.0	95.3 ± 3.8	92.4 ± 15.4	83.5 ± 4.9	71.1 ± 22.2	86.5 ± 5.6	92.6 ± 11.5	81.5 ± 11.8	0.31	1.05
17	PCB138	96.5 ± 4.0	90.9 ± 2.3	91.7 ± 2.9	95.8 ± 0.8	92.7 ± 3.4	97.7 ± 7.1	97.4 ± 3.7	87.5 ± 10.0	0.16	0.54
18	p,p'-DDT	105.2 ± 12.6	93.5 ± 4.6	84.8 ± 24.5	92.3 ± 3.9	74.7 ± 27.3	101.8 ± 6.0	95.5 ± 17.5	94.7 ± 9.1	0.74	2.45
19	PCB153	87.3 ± 3.5	91.5 ± 2.5	91.3 ± 2.7	95.5 ± 1.3	87.8 ± 3.2	97.9 ± 7.4	92.5 ± 3.3	86.2 ± 12.3	0.09	0.31
20	PCB180	91.3 ± 4.0	86.0 ± 2.8	91.3 ± 4.6	89.5 ± 1.6	89.0 ± 9.8	93.5 ± 7.0	90.5 ± 4.1	86.8 ± 11.8	0.05	0.16
21	Mirex	97.3 ± 4.7	87.0 ± 2.9	86.0 ± 2.9	90.9 ± 2.0	76.4 ± 4.8	88.0 ± 5.5	89.9 ± 5.9	86.2 ± 12.6	0.09	0.28

Σχήμα 19: Σύνοψη του μέσου ποσοστού ανάκτησης \pm RSD (%) ($n = 5$), LOD και LOQ των OCPs και PCB που αναλύθηκαν σε βρώσιμα φυτικά έλαια με την μέθοδο MSPD (Li et al., 2014).

Οι Deme et al., 2014 ανέπτυξαν μια μέθοδο για την ανάλυση των υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων στα βρώσιμα έλαια. Η εκχύλιση πραγματοποιήθηκε με μια βελτιωμένη μέθοδο εκχύλιση διασποράς στερεάς φάσης (DSPE). Η ποσοτικοποίηση των αναλυτών πραγματοποιήθηκε με αέρια χρωματογραφία συζευγμένη με φασματομετρία μάζας σε λειτουργία αρνητικού χημικού ιονισμού (GC-NCI-MS/MS). Το όριο ανίχνευσης και το

όριο ποσοτικού προσδιορισμού των υπολειμμάτων ήταν στην περιοχή 0,01–1 ng/g και 0,05–2 ng/g, αντίστοιχα. Τα δείγματα ακατέργαστου βρώσιμου ελαίου έδειξαν υπολείμματα ισομερών ενδοσουλφάνης, p,p'-DDD, α-κυπερμεθρίνης, chlorpyrifos και diazinon στην περιοχή από 0,56–2,14 ng/g. Ωστόσο, δεν παρατηρήθηκαν υπολείμματα φυτοφαρμάκων στο εύρος ανίχνευσης της μεθόδου σε εξευγενισμένα έλαια.

5.4 PAH σε ελαιόλαδο

Οι PAH είναι μια μεγάλη κατηγορία περιβαλλοντικών ρύπων και ρύπων επεξεργασίας που παράγονται μέσω ατελούς καύσης ή πυρόλυσης οργανικής ύλης και γεωλογικών διεργασιών. Είναι τοξικοί για διάφορους οργανισμούς, συμπεριλαμβανομένων των ανθρώπων. Αρκετοί PAH έχουν αποδειχθεί ότι είναι γονιδοτοξικοί και μεταλλαξιογόνοι, ενώ άλλοι PAH που δεν ορίζονται ως καρκινογόνοι μπορούν να δράσουν ως συνεργιστικά. Οι PAH περιέχουν δύο ή περισσότερους συντηγμένους αρωματικούς δακτυλίους και χωρίζονται σε ελαφρείς PAH, με έως τέσσερις συντηγμένους δακτυλίους βενζολίου και βαρείς PAH που έχουν έως και έξι δακτυλίους βενζολίου. Οι βαρείς PAH τείνουν να είναι πιο τοξικοί και σταθεροί. Λόγω της δομής τους, οι PAH έχουν χαμηλή διαλυτότητα στο νερό (η υδατοδιαλυτότητα μειώνεται για κάθε πρόσθετο δακτύλιο που προστίθεται στον PAH) και υψηλή διαλυτότητα σε μη πολικούς διαλύτες και βρώσιμα έλαια.

Σε αυτή την έρευνα των Bertoz et al., 2021, παρέχεται μια επισκόπηση της εμφάνισης PAH σε όλες τις κατηγορίες ελαιολάδου, καθώς και μια περιγραφή των επίσημων διαθέσιμων μεθόδων και των αναλυτικών εξελίξεων τα τελευταία 10 χρόνια. Όπως πολλές άλλες καρκινογόνες ουσίες, αυτοί οι υδρογονάνθρακες μεταβολίζονται ενζυματικά σε διάφορους μεταβολίτες, μερικοί από τους οποίους έχουν την ιδιότητα να αντιδρούν. Μια σοβαρή ανησυχία είναι η ικανότητα των μεταβολιτών αυτών, όπως τα εποξείδια και οι διυδροδιόλες, να συνδέονται με τις κυτταρικές πρωτεΐνες και το DNA. Η δέσμευση του DNA των ενεργών PAH είναι ζωτικής σημασίας για την καρκινογόνο δράση. Οι προκύπτουσες βιοχημικές διαταραχές και η κυτταρική βλάβη μπορεί να προκαλέσουν μεταλλάξεις, αναπτυξιακές δυσπλασίες, όγκους και καρκίνο. Η EFSA ανέφερε ότι η συνολική διατροφική έκθεση, υποθέτοντας ένα άτομο 60 kg, είναι περίπου 235 ng/ημέρα (για το βενζο(α)πυρένιο, BaP), 641 ng/ημέρα (PAH2: BaP και

χρυσένιο (Ch)), 1168 ng/ημέρα (PAH4: BaP, Ch, βενζ(α)ανθρακένιο (BaA) και βενζο(b)φθορανθένιο (BbF)) και 1729 ng/ημέρα (PAH8: BaA, Ch, BbF, βενζο(k)φθορανθένιο (BkF), BaP, διβενζο(a,h) ανθρακένιο (DBahA), βενζο(g,h,i)perylene (BghiP) και ινδενο(1,2,3-cd)πυρένιο (IP)). Τα φυτικά λίπη και έλαια συμβάλλουν σημαντικά λόγω της υψηλότερης συγκέντρωσης PAH σε αυτή την ομάδα τροφίμων (Bertoz et al., 2021).

Ο προσδιορισμός των PAH αποτελείται γενικά από τρία στάδια: εξαγωγή, καθαρισμό και αναλυτικό προσδιορισμό, συμπεριλαμβανομένης της ανίχνευσης. Λόγω της πολύπλοκης φύσης των μητρών που εμπλέκονται, η δειγματοληψία συχνά απαιτεί εντατική εκχύλιση ή/και προετοιμασία. Μία από τις κύριες δυσκολίες στην ανάλυση των λιπαρών μητρών είναι η υψηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά, που απαιτεί χρονοβόρες διαδικασίες. Εδώ γίνεται μια λεπτομερής επισκόπηση των επίσημων διαθέσιμων και των πιο πρόσφατων (τελευταία δεκαετία) μεθόδων (Bertoz et al., 2021).

- Μέθοδος ISO 15302 «Ζωικά και φυτικά λίπη και έλαια Προσδιορισμός της περιεκτικότητας σε βενζο[α]πυρένιο με υγρή χρωματογραφία αντίστροφης φάσης υψηλής απόδοσης (HPLC)», που είχε προηγουμένως εγκριθεί ως μέθοδος AOAC το 1997. Είναι ένα διεθνές πρότυπο για τον προσδιορισμό του BaP σε ακατέργαστα ή εξευγενισμένα βρώσιμα έλαια και λίπη. Το δείγμα ελαίου (περίπου 400 mg αραιωμένο σε 2 mL διαλύτη) φορτώνεται σε μια στήλη αλουμίνας (22 g) και εκλούεται με εξάνιο (τα πρώτα 20 mL του εκλούσματος απορρίπτονται και τα επόμενα 60 mL συλλέγονται). Μετά την εξάτμιση μέχρι ξηρού και την προσθήκη βενζο(b)χρυσενίου ως εσωτερικού προτύπου, το υπόλειμμα διαλύεται με 1 mL CH₃CN/THF (90:10, v/v) και εγχέεται στην HPLC χρησιμοποιώντας φθοριομετρικό ανιχνευτή (FLD) ο οποίος ρυθμίζεται σε ένα συγκεκριμένο μήκος κύματος BaP (384–406 nm). Η μέθοδος καλύπτει το εύρος 0,1–50 µg/kg (Bertoz et al., 2021).
- ISO 15753/FDIS «Ζωικά και φυτικά λίπη και έλαια – Προσδιορισμός πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων». Αυτό περιλαμβάνει δύο μεθόδους, μια γενική μέθοδο και μια ειδική μέθοδο για λάδι καρύδας και φυτικά έλαια με λιπαρά οξέα βραχείας αλυσίδας, για τον προσδιορισμό 15 PAH. Αυτές

οι μέθοδοι ISO δεν είναι ποσοτικές για τις πιο πτητικές ενώσεις όπως το ναφθαλίνιο (Na), το ακεναφθένιο (Ac) και το φθορένιο (F), και καμία από αυτές δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ανάλυση των PAH στο φοινικέλαιο και το πυρηνέλαιο, καθώς αποτυγχάνουν να αφαιρέουν συγκεκριμένες παρεμβολές της μήτρας. Το όριο ποσοτικοποίησης είναι 0,2 µg/kg για όλες σχεδόν τις ενώσεις που αναλύθηκαν (για το φθορανθένιο (Fl) και το BghiP το όριο ποσοτικοποίησης είναι 0,3 µg/kg και για το IP το όριο ποσοτικοποίησης είναι 1,0 µg/kg). Η γενική μέθοδος περιλαμβάνει εκχύλιση υγρού-υγρού (LLE) 2,5 g ελαίου με $3 \times 10 \text{ mL} + 3 \times 2 \text{ mL CH}_3\text{CN/ακετόνη (60:40, v/v)}$ που ακολουθείται από καθαρισμό σε 2-g C18 φυσίγγιο, προετοιμασμένο με 24 mL MeOH + 24 mL CH₃CN και έκλουση PAH με 5 mL CH₃CN/ακετόνη (60:40, v/v). Ένα πρόσθετο στάδιο καθαρισμού εκτελείται σε φυσίγγιο Florisil 500 mg, προετοιμασμένο με 15 mL διχλωρομεθάνιο (DCM) + 12 mL εξανίου (Hex) και πλυμένο με 3 χ 1 mL Hex/DCM (75:25, v/v). Ακολουθεί έκλουση PAH με 4 mL Hex/DCM (75:25, v/v), συγκέντρωση και διάλυση σε CH₃CN ή τετραϋδροφουράνιο (THF)/MeOH πριν από την ένεση. Ο προσδιορισμός επιτυγχάνεται με Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης με ανίχνευση φθορισμού. Η ενημερωμένη έκδοση, ISO 15753, δεν εμφανίζει αλλαγές στην αρχή της μεθόδου (Bertoz et al., 2021).

- Το ISO 22959 «Ζωικά και φυτικά λίπη και έλαια – Προσδιορισμός πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων σε βρώσιμα λίπη και έλαια με σύνθετη ηλεκτρονική χρωματογραφία δότη-αποδέκτη (DACC) και HPLC με ανίχνευση φθορισμού» παρέχει ένα σύστημα διπλής υγρής χρωματογραφίας (LC-LC) και ανάμεσα μια στήλη καθαρισμού, για την επιλεκτική διατήρηση των PAH. Οι PAH είναι δότες ηλεκτρονίων και επομένως είναι σε θέση να αλληλεπιδρούν ισχυρά με έναν δέκτη ηλεκτρονίων στατικής φάσης. Το δείγμα διαλύεται και εγχέεται στη στήλη DACC, η οποία λειτουργεί ως δέκτης ηλεκτρονίων. Αυτή η στήλη διατηρεί τους PAH (δότες ηλεκτρονίων), απομονώνοντάς τους από άλλα συστατικά μήτρας. Στη συνέχεια, αλλάζοντας την πολικότητα του διαλύτη, οι PAH εκλούνται και εισάγονται (σε λειτουργία backflush) στη στήλη αναλυτικού διαχωρισμού. Οι μεμονωμένοι PAH ανιχνεύονται σε διαφορετικά μήκη κύματος και προσδιορίζονται ανάλογα με το χρόνο κατακράτησης και ποσοτικοποιούνται

χρησιμοποιώντας εξωτερική βαθμονόμηση. Το όριο ποσοτικοποίησης (LOQ) για τους PAH είναι 0,1 $\mu\text{g/kg}$, με επικυρωμένο δυναμικό εύρος από 0,1 $\mu\text{g/kg}$ έως 3,5 $\mu\text{g/kg}$ για κάθε μεμονωμένο PAH. Δεκαεπτά PAH μπορούν να προσδιοριστούν με αυτή τη μέθοδο: anthracene (A), phenanthrene (Pa), Fl, pyrene (P), Ch, BaA, BeP, BaP, Per, BghiP, anthanthrene, DBahA, coronene, IP, BaFl BbF, and BkF. (Bertoz et al., 2021).

- EN 16619 «Ανάλυση τροφίμων – Προσδιορισμός βενζο(α)πυρενίου, βενζο(α)ανθρακενίου, χρυσενίου και βενζο(β)φθορανθενίου σε τρόφιμα με αέρια χρωματογραφία συνδεδεμένη με φασματομετρία μάζας (GC-MS)». Αυτό το Ευρωπαϊκό Πρότυπο καθορίζει μια μέθοδο για τον προσδιορισμό τεσσάρων από τους 16 PAH προτεραιότητας της ΕΕ. Αυτοί είναι οι BaA, BaP, BbF και Ch. Η μέθοδος επιτρέπει την ποσοτικοποίησή τους παρουσία των άλλων 12 PAH που θεωρεί σημαντικούς η ΕΕ (BjF, CCP, BkF, DBahA, BcF, DBaeP, BghiP, DahP, DBaiP, DBalP, IP και 5-MeCh) σε καπνιστά ψάρια, ξηρό βρεφικό γάλα, κρέας λουκάνικου, μύδια λυοφιλοποιημένα, βρώσιμο λάδι (συμπεριλαμβανομένου του ελαιολάδου) και αλεύρι σίτου με αέρια χρωματογραφία συνδεδεμένη με φασματομετρία μάζας (GC-MS). Ο καθαρισμός του δείγματος πραγματοποιείται με χρωματογραφία αποκλεισμού μεγέθους (SEC), ακολουθούμενη από εκχύλιση στερεάς φάσης (SPE). Η μέθοδος έχει επικυρωθεί σε μια διεργαστηριακή μελέτη μέσω της ανάλυσης τόσο φυσικώς μολυσμένων όσο και δειγμάτων με προσθήκη, με εύρος από 0,5 $\mu\text{g/kg}$ έως 11,9 $\mu\text{g/kg}$ (Bertoz et al., 2021).

Στην μελέτη των Ekner et al. (2022) αναλύθηκαν 16 εμπορικά δείγματα ελαιολάδου από διαφορετικές χώρες προέλευσης και τύπου (παρθένο ή εξευγενισμένο λάδι) για την περιεκτικότητά τους σε 45 PAH χρησιμοποιώντας υγρό χρωματογράφο υψηλής απόδοσης συνδεδεμένο με αέριο χρωματογράφο με φασματομετρικό ανιχνευτή μάζας. Η περιεκτικότητα των 45 PAH κυμαινόταν μεταξύ 9,17 και 94,7 $\mu\text{g/kg}$ (μέση τιμή: 30,1 $\mu\text{g/kg}$) στα διάφορα δείγματα ελαιολάδου. Μόνο ένα δείγμα δεν πληρούσε τα επίπεδα των κανονισμών για τους PAH. Πριν από την ενόργανη ανάλυση χρειάστηκε ένα βήμα καθαρισμού δείγματος για την αφαίρεση της λιπαρής ουσίας και την απομόνωση των

ΡΑΗ. Η εκχύλιση στερεάς φάσης (SPE) είναι μια κοινή τεχνική για την απομόνωση των ΡΑΗ σε βρώσιμα έλαια.

Οι ελάχιστες, μέγιστες και διάμεσες ποσοτικοποιημένες συγκεντρώσεις κάθε ΡΑΗ για όλα τα ελαιόλαδα και κάθε τύπο ελαιολάδου, π.χ. Extra Virgin Olive Oil (EVO), ecological extra virgin olive oil (EEVO) και refined olive oil (RFO) παρατίθενται στο σχήμα 20 παρακατω.

Compound	All olive oils min-max (median) μg/kg (n = 16)	EVO min-max (median) μg/kg (n = 10)	EEVO min-max (median) μg/kg (n = 3)	RFO min-max (median) μg/kg (n = 3)
DBT	0.504–12.2 (3.6)	0.816–7.91 (4.19)	1.71–12.2 (8.71)	0.504–3.54 (2.82)
Phe	1.63–33.8 (9.23)	7.48–22.1 (10.2)	5.46–33.8 (13.7)	1.63–7.31 (5.9)
Ant	0.151–1.39 (0.437)	0.359–1.16 (0.455)	0.165–1.39 (0.508)	0.151–0.250 (0.202)
3-MPhe	0.164–4.10 (1.50)	1.05–3.71 (1.53)	0.913–4.10 (3.44)	0.164–0.970 (0.746)
2-MPhe	0.225–5.42 (2.08)	1.41–4.63 (2.10)	1.45–5.42 (4.35)	0.225–1.4 (1.07)
2-MAnt	0.203–3.33 (0.632)	0.446–3.33 (0.658)	0.203–1.85 (0.778)	0.285–0.437 (0.324)
9-MPhe	0.0153–4.25 (1.06)	0.396–2.55 (1.47)	0.927–4.25 (3.00)	0.0153–0.252 (0.204)
1-MPhe	0.193–4.22 (1.50)	1.21–4.06 (1.65)	1.17–4.22 (4.10)	0.193–0.975 (0.723)
1,7-DMPhe	0.262–4.12 (1.63)	0.903–3.9 (1.65)	1.28–4.12 (2.97)	0.262–1.09 (0.685)
CPPhe	0.150–1.83 (0.575)	0.330–1.51 (0.589)	0.345–1.83 (0.864)	0.150–0.415 (0.330)
Flt	0.658–8.23 (2.00)	1.68–6.28 (2.00)	1.09–8.23 (2.35)	0.658–2.2 (1.49)
Pyr	0.824–8.66 (2.24)	1.69–6.55 (2.24)	1.38–8.66 (3.28)	0.824–2.59 (1.74)
1/3-MFlt	0.113–0.707 (0.224)	0.113–0.707 (0.213)	0.122–0.609 (0.276)	0.159–0.336 (0.233)
B[c]Fl	0.0608–0.354 (0.0934)	0.0647–0.354 (0.0934)	0.0608–0.272 (0.136)	0.078–0.146 (0.082)
4-MPyr	0.0756–0.827 (0.201)	0.0756–0.690 (0.171)	0.134–0.402 (0.285)	0.21–0.827 (0.236)
1-MPyr	0.0614–0.752 (0.190)	0.0614–0.700 (0.169)	0.109–0.397 (0.281)	0.199–0.752 (0.224)
B[c]Phe	0.0594–0.421 (0.116)	0.0786–0.398 (0.109)	0.0594–0.421 (0.144)	0.098–0.233 (0.118)
B[ghi]F	0.0879–0.608 (0.188)	0.128–0.535 (0.187)	0.0879–0.608 (0.208)	0.129–0.281 (0.183)
B[a]A	0.105–1.17 (0.264)	0.188–1.17 (0.246)	0.105–0.877 (0.263)	0.311–0.586 (0.345)
Chr + TriP	0.636–3.27 (1.06)	0.636–3.24 (1.06)	0.767–3.27 (1.32)	0.83–1.73 (0.957)
3-MChr	0.0389–0.390 (0.139)	0.0389–0.39 (0.116)	0.0759–0.296 (0.156)	0.165–0.389 (0.206)
6-MChr	0.0157–0.308 (0.0669)	0.0157–0.308 (0.0403)	0.0304–0.123 (0.0704)	0.0731–0.248 (0.134)
5-MChr	0.00136–0.00571 (0.0041) ^{a)}	0.00136–0.00571 (0.0041) ^{a)}	n.d.	n.d.
DMBA	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
B[b]F	0.0808–0.833 (0.190)	0.125–0.833 (0.176)	0.0808–0.536 (0.177)	0.275–0.471 (0.278)
B[k]F	0.0575–0.397 (0.106)	0.0693–0.397 (0.0872)	0.0575–0.319 (0.135)	0.115–0.213 (0.131)
B[j]F	0.0763–0.514 (0.148)	0.0966–0.514 (0.120)	0.0763–0.455 (0.175)	0.168–0.296 (0.210)
B[a]F	0.0135–0.108 (0.0272)	0.0135–0.108 (0.0181)	0.0154–0.0741 (0.0475)	0.0421–0.0668 (0.0579)
B[j]Ace	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
B[e]P	0.0739–0.846 (0.177)	0.0877–0.846 (0.169)	0.0739–0.447 (0.161)	0.237–0.734 (0.333)
B[a]P	0.0442–0.662 (0.123)	0.0712–0.662 (0.113)	0.0442–0.334 (0.100)	0.225–0.432 (0.231)
Per	0.00753–0.150 (0.0271)	0.0116–0.150 (0.0233)	0.00753–0.0819 (0.0226)	0.0436–0.104 (0.0595)
DB[a,j]A	0.000427–0.0842 (0.0118)	0.00292–0.0842 (0.011)	0.000427–0.0365 (0.00671)	0.038–0.0455 (0.042)
DB[a,c]A	0.00236–0.054 (0.0089)	0.00315–0.0540 (0.00743)	0.00236–0.0305 (0.00655)	0.0115–0.0368 (0.0171)
DB[a,h]A	0.00191–0.0733 (0.0127)	0.00575–0.0733 (0.0127)	0.00191–0.039 (0.00582)	0.0126–0.0417 (0.0128)
B[b]Chr	0.00166–0.0796 (0.0128) ^{b)}	0.00166–0.0796 (0.0110)	0.0078–0.0409 (0.0244) ^{c)}	0.0128–0.045 (0.0147)
Pic	0.0025–0.0898 (0.0202)	0.00745–0.0898 (0.0202)	0.00250–0.0484 (0.0136)	0.0112–0.0553 (0.0362)
IcdP	0.0280–0.380 (0.0880)	0.0523–0.380 (0.0880)	0.0280–0.252 (0.0626)	0.0827–0.225 (0.122)
B[ghi]P	0.0477–0.973 (0.149)	0.0559–0.641 (0.127)	0.0477–0.251 (0.0909)	0.169–0.973 (0.476)
AA	0.00521–0.0966 (0.0164)	0.00792–0.0825 (0.0148)	0.00521–0.0604 (0.0132)	0.0403–0.0966 (0.0523)
DB[b,k]F	0.0043–0.119 (0.0256)	0.00793–0.119 (0.0253)	0.0043–0.0691 (0.0118)	0.0254–0.0686 (0.0381)
DB[a,l]P	0.00212–0.00814 (0.00577) ^{d)}	(0.00594) ^{e)}	(0.00560) ^{e)}	0.00212–0.00814 (0.00513) ^{f)}
DB[a,e]P	0.00588–0.133 (0.0255)	0.00588–0.133 (0.0228)	0.00666–0.0624 (0.0136)	0.0259–0.0689 (0.0432)
Cor	0.016–0.352 (0.0443)	0.0190–0.170 (0.0443)	0.0160–0.0621 (0.0284)	0.0360–0.352 (0.0597)
DB[a,i]P	0.0114–0.0311 (0.0133) ^{a)}	(0.0114) ^{e)}	(0.0133) ^{e)}	(0.0311) ^{e)}
Total PAHs	9.17–94.7 (30.1)	23.5–75.1 (30.1)	18.1–94.7 (58.2)	9.17–31.3 (20.9)
PAH4+TriP ^{g)}	0.997–5.91 (1.65)	1.02–5.91 (1.58)	0.997–5.02 (1.86)	1.68–3.22 (1.77)
PAH8 ^{h)}	0.439–5.01 (1.10)	0.666–5.01 (1.04)	0.439–3.05 (0.996)	1.57–3.68 (1.79)

n.d. = not detected.

^{a)} n = 3.

^{b)} n = 15.

^{c)} n = 2.

^{d)} n = 4.

^{e)} n = 1.

^{f)} n = 2.

^{g)} PAH4+TriP = sum of: B[a]P, B[a]A, B[b]F, and Chr + TriP.

^{h)} PAH8 = sum of: B[a]A, B[b]F, B[k]F, B[e]P, B[a]P, DB[a,h]A, IcdP, and B[ghi]P.

Σχήμα 20: Ελάχιστη, μέγιστη και διάμεση ποσοτική συγκέντρωση κάθε PAH, η συνολική περιεκτικότητα σε PAH, PAH4+TriP και PAH8 στα αναλυόμενα δείγματα ελαιολάδου (Ekner et al., 2022).

Κανένα από τα ελαιόλαδα δεν περιείχε περισσότερο από το ρυθμιζόμενο κατώτατο όριο συγκέντρωσης 2 $\mu\text{g B[a]P/kg}$ από την ΕΕ. Ομοίως, κανένα από τα ελαιόλαδα δεν ξεπέρασε τη συγκέντρωση PAH4 των 10 $\mu\text{g/kg}$. Η μέγιστη μέση συγκέντρωση του PAH4+TriP ήταν $5,91 \pm 0,05 \mu\text{g/kg}$ η οποία προσδιορίστηκε στο δείγμα ΕVO με προέλευση επισημασμένη ως ΕU. Αυτό το δείγμα ελαιολάδου είχε επίσης την υψηλότερη συγκέντρωση B[a]P $0,662 \pm 0,006 \mu\text{g/kg}$ και την υψηλότερη συγκέντρωση των οκτώ PAH, B[a]A, B[b]F, B[k]F, βενζο[ε]πυρένιο (B[e]P), B[a]P, B[ghi]P, DB[a,h]A και (IcdP) (PAH8): $5,01 \pm 0,08 \mu\text{g/kg}$, που υπερέβη ελαφρά το μέγιστο όριο των 5 $\mu\text{g/kg}$ που έχουν τεθεί από διάφορα ευρωπαϊκά κράτη (Moret, Purcaro, & Conte, 2005).

Επίσης, σε μια αρκετά πιο παλιά μελέτη βέβαια των Menichini et al. (1991) αναλυθηκαν τα έξι ελαιόλαδα και τα επτά παρθένα ελαιόλαδα που καταναλώνονται περισσότερο στην Ιταλία, για 28 πολυκυκλικούς αρωματικούς υδρογονάνθρακες (PAH). Ο στόχος ήταν να αξιολογηθεί εάν μπορεί να προκύψει καρκινογόνος κίνδυνος για τον γενικό πληθυσμό από τη διαιτητική πρόσληψη αυτού του τροφίμου, το οποίο καταναλώνεται ιδιαίτερα στην περιοχή της Μεσογείου. Η αναλυτική μέθοδος περιελάμβανε εκχύλιση με διαχωρισμό υγρού-υγρού, διήθηση με silica gel, καθαρισμό με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας σε silica gel και ανάλυση με αέρια χρωματογραφία με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας. Οι PAH 3 και 4 δακτυλίων που είναι πιο άφθονοι στο περιβάλλον βρέθηκαν σε όλα τα δείγματα, σε μεμονωμένα επίπεδα έως περίπου 40 $\mu\text{g/kg}$ (για φαινανθρένιο). Δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά μεταξύ ελαιόλαδου και παρθένου ελαιόλαδου. Οι PAH που είναι πιο ύποπτοι ότι είναι καρκινογόνοι για τον άνθρωπο δεν ανιχνεύθηκαν (όριο ανίχνευσης, περίπου 3 $\mu\text{g/kg}$). Η μέση ετήσια πρόσληψη των ανιχνευθέντων PAH μέσω αυτής της τροφής υπολογίστηκε σε περίπου 0,56 mg ανά κάτοικο (Menichini et al., 1991).

5.5 PAH σε βρώσιμα έλαια

Σήμερα, 16 PAH περιλαμβάνονται στη λίστα προτεραιότητας ρύπων της Υπηρεσίας Προστασίας του Περιβάλλοντος των Ηνωμένων Πολιτειών (EPA). Οκτώ από αυτά είναι γνωστό ότι είναι μεταλλαξιογόνα και/ή καρκινογόνα και ως εκ τούτου προκαλούν σοβαρές ανησυχίες για την υγεία. Σύμφωνα με τον Διεθνή Οργανισμό Έρευνας για τον Καρκίνο (IARC), το βενζο[α] πυρένιο είναι καρκινογόνο για τον άνθρωπο. Το διβενζ[α,h]ανθρακένιο είναι πιθανώς καρκινογόνο για τον άνθρωπο ενώ το βενζ[α]ανθρακένιο, το βενζο[b]φθορανθένιο, το βενζο[k]φθορανθένιο, το χρυσένιο και το ινδενο[1,2,3-cd]πυρένιο είναι πιθανώς καρκινογόνα για τον άνθρωπο. Το βενζο[g,h,i]περυλένιο δεν ταξινομείται ως καρκινογόνο για τον άνθρωπο σύμφωνα με το IARC. Ωστόσο, ταξινομήθηκε ως γονιδοτοξικό από τη Μικτή Επιτροπή Εμπειρογνομόνων FAO/WHO για τα πρόσθετα τροφίμων (JECFA). Για την ελαχιστοποίηση της ανθρώπινης έκθεσης, η Ευρωπαϊκή Ένωση έχει ορίσει μέγιστο επίπεδο 2 mg/kg για το βενζο[α]πυρένιο σε έλαια και λίπη που προορίζονται για άμεση κατανάλωση (εκτός από το βούτυρο κακάο) ή για χρήση ως συστατικά σε τρόφιμα. Το 2011, ο κανονισμός της Επιτροπής 835 εισήγαγε ένα νέο μέγιστο επίπεδο 10 mg/kg ως το άθροισμα τεσσάρων ουσιών (βενζο[α]πυρένιο, βενζ[α]ανθρακένιο, βενζο[b]φθορανθένιο και χρυσένιο), διατηρώντας ένα ξεχωριστό μέγιστο επίπεδο 2 mg/kg για το βενζο[α]πυρένιο σε λάδια (Cassimiro Belo et al., 2012).

Η έρευνα των Cassimiro Belo et al. (2012) αναπτύσσει μια μέθοδο για τον ποσοτικό προσδιορισμό επτά Πολυκυκλικών Αρωματικών Υδρογονανθράκων (PAH) σε βρώσιμα έλαια (σόγιας, ηλιέλαιο και ελαιόλαδο), χωρίς όμως να μετρηθούν δείγματα. Περιλαμβάνει την εφαρμογή μιας τεχνικής εκχύλισης υγρού-υγρού χαμηλού όγκου (LLE) που ακολουθείται από καθαρισμό με εκχύλιση στερεάς φάσης (SPE) με φύσιγγα C18 και διοξείδιο του πυριτίου. Ο διαχωρισμός και η ανάλυση των ενώσεων πραγματοποιήθηκαν με αέρια χρωματογραφία συζευγμένη με φασματομετρία μάζας (GC-MS). Ως εσωτερικά πρότυπα χρησιμοποιήθηκαν επισημασμένοι με άνθρακα PAH για να βοηθήσουν στην ταυτοποίηση των ενώσεων και να καθορίσουν την αποτελεσματικότητα της μεθόδου εκχύλισης σε μια προσέγγιση φασματομετρίας μάζας αραίωσης ισοτόπων (IDMS). Οι διαδικασίες καθαρισμού LLE και SPE χαμηλού όγκου επέτρεψαν τη μείωση της κατανάλωσης διαλύτη και εξάλειψαν την ανάγκη ενός

προηγούμενου σταδίου σαπωνοποίησης. Η αναλυτική διαδικασία επικυρώθηκε σύμφωνα με τις συστάσεις της Απόφασης 2002/657/EK της Ευρωπαϊκής Επιτροπής και τους Κανονισμούς της Ευρωπαϊκής Επιτροπής (2007/333/EK και 2011/836/ΕΕ). Ελήφθησαν αποδεκτές τιμές (εκτός από το χρυσένιο) για τις ακόλουθες παραμέτρους: γραμμικότητα ($r^2 > 0,98$), όριο ποσοτικού προσδιορισμού ($0,12 < LOQ < 0,68$ mg/kg), όριο ανίχνευσης ($0,04 < LOD < 0,23$ mg/kg), ορθότητα (ποσοστά ανάκτησης και κανονικοποιημένο σφάλμα πιστοποιημένου υλικού αναφοράς) και ακρίβεια (επαναληψιμότητα και ενδιάμεση ακρίβεια). Επιτεύχθηκαν ανακτήσεις υψηλότερες από 80% για επτά PAH, σε τρία επίπεδα συγκέντρωσης (0,75, 2,00 και 4,00 mg/kg). Αυτή η επικυρωμένη μέθοδος θα χρησιμοποιηθεί από το Υπουργείο Γεωργίας, Κτηνοτροφίας και Προμήθειας Τροφίμων στη Βραζιλία (Cassimiro Belo et al., 2012).

Πολλές μελέτες έχουν αναφέρει τις συγκεντρώσεις των PAH σε διάφορα βρώσιμα φυτικά έλαια και λίπη. Η άλεση των σπόρων (ή η αποκήρωση) μπορεί επίσης να προάγει τον σχηματισμό PAH. Οι συγκεντρώσεις PAH στα εξευγενισμένα φυτικά έλαια ήταν πολύ χαμηλότερες, καθώς η διαδικασία εξευγενισμού μπορεί να αφαιρέσει τους περισσότερους PAH κατά τη διάρκεια των διαδικασιών αποχρωματισμού και απόσμησης. Οι Teixeira, Casal και Oliveira (2007) ανέφεραν ότι οι συνολικές συγκεντρώσεις 15 PAH ήταν 9,81μg/kg στο εξευγενισμένο σογιέλαιο, 9,29μg/kg στο εξευγενισμένο ηλιέλαιο και 22,18μg/kg στο παρθένο ελαιόλαδο (Teixeira et al., 2007). Σύμφωνα με τους Sun, Wang, Nan, Han, and Lu (2019) και Sun, Wu, and Gong (2019), το ελαιόλαδο είναι το πιο ανησυχητικό από τα βρώσιμα έλαια που έχουν μολυνθεί με PAH (Sun et al., 2019).

5.6 PAH σε φυτικά έλαια

Ο στόχος αυτής της έρευνας των Zachara et al. (2016), ήταν να προσδιοριστεί το επίπεδο επιμόλυνσης διαφορετικών φυτικών ελαίων που διατίθενται στην πολωνική αγορά με πολυκυκλικούς αρωματικούς υδρογονάνθρακες, η περιεκτικότητα των οποίων στα τρόφιμα περιορίζεται από τον κανονισμό (ΕΕ) 2015/1125 της Επιτροπής της 10ης Ιουλίου 2015. Τα ερευνητικά υλικά ήταν εξευγενισμένα κραμβέλαια, ηλιέλαια, πυρηνέλαια, κραμβέλαια με ελαιόλαδο και μη επεξεργασμένα έλαια σόγιας και καρύδας. Οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν περιελάμβαναν διαδικασία

σαπωνοποίησης των φυτικών ελαίων, εκχύλιση του κλάσματος πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων, καθαρισμό με χρήση στήλης γεμάτη με οξείδιο αλουμινίου και έκλουση με πετρελαϊκό αιθέρα και στη συνέχεια ποσοτικό και ποιοτικό προσδιορισμό με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης με μέθοδος ανίχνευσης φθορισμού.

Δείγματα βρώσιμων ελαίων: 30 δείγματα κραμβέλαιου, 10 δείγματα ηλιέλαιου και 12 δείγματα άλλων ελαίων: πυρηνέλαιο, κραμβέλαιο με ελαιόλαδο, σογιέλαιο και λάδι καρύδας ήταν διαθέσιμα στο εμπόριο. Τα δείγματα κραμβέλαιου περιελάμβαναν εξευγενισμένα έλαια γενικής χρήσης, παρθένα κραμβέλαια και παρθένο εξευγενισμένο κραμβέλαιο με ψυχρή διήθηση και ήταν τόσο εγχώριας προέλευσης (12 δείγματα) όσο και εισαγόμενα (18 δείγματα). Πριν από την ανάλυση, τα δείγματα αποθηκεύτηκαν σύμφωνα με τις συστάσεις του κατασκευαστή. Τα υγρά δείγματα επεξεργάστηκαν σε θερμοκρασία δωματίου εντός 2 ωρών, ενώ τα στερεά δείγματα εμβалπίστηκαν σε λουτρό νερού στους 60 °C (PN-EN ISO 661:2006).

Για τον καθαρισμό των εκχυλιζόμενων δειγμάτων πριν τη χρωματογραφική ανάλυση, έγινε χρήση γυάλινης χρωματογραφικής στήλης γεμάτη με αλουμίνα. μίγμα οξειδίου του αλουμινίου και νερού (9:1, w/w) και κάθε δείγμα εγχύθηκε σε μια γυάλινη στήλη. Άνυδρο θειώδες νάτριο ως ξηραντικός παράγοντας προστέθηκε στη στήλη αλουμίνας. Η στήλη πλενόταν με διέλευση πετρελαϊκού αιθέρα. Δείγμα 0,4 g ελαίου αραιώθηκε με 10 ml πετρελαϊκού αιθέρα και το δείγμα φορτώθηκε στη στήλη αλουμίνας. Στη συνέχεια, 60 ml πετρελαϊκού αιθέρα εγχύθηκαν στη στήλη με ταχύτητα ροής περίπου 1 ml/min. Τα πρώτα 20 ml εκλουσθέντος κλάσματος απορρίφθηκαν. Το ακριβές κλάσμα (ενώσεις PAH) συλλέχθηκε. Το διάλυμα εξατμίστηκε σε περιστροφικό εξατμιστήρα Laborota 4000 στους 35 °C υπό κενό σε τελικό όγκο μικρότερο από 1 ml και στη συνέχεια το δείγμα μεταφέρθηκε ποσοτικά σε φιαλίδια και εξατμίστηκε κάτω από ένα ήπιο ρεύμα αζώτου. Στην περίπτωση των δειγμάτων λαδιού καρύδας, της εκχύλισης υγρού-υγρού προηγήθηκε ένα στάδιο σαπωνοποίησης. Ένα κλάσμα (100 μl) εγχύθηκε σε HPLC χρησιμοποιώντας αυτόματο δειγματολήπτη. Η θερμοκρασία της στήλης διατηρήθηκε σταθερή στους 18°C. Η κινητή φάση αποτελούνταν από ακετονιτρίλιο και νερό. Τα εκλούσματα μετρήθηκαν χρησιμοποιώντας τα ακόλουθα μήκη κύματος διέγερσης και

εκπομπής (Ex/Em): 260/420 nm για benzo(a)anthracene (BaA) και chrysene (Chr) και 290/430 nm για benzo[b]fluoranthene (BbFA) και benzo[a]pyrene (BaP).

Οι καμπύλες βαθμονόμησης πραγματοποιήθηκαν με τη μέθοδο των εξωτερικών προτύπων. Το πρότυπο διάλυμα εργασίας σε συγκέντρωση 10 ng/ml παρασκευάστηκε με το πιστοποιημένο πρότυπο διάλυμα PAH και χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή των ακόλουθων διαλυμάτων βαθμονόμησης: 0,20, 0,80, 4,00, 8,00 και 10,00 ng/ml.

Οι τιμές του ορίου ανίχνευσης (LOD), του ορίου ποσοτικοποίησης (LOQ) και της ανάκτησης συμμορφώθηκαν με τα κριτήρια που ορίζονται στον κανονισμό (ΕΕ) 836/2011 της Επιτροπής. Στο εύρος συγκεντρώσεων 0,20-10,00 ng/ml οι καμπύλες βαθμονόμησης για καθεμία από τις ουσίες ήταν γραμμικές, με τιμές συντελεστή συσχέτισης υψηλότερες από 0,998. Αυτές οι καμπύλες χρησιμοποιήθηκαν για τον έλεγχο της αναπαραγωγιμότητας και της ακρίβειας της μεθόδου σε δύο επίπεδα συγκέντρωσης 0,80 και 8,00 ng/ml. Λήφθηκαν αποδεκτά αποτελέσματα, και επομένως η μέθοδος πιστοποιήθηκε για τον προσδιορισμό του αθροίσματος των τεσσάρων PAH σε φυτικά έλαια.

Τα εξευγενισμένα κραμβέλαια περιείχαν βενζο(α)πυρένιο σε ποσότητα που δεν υπερέβαινε το επιτρεπόμενο όριο των 2,0 μg/kg (Κανονισμός (ΕΕ) 2015/1125 της Επιτροπής). Σε δύο δείγματα ραφιναρισμένων κραμβελαίων και σε ένα δείγμα εξευγενισμένου παρθένου κραμβελαίου η περιεκτικότητα σε BaP ήταν υψηλότερη από 1 (1,20 ± 0,29 μg/kg, 1,92 ± 0,29 μg/kg και 1,10 ± 0,17 μg/kg, αντίστοιχα). Η μέγιστη ποσότητα των αναλυόμενων PAH στα δείγματα κραμβελαίου κυμαινόταν από 1,30 έως 2,40 μg/kg, ενώ στα δείγματα εξευγενισμένου παρθένου κραμβελαίου ήταν από 1,10 έως 1,95 μg/kg. Λαμβάνοντας υπόψη την τιμή της αβεβαιότητας, αυτή δεν είναι μια σημαντική διαφορά. Σημαντικά χαμηλότερες ποσότητες βενζο(α)πυρενίου, βενζο(α)ανθρακενίου, βενζο(β)φθορανθενίου και χρυσενίου, που είναι χαμηλότερες από 1 μg/kg, βρέθηκαν στα δείγματα εξευγενισμένου παρθένου κραμβελαίου με κρύο φιλτράρισμα. Για αυτά τα δείγματα, επίσης το άθροισμα τεσσάρων PAH (2,91 ± 0,58 μg/kg) ήταν σημαντικά χαμηλότερο από ό,τι στα κραμβέλαια και στα εξευγενισμένα παρθένα κραμβέλαια.

Το χρυσένιο ήταν η κυρίαρχη ποσοτικά ένωση από όλους τους PAH που προσδιορίστηκε στα κραμβέλαια, με την περιεκτικότητά του να ξεπερνά το 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ σε τρία δείγματα κραμβέλαιων και σε τέσσερα δείγματα εξευγενισμένων παρθένων κραμβελαιών. Αυτό το φαινόμενο συμφωνεί με αυτό των Alomirah et al., οι οποίοι προσδιόρισαν το χρυσένιο στο 83% των δειγμάτων φυτικών ελαίων, ενώ το βενζ(α)ανθρακένιο στο 70% αυτών.

Το άθροισμα των τεσσάρων PAH σε όλα τα δείγματα δεν υπερέβη την επιτρεπόμενη τιμή των 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ προϊόντος.

Στα εξευγενισμένα ηλιέλαια που αναλύθηκαν η περιεκτικότητα σε βενζο(α)πυρένιο δεν ξεπέρασε το επίπεδο των 2,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Στο 30% των δειγμάτων η περιεκτικότητα σε BaP ήταν χαμηλότερη από το LOD (0,18 $\mu\text{g}/\text{kg}$) που προσδιορίστηκε κατά την επικύρωση της μεθόδου, ενώ το 50% των δειγμάτων περιείχε από 0,18 έως 0,25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ BaP. Στα περισσότερα δείγματα ραφιναρισμένου ηλιελαίου η περιεκτικότητα σε BaP, CHR και BbFA ήταν χαμηλότερη από το LOQ (σε 80%, 70% και 80%, αντίστοιχα).

Κανένα από τα δημοφιλή πολωνικά δείγματα πυρηνελαίου και κραμβέλαιου με 5% ελαιόλαδο δεν ξεπέρασε τα μέγιστα επιτρεπτά επίπεδα PAH και η ελάχιστη περιεκτικότητά τους σε βενζο(α)πυρένιο ήταν κάτω από το όριο ανίχνευσης, ενώ η μέγιστη περιεκτικότητα σε BaP ήταν 0,25 και 0,45 $\mu\text{g}/\text{kg}$ για το πυρηνέλαιο και το κραμβέλαιο με ελαιόλαδο, αντίστοιχα.

Το βενζο(α)πυρένιο και το άθροισμα των περιεκτικότητων των τεσσάρων PAH των μη επεξεργασμένων ελαίων καρύδας από σόγια ήταν σημαντικά υψηλότερες από αυτές των ραφιναρισμένων ελαίων. Οι ποσότητες καθενός από τους προσδιορισμένους PAH σε μη ραφιναρισμένα σογιέλαια ήταν υψηλότερες από 0,7 $\mu\text{g}/\text{kg}$, ενώ το μέγιστο άθροισμα τεσσάρων PAH ανήλθε σε $9,10 \pm 1,82 \mu\text{g}/\text{kg}$. Το τελευταίο δεν υπερέβη το επιτρεπόμενο επίπεδο για τα φυτικά έλαια (Κανονισμός (ΕΕ) 2015/1125 της Επιτροπής). Η υψηλότερη επιμόλυνση με πολυκυκλικούς αρωματικούς υδρογονάνθρακες βρέθηκε στα τα μη επεξεργασμένα έλαια καρύδας. Ωστόσο, λόγω πολύ υψηλότερων ορίων για το άθροισμα των τεσσάρων PAH που καθορίστηκαν για το λάδι καρύδας που χρησιμοποιείται για άμεση ανθρώπινη κατανάλωση ή ως συστατικό σε τρόφιμα (20

μg/kg), το καθορισμένο άθροισμα των τεσσάρων PAH δεν υπερβαίνει το επιτρεπόμενο επίπεδο (Zachara et al., 2016).

Σε έρευνα των Lu et al., 2022, αναπτύχθηκε μια νέα μέθοδο εκχύλισης για τον ταυτόχρονο προσδιορισμό οργανοχλωριωμένων (OC) φυτοφαρμάκων και 16 καρκινογόνων ενώσεων EPA PAH. Χρησιμοποιήθηκε GC-MS για ανίχνευση και ταυτοποίηση, εμφανίζοντας ικανοποιητική γραμμικότητα τόσο για τα φυτοφάρμακα OC όσο και για τα υπολείμματα PAH ($R^2 > 0,995$) στην περιοχή από 1–100 mg/kg. Όρια ανίχνευσης: 0,63–1,42 mg/kg για φυτοφάρμακα OC, 0,07–1,26 mg/kg για PAH. Όρια ποσοτικοποίησης: 2,10–4,73 mg/kg για τα φυτοφάρμακα OC, 0,23–4,20 mg/kg για τους PAH. Η ανάκτηση κυμαινόταν από 73–96% για τα φυτοφάρμακα OC και 72–101% για τους PAH, υποδεικνύοντας καλή επαναληψιμότητα και ακρίβεια (RSD < 2%). Μεταξύ 20 οργανοχλωρικών φυτοφαρμάκων που δοκιμάστηκαν, μόνο 4,4-DDE ανιχνεύθηκε σε δείγματα ελαιολάδου από τα Al-Karak, Tafeilah και Madabah με μέσες συγκεντρώσεις 15,73, 13,62 και 10,05 mg/kg, αντίστοιχα. Η συνολική περιεκτικότητα 16 EPA PAH σε δείγματα ελαιολάδου κυμαινόταν από 9,95 έως 67,68 μg/kg σε εννέα περιοχές. Δεν ανιχνεύθηκε B[a]P στα δείγματα.

6 Συζήτηση – Συμπεράσματα

Είναι γεγονός ότι, η κύρια μέθοδος που χρησιμοποιείται για τη διασφάλιση της παραγωγικότητας των φυτών είναι η εφαρμογή γεωργικών φαρμάκων. Είναι, ωστόσο, πραγματικότητα ότι λόγω της μη ενδεδειγμένης χρήσης τους στη γεωργία, υπολείμματα εντοπίζονται σε όλες τις υδάτινες οδούς, τη γη, τον αέρα και τα φυτικά και ζωικά προϊόντα όλων των χωρών. Η αναγνώριση υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων ακόμη και σε τοποθεσίες απομακρυσμένες από αγρο-οικοσυστήματα αναφέρεται στη διεθνή βιβλιογραφία. Η επιμόλυνση των φυτικών ελαίων με οργανικούς ρυπαντές όπως τα οργανοχλωριωμένα φυτοφάρμακα και οι πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες μπορεί να γίνει λόγω της βιομηχανικής δραστηριότητας, της καύσης ορυκτών καυσίμων και άλλων πηγών. Επίσης, αυτοί οι ρυπαντές μπορούν να εναποτίθενται στις καλλιέργειες μέσω του αέρα, του νερού και του εδάφους, επιμολύνοντας έτσι τα φυτά και τα έλαιά τους. Ακόμη, η επιμόλυνση μπορεί να προέλθει κατά τη διάρκεια της μεταφοράς και αποθήκευσης των σπόρων ή των καρπών και κατά την επαφή τους με μολυσμένες επιφάνειες ή δοχεία. Οι διαδικασίες αυτές μπορούν να περιλαμβάνουν τη χρήση εξοπλισμού και δοχείων που έχουν προηγουμένως χρησιμοποιηθεί για άλλες ουσίες, χωρίς να έχουν καθαριστεί επαρκώς. Τέλος, κατά την επεξεργασία των ελαιούχων σπόρων ή καρπών για την παραγωγή φυτικών ελαίων, μπορεί να υπάρξει επιμόλυνση από τα υλικά που χρησιμοποιούνται στις εγκαταστάσεις επεξεργασίας ή από πρόσθετα που εισάγονται κατά τη διαδικασία.

Είναι επιτακτική ανάγκη να τονιστούν οι κίνδυνοι που συνδέονται με τα οργανοχλωριωμένα φυτοφάρμακα, η αναγκαιότητα εφαρμογής φυτοφαρμάκων μόνο με νόμιμες άδειες και η ανάγκη λήψης αυστηρών προφυλάξεων για τη δημόσια υγεία κατά τον ψεκασμό. Επιπλέον, το πρόβλημα των οργανοχλωριωμένων που μολύνουν το έδαφος είναι σοβαρό και οι προσπάθειες αποκατάστασης πρέπει να κατευθύνονται στον εντοπισμό της πηγής. Ακόμη και με την απαγόρευσή τους, ωστόσο, εξακολουθεί να υπάρχει κάποιος βαθμός περιβαλλοντικής μόλυνσης και βιοσυσσώρευσης οργανοχλωριωμένων φυτοφαρμάκων στα ζώα, λόγω του λιπόφιλου χαρακτήρα τους συσσωρεύονται στα λιποκύτταρα των φυτών και των ζώων. Οι μεταβολίτες τους έχουν βρεθεί εδώ και πολύ καιρό σε ωκεανούς, όπου απορρίπτονται τα νερά από τις καλλιέργειες. Σήμερα, τα φυτοφάρμακα όπως τα οργανοφωσφορικά και τα καρβαμιδικά

χρησιμοποιούνται στη θέση των οργανοχλωρικών φυτοφαρμάκων, τα οποία πιστεύεται δεν θα είναι τόσο επιζήμια για τη ζωή όσο μακροπρόθεσμα.

Η διαδικασία προσδιορισμού των υπολειμμάτων είναι περίπλοκη και εξειδικευμένη. Αρχικά χρειάζεται μια προκατεργασία του δείγματος, δηλαδή κάποιες μέθοδοι απομόνωσης και καθαρισμού των οργανοχλωριωμένων φυτοφαρμάκων και των πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων. Αυτές είναι η εκχύλιση υγρού υγρού (LLE) και η εκχύλιση στερεάς φάσης (SPE). Ως νέες τεχνολογίες απομόνωσης του επιθυμητού αναλύτη θεωρούνται η μέθοδος QuEChERS, η εκχύλιση υγρού υπό πίεση (pressurized liquid extraction) (PLE), η εκχύλιση στερεάς φάσης (SPME) και η εκχύλιση με ανάδευση σε προσροφητική ράβδο (stir-bar-sorptive extraction) (SBSE).

Η αέρια χρωματογραφία είναι η κύρια τεχνική που χρησιμοποιείται για την ολοκλήρωση της ανάλυσης. Ωστόσο, η επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων είναι μια απαραίτητη και χρονοβόρα διαδικασία που συχνά περιλαμβάνει ως ανιχνευτή τη χρήση φασματομέτρου μάζας. Ωστόσο, υπάρχουν και άλλα συστήματα που χρησιμοποιούνται για την ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση των οργανοχλωριωμένων φυτοφαρμάκων, όπως η Αέρια Χρωματογραφία (GC) με Ανιχνευτή Καταγραφής Ηλεκτρονίων (ECD), με υψηλή ευαισθησία και εκλεκτικότητα για οργανοχλωριωμένα φυτοφάρμακα, αλλά με περιορισμένη ικανότητα ανάλυσης μη πτητικών και πολύπλοκων μιγμάτων. Η Αέρια Χρωματογραφία με Φασματομετρία Ιόντων (GC-IMS), με πολύ υψηλή ευαισθησία και δυνατότητα ταυτοποίησης. Η Αέρια Χρωματογραφία με Φωτομετρικό Ανιχνευτή Φλόγας (FPD) και Ανιχνευτή αζώτου φωσφόρου (NPD). Η Υγρή Χρωματογραφία με φθοριομετρικό ανιχνευτή (FLD) και η Υγρή Χρωματογραφία-Φασματομετρία Μάζας (LC-MS), που χρησιμοποιείται κυρίως για την ανάλυση ενώσεων που δεν είναι πτητικές ή θερμοευαίσθητες.

Σε πολλές χώρες έχουν ανιχνευθεί υπολείμματα οργανοχλωριωμένων φυτοφαρμάκων σε ελαιόλαδα και άλλα φυτικά έλαια. Οι συγκεντρώσεις ποικίλλουν ανάλογα με την περιοχή και τη χρήση των φυτοφαρμάκων. Σε αναπτυσσόμενες χώρες, οι συγκεντρώσεις μπορεί να είναι υψηλότερες λόγω της λιγότερο αυστηρής νομοθεσίας και της συνεχιζόμενης χρήσης οργανοχλωριωμένων φυτοφαρμάκων. Σε πολλές περιοχές της Ασίας και της Αφρικής, τα επίπεδα μπορούν να φτάσουν ή να υπερβούν τα 50 $\mu\text{g/kg}$ σε

ορισμένα δείγματα, προκαλώντας σοβαρές ανησυχίες για την υγεία. Οι μέσες συγκεντρώσεις οργανοχλωριωμένων φυτοφαρμάκων στα φυτικά έλαια κυμαίνονται γενικά από λίγα έως δεκάδες μικρογραμμάρια ανά κιλό (μg/kg), με τις ανώτερες τιμές να παρατηρούνται σε περιοχές με εκτεταμένη γεωργική χρήση και λιγότερο αυστηρούς περιβαλλοντικούς κανονισμούς. Σύμφωνα με τις αναφορές και έρευνες, οι ποσότητες οργανοχλωριωμένων φυτοφαρμάκων που ανιχνεύονται στα φυτικά έλαια βρίσκονται κυρίως σε επίπεδα χαμηλότερα των θεσπισμένων ορίων, ωστόσο αυτό δε σημαίνει πως δεν υπάρχει ακόμη ο κίνδυνος. Οι οργανικοί ρύποι στα έλαια, όπως τα φυτοφάρμακα, οι πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες (ΡΑΗ) και άλλοι ρύποι, αποτελούν σημαντικούς κινδύνους για την υγεία. Ωστόσο, τα ραφιναρισμένα έλαια έχουν σημαντικά χαμηλότερες συγκεντρώσεις αυτών των επιβλαβών ουσιών σε σύγκριση με τα μη ραφιναρισμένα αντίστοιχά τους. Αυτή η σημαντική μείωση των οργανικών ρύπων οφείλεται κυρίως στις διαδικασίες διύλισης που έχουν σχεδιαστεί για τον καθαρισμό των βρώσιμων ελαίων.

Η διασφάλιση της ασφάλειας των τροφίμων είναι μια πολυδιάστατη προσέγγιση που απαιτεί τη συνεργασία κυβερνήσεων, βιομηχανίας, επιστημονικής κοινότητας και καταναλωτών για την αποτελεσματική προστασία της δημόσιας υγείας και της ευημερίας των κοινωνιών. Η συνεχής παρακολούθηση και οι έλεγχοι είναι απαραίτητοι για τη διασφάλιση της ασφάλειας των τροφίμων και την προστασία της δημόσιας υγείας, δεδομένης της τοξικότητας και των επιπτώσεων των οργανοχλωριωμένων φυτοφαρμάκων στην ανθρώπινη υγεία. Οι έρευνες τονίζουν την ανάγκη για συνεχή παρακολούθηση και έλεγχο των επιπέδων των οργανοχλωριωμένων φυτοφαρμάκων στα φυτικά έλαια, προκειμένου να διασφαλιστεί η ασφάλεια των καταναλωτών και να περιοριστεί η έκθεση σε επιβλαβείς ουσίες. Η διατήρηση υψηλών προτύπων ασφάλειας των τροφίμων ενισχύει την εμπιστοσύνη των καταναλωτών στα προϊόντα που αγοράζουν και καταναλώνουν με τους παραγωγούς και τις κυβερνήσεις να έχουν ηθική ευθύνη να διασφαλίζουν ότι τα τρόφιμα που διατίθενται στο κοινό είναι ασφαλή για κατανάλωση, προστατεύοντας την υγεία και την ευημερία των πολιτών. Οι τρόποι διασφάλισης της ασφάλειας των τροφίμων μπορεί να είναι εφαρμογή και τήρηση διεθνών και εθνικών κανονισμών και προτύπων για την ασφάλεια των τροφίμων, όπως αυτοί που ορίζονται από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (WHO) και τον Οργανισμό

Τροφίμων και Γεωργίας (FAO), η εκπαίδευση των παραγωγών, διανομέων και καταναλωτών σχετικά με την ασφάλεια των τροφίμων και τις πρακτικές υγιεινής, οι συστηματικοί έλεγχοι και επιθεωρήσεις σε όλα τα στάδια της παραγωγής, επεξεργασίας και διανομής των τροφίμων, αλλά και η χρήση σύγχρονων τεχνολογιών και μεθόδων για την ανίχνευση, παρακολούθηση και μείωση των κινδύνων ασφάλειας των τροφίμων.

Βιβλιογραφία

- Adekunle, A. S., Oyedele Oyekunle, J. A., Ola, I. J., Obisesan, O. R., & Maxakato, N. W. (2018). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and organochlorine pesticides (OCPs) in some personal care products in Nigeria. *Toxicology Reports*, 5, 994–1001. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2018.10.003>
- Alavanja, M. C. R. (2009). Introduction: Pesticides Use and Exposure, Extensive Worldwide. *Reviews on Environmental Health*, 24(4). <https://doi.org/10.1515/reveh.2009.24.4.303>
- Anastassiades, M., Lehotay, S. J., Stajnbaher, D., & Schenck, F. J. (2003). Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce. *Journal of AOAC International*, 86(2), 412–431. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12723926/>
- Αντιμετώπιση των κινδύνων που ενέχουν οι χημικές ουσίες (σύμβαση της Στοκχόλμης) | *EUR-Lex*. (n.d.). Eur-Lex.europa.eu. <https://eur-lex.europa.eu/EL/legal-content/summary/tackling-threats-posed-by-chemicals-stockholm-convention.html>
- ATSDR Clinician Brief: Polychlorinated Biphenyls | ATSDR. (2024, May 31). [Www.atsdr.cdc.gov](http://www.atsdr.cdc.gov). https://www.atsdr.cdc.gov/emes/health_professionals/clinician-brief-pcbs.html
- Badawy, M. E. I., El-Nouby, M. A. M., Kimani, P. K., Lim, L. W., & Rabea, E. I. (2022). A review of the modern principles and applications of solid-phase extraction techniques in chromatographic analysis. *Analytical Sciences*, 38(12), 1457–1487. <https://doi.org/10.1007/s44211-022-00190-8>

- Barrek, S., Paise, O., & Grenier-Loustalot, M.-F. (2003). Determination of residual pesticides in olive oil by GC–MS and HPLC–MS after extraction by size-exclusion chromatography. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 376(3), 355–359.
<https://doi.org/10.1007/s00216-003-1917-y>
- Barry, E. F., Grob, R. L., & Netlibrary, I. (2004). *Modern practice of gas chromatography*. Wiley-Interscience.
- Batt, A. L., Wathen, J. B., Lazorchak, J. M., Olsen, A. R., & Kincaid, T. M. (2017). Statistical Survey of Persistent Organic Pollutants: Risk Estimations to Humans and Wildlife through Consumption of Fish from U.S. Rivers. *Environmental Science & Technology*, 51(5), 3021–3031. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b05162>
- Bertoz, V., Purcaro, G., Conchione, C., & Moret, S. (2021). A Review on the Occurrence and Analytical Determination of PAHs in Olive Oils. *Foods*, 10(2), 324.
<https://doi.org/10.3390/foods10020324>
- Bitesize Bio. (2016, July 9). *Carrying You Through Gas Chromatography - Bitesize Bio*. Bitesize Bio. <https://bitesizebio.com/28687/carrying-gas-chromatography/>
- Blocksom, K. A., Walters, D., Jicha, T. M., Lazorchak, J. M., Angradi, T. R., & Bolgrien, D. W. (2010). *Persistent organic pollutants in fish tissue in the mid-continental great rivers of the United States*. 408(5), 1180–1189.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.11.040>
- Buhrke, T., Weihaa, R., & Lampen, A. (2011). Absorption and metabolism of the food contaminant 3-chloro-1,2-propanediol (3-MCPD) and its fatty acid esters by human intestinal Caco-2 cells. *Archives of Toxicology*, 85(10), 1201–1208.
<https://doi.org/10.1007/s00204-011-0657-6>

- C. Armendáriz, de, P., & R. Farri. (2004). Gas chromatographic determination of organochlorine pesticides in cow milk. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 55(3), 215–221. <https://doi.org/10.1080/09637480410001725166>
- Cassimiro Belo, R. F., Nunes, C. M., Vieira dos Santos, E., Augusti, D. V., & Pissinatti, R. (2012). Single laboratory validation of a SPE method for the determination of PAHs in edible oils by GC-MS. *Analytical Methods*, 4(12), 4068. <https://doi.org/10.1039/c2ay25818h>
- CDC - Immediately Dangerous to Life or Health Concentrations (IDLH): DDT - NIOSH Publications and Products. (2019). <https://www.cdc.gov/niosh/idlh/50293.html>
- Chen, X., Wu, X., Luan, T., Jiang, R., & Ouyang, G. (2021). Sample preparation and instrumental methods for illicit drugs in environmental and biological samples: A review. *Journal of Chromatography A*, 1640, 461961. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.461961>
- Choi, H., Harrison, R., Komulainen, H., & Saborit, J. M. D. (2010). Polycyclic aromatic hydrocarbons. In www.ncbi.nlm.nih.gov. World Health Organization. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK138709/>
- Cui, Y., Ke, R., Gao, W., Tian, F., Wang, Y., & Jiang, G. (2020). Analysis of Organochlorine Pesticide Residues in Various Vegetable Oils Collected in Chinese Markets. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(49), 14594–14602. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c05227>
- Deme, P., Azmeera, T., Prabhavathi Devi, B. L. A., Jonnalagadda, P. R., Prasad, R. B. N., & Vijaya Sarathi, U. V. R. (2014). An improved dispersive solid-phase extraction clean-up method for the gas chromatography–negative chemical ionisation tandem mass spectrometric determination of multiclass pesticide residues in edible oils. *Food Chemistry*, 142, 144–151. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.07.044>

Douglas Arvid Skoog. (2014). *Skoog and West's fundamentals of analytical chemistry*.

Cengage Learning Emea.

Ekner, H., Dreij, K., & Sadiktsis, I. (2022). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in commercial olive oils by HPLC/GC/MS – Occurrence, composition and sources. *Food Control*, 132, 108528.

<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108528>

El, H., Soliman, A. M., Sdeek, F. A., & Moustafa, H. M. (2017). Organochlorine pesticides residues in butter, olive oils and corn oils. *Journal of Veterinary Medical Research/Journal of Veterinary Medical Research* , 24(1), 48–60.

<https://doi.org/10.21608/jvmr.2017.43264>

Emwas, A.-H. M., Al-Talla, Z. A., Yang, Y., & Kharbatia, N. M. (2015). Gas Chromatography–Mass Spectrometry of Biofluids and Extracts. *Methods in Molecular Biology*, 1277, 91–112. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2377-9_8

Fair, P. A., Wolf, B., White, N. D., Arnott, S. A., Kannan, K., Karthikraj, R., & Vena, J. E. (2019). Perfluoroalkyl substances (PFASs) in edible fish species from Charleston Harbor and tributaries, South Carolina, United States: Exposure and risk assessment. *Environmental Research*, 171, 266–277.

<https://doi.org/10.1016/j.envres.2019.01.021>

Ferrante, M. C., Fusco, G., Monnolo, A., Saggiomo, F., Guccione, J., Mercogliano, R., & Clausi, M. T. (2017). Food contamination by PCBs and waste disposal crisis: Evidence from goat milk in Campania (Italy). *Chemosphere*, 186, 396–404.

<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.07.144>

Fitzgerald, L., & Wikoff, D. S. (2014, January 1). *Persistent Organic Pollutants* (P. Wexler, Ed.). ScienceDirect; Academic Press.

- [https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780123864543002116?](https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780123864543002116?via%3Dihub)
[via%3Dihub](#)
- Gao, B., Liu, M., Huang, G., Zhang, Z., Zhao, Y., Wang, T. J., Zhang, Y., Liu, J., & Yu, L. (2017). *Absorption, Distribution, Metabolism and Excretion of 3-MCPD 1-Monopalmitate after Oral Administration in Rats*. 65(12), 2609–2614.
<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b00639>
- Garabrant, D. H., Held, J., Langholz, B., Peters, J. M., & Mack, T. M. (1992). DDT and Related Compounds and Risk of Pancreatic Cancer. *JNCI Journal of the National Cancer Institute*, 84(10), 764–771. <https://doi.org/10.1093/jnci/84.10.764>
- Garg, E., & Zubair, M. (2023, January 21). *Mass Spectrometer*. PubMed; StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK589702/>
- Gas Chromatography: Detectors for Gas Chromatography*. (n.d.). BrainKart.
https://www.brainkart.com/article/Gas-Chromatography--Detectors-for-Gas-Chromatography_29758/
- Ghisi, R., Vamerali, T., & Manzetti, S. (2019). Accumulation of perfluorinated alkyl substances (PFAS) in agricultural plants: A review. *Environmental Research*, 169, 326–341. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.10.023>
- Gobas, F., & Morrison, H. (2000). Bioconcentration and Biomagnification in the Aquatic Environment. *CRC Press EBooks*. <https://doi.org/10.1201/9781420026283.ch9>
- Goh, K. M., Wong, Y. H., Tan, C. P., & Nyam, K. L. (2021). A summary of 2-, 3-MCPD esters and glycidyl ester occurrence during frying and baking processes. *Current Research in Food Science*, 4, 460–469. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2021.07.002>
- Guo, W., Pan, B., Sakkiah, S., Yavas, G., Ge, W., Zou, W., Tong, W., & Hong, H. (2019). Persistent Organic Pollutants in Food: Contamination Sources, Health Effects and

- Detection Methods. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(22). <https://doi.org/10.3390/ijerph16224361>
- Harada, T., Takeda, M., Kojima, S., & Tomiyama, N. (2016). Toxicity and Carcinogenicity of Dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT). *Toxicological Research*, 32(1), 21–33. <https://doi.org/10.5487/tr.2016.32.1.021>
- Iarc Working Group On The Evaluation Of Carcinogenic Risks To Humans, & International Agency For Research On Cancer. (2018). *DDT, Lindane, and 2,4-D*. International Agency For Research On Cancer, World Health Organization.
- Jayaraj, R., Megha, P., & Sreedev, P. (2016). Organochlorine pesticides, their toxic effects on living organisms and their fate in the environment. *Interdisciplinary Toxicology*, 9(3-4), 90–100. <https://doi.org/10.1515/intox-2016-0012>
- Jha, R., Dwivedi, S., & Modhera, B. (2022, January 1). *Chapter 4 - Measurement and practices for hazardous waste management* (D. Yadav, P. Kumar, P. Singh, & D. A. Vallero, Eds.). ScienceDirect; Elsevier. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780128243442000112>
- Lebelo, K., Malebo, N., Mochane, M. J., & Masinde, M. (2021). Chemical Contamination Pathways and the Food Safety Implications along the Various Stages of Food Production: A Review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(11), 5795. <https://doi.org/10.3390/ijerph18115795>
- Lehotay, S. J. (2011). QuEChERS Sample Preparation Approach for Mass Spectrometric Analysis of Pesticide Residues in Foods. *Methods in Molecular Biology*, 65–91. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-136-9_4
- Li, J., Liu, D., Wu, T., Zhao, W., Zhou, Z., & Wang, P. (2014). A simplified procedure for the determination of organochlorine pesticides and polychlorobiphenyls in edible

vegetable oils. *Food Chemistry*, 151, 47–52.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.11.047>

Loro, V. L., & Clasen, B. E. (2021, January 1). *Chapter Five - Agrochemicals:*

Ecotoxicology and management in aquaculture (F. S. B. Kibenge, B. Baldisserotto, & R. Chong, Eds.). ScienceDirect; Academic Press.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780128213377000104>

Matsumoto, E., Kawanaka, Y., Yun, S.-J., & Oyaizu, H. (2009). Bioremediation of the organochlorine pesticides, dieldrin and endrin, and their occurrence in the environment. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 84(2), 205–216.

<https://doi.org/10.1007/s00253-009-2094-5>

Menichini, E., Bocca, A., Merli, F., Ianni, D., & Monfredini, F. (1991). Polycyclic aromatic hydrocarbons in olive oils on the Italian market. *Food Additives and Contaminants*, 8(3), 363–369. <https://doi.org/10.1080/02652039109373985>

Μηλιάδης Γ .Ε. (2005). *Αέρια Χρωματογραφία Θεωρία-Εφαρμογές, Σημειώσεις, Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο, Κηφισιά, 2005.*

Narges Khanjani, Jan Lucas Hoving, Andrew Benjamin Forbes, & Malcolm Ross Sim.

(2007). Systematic Review and Meta-analysis of Cyclodiene Insecticides and Breast Cancer. *Journal of Environmental Science and Health. Part C,*

Environmental Carcinogenesis & Ecotoxicology Reviews./Journal of

Environmental Science and Health. Part C, Environmental Carcinogenesis &

Ecotoxicology Reviews, 25(1), 23–52. <https://doi.org/10.1080/10590500701201711>

National Research Council (US) Committee on Toxicology. (2011). *CHLORDANE.*

Nih.gov; National Academies Press (US).

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK217617/>

National Toxicology Program, Department of Health and Human Services. (n.d.). *Report on Carcinogens, Fifteenth Edition.*

<https://ntp.niehs.nih.gov/sites/default/files/ntp/roc/content/profiles/lindane.pdf>

Nervn, C., Aznar, M., & Carrizo, D. (2016). Food contamination during food process. *Trends in Food Science & Technology*, 48, 63–68.

<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.12.004>

NPIC. (1999). *DDT (Technical Fact Sheet)*.

<http://npic.orst.edu/factsheets/archive/ddttech.pdf>

Nutrition, C. for F. S. and A. (2023). Pesticide Residue Monitoring 2016 Report and Data. *FDA*. <https://www.fda.gov/food/pesticides/pesticide-residue-monitoring-2016-report-and-data>

Ohoro, C. R., & Wepener, V. (2023). Review of scientific literature on available methods of assessing organochlorine pesticides in the environment. *Heliyon*, 9(11), e22142. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e22142>

Orsavova, J., Misurcova, L., Ambrozova, J. V., Vicha, R., & Mlcek, J. (2015). Fatty Acids Composition of Vegetable Oils and Its Contribution to Dietary Energy Intake and Dependence of Cardiovascular Mortality on Dietary Intake of Fatty Acids. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(6), 12871–12890. <https://doi.org/10.3390/ijms160612871>

Φtles, S., & Kartal, C. (2016). Solid-Phase Extraction (SPE): Principles and Applications in Food Samples. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 15(1), 5–15. <https://doi.org/10.17306/j.afs.2016.1.1>

Pajurek, M., Pietron, W., Maszewski, S., Mikolajczyk, S., & Piskorska-Pliszczyńska, J. (2019). Poultry eggs as a source of PCDD/Fs, PCBs, PBDEs and PBDD/Fs. *Chemosphere*, 223, 651–658. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.02.023>

- Poole, C. F. (2021). *Gas chromatography*. Elsevier.
- Rajan, S., Musarrat Parween, & N. Janardhana Raju. (2023). *Pesticides in the hydrogeo-environment: a review of contaminant prevalence, source and mobilisation in India*. <https://doi.org/10.1007/s10653-023-01608-6>
- Rather, I. A., Wee Yin Koh, Paek, W. K., & Lim, J. (2017, November 17). *The Sources of Chemical Contaminants in Food and Their Health Implications*.
- Raynie, D. E. (2006). Modern Extraction Techniques. *Analytical Chemistry*, 78(12), 3997–4004. <https://doi.org/10.1021/ac060641y>
- Regulation (EU) 2019/1021 of the European Parliament and of the Council of 20 June 2019 on persistent organic pollutants (recast) (Text with EEA relevance)*. (2019). Legislation.gov.uk. <https://www.legislation.gov.uk/eur/2019/1021/2019-10-31>
- Reuber, M. D. (1979). Carcinogenicity of toxaphene: a review. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 5(4), 729–748.
<https://doi.org/10.1080/15287397909529783>
- Sahoo, B. M., Ravi Kumar, B. V. V., Banik, B. K., & Borah, P. (2020). Polyaromatic Hydrocarbons (PAHs): Structures, Synthesis and their Biological Profile. *Current Organic Synthesis*, 17(8), 625–640.
<https://doi.org/10.2174/1570179417666200713182441>
- Saleh, M. A. (1991). Toxaphene: Chemistry, Biochemistry, Toxicity and Environmental Fate. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 1–85.
https://doi.org/10.1007/978-1-4612-3082-3_1
- Skoog, D. A., F. James Holler, & Crouch, S. R. (2007). *Principles of instrumental analysis*. Thomson Brooks/Cole.
- Skoog, D. A., West, D. M., F. James Holler, & Crouch, S. R. (2013). *Fundamentals of Analytical Chemistry*. Cengage Learning.

Snežana Agatonović-Kuštrin, Vladimir Gegechkori, Kobakhidze, T., & Morton, D. W.

(2023). Solid-Phase Microextraction Techniques and Application in Food and Horticultural Crops. *Molecules*, 28(19), 6880–6880.

<https://doi.org/10.3390/molecules28196880>

Soon Huat Tiong, Norliza Saparin, Huey Fang Teh, Lee, T., Zain, M., Bee Keat Neoh,

Ahmadilfitri Md Noor, Chin Ping Tan, Oi Ming Lai, & David Ross Appleton.

(2018). *Natural Organochlorines as Precursors of 3-Monochloropropanediol Esters in Vegetable Oils*. 66(4), 999–1007.

<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b04995>

Sun, Y., Wu, S., & Gong, G. (2019). Trends of research on polycyclic aromatic hydrocarbons in food: A 20-year perspective from 1997 to 2017. *Trends in Food Science & Technology*, 83, 86–98. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.11.015>

Suresh, G., Suresh, K., & Thomas, S. (2011). Design, data analysis and sampling techniques for clinical research. *Annals of Indian Academy of Neurology*, 14(4), 287. <https://doi.org/10.4103/0972-2327.91951>

Teixeira, V. H., Casal, S., & Oliveira, M. B. P. P. (2007). PAHs content in sunflower, soybean and virgin olive oils: Evaluation in commercial samples and during refining process. *Food Chemistry*, 104(1), 106–112.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.11.007>

Tian, M., Bai, Y., Tian, H., & Zhao, X. (2023). The Chemical Composition and Health-Promoting Benefits of Vegetable Oils-A Review. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 28(17), 6393. <https://doi.org/10.3390/molecules28176393>

to Humans, I. W. G. on the E. of C. R. (1991). Chlordane and Heptachlor. In www.ncbi.nlm.nih.gov. International Agency for Research on Cancer. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK499636/>

- W M A Niessen, & Correa, R. A. (2017). *Interpretation of MS-MS mass spectra of drugs and pesticides*. Wiley.
- Wang, Y., & Kannan, K. (2018). Concentrations and Dietary Exposure to Organophosphate Esters in Foodstuffs from Albany, New York, United States. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(51), 13525–13532.
<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b06114>
- Weber, R., Herold, C., Hollert, H., Kamphues, J., Blepp, M., & Ballschmiter, K. (2018). Reviewing the relevance of dioxin and PCB sources for food from animal origin and the need for their inventory, control and management. *Environmental Sciences Europe*, 30(1). <https://doi.org/10.1186/s12302-018-0166-9>
- Weggler, B. A., Gruber, B., Teehan, P., Jaramillo, R., & Dorman, F. L. (2020, January 1). *Chapter 5 - Inlets and sampling* (N. H. Snow, Ed.). ScienceDirect; Academic Press.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780128137451000052>
- Witczak, A., & Abdel-Gawad, H. (2012). Comparison of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls residues in vegetables, grain and soil from organic and conventional farming in Poland. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 47(4), 343–354. <https://doi.org/10.1080/03601234.2012.646173>
- Xia, Q., Du, Z., Lin, D., Huo, L., Qin, L., Wang, W., Qiang, L., Yao, Y., & An, Y. (2021). Review on contaminants in edible oil and analytical technologies. *Oil Crop Science*, 6(1), 23–27. <https://doi.org/10.1016/j.ocsci.2021.02.001>
- Zachara, A., Gałkowska, D., & Juszczak, L. (2016). Method Validation and Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Vegetable Oils by HPLC-FLD. *Food Analytical Methods*, 10(4), 1078–1086. <https://doi.org/10.1007/s12161-016-0673-5>

Zennegg, M. (2018). Dioxins and PCBs in Meat – Still a Matter of Concern? *CHIMIA*

International Journal for Chemistry, 72(10), 690–696.

<https://doi.org/10.2533/chimia.2018.690>

Zitko, V. (2003). Chlorinated Pesticides: Aldrin, DDT, Endrin, Dieldrin, Mirex. *Springer*

EBooks, 47–90. https://doi.org/10.1007/10751132_4

Zuloaga, O., Etxebarria, N., Gonzalez-Gaya, B., Olivares, M., Prieto, A., & Usobiaga, A.

(2020, January 1). *18 - Stir-bar sorptive extraction* (C. F. Poole, Ed.).

ScienceDirect; Elsevier.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780128169063000182>

Υπέθυνη Δήλωση Συγγραφέα:

Δηλώνω ρητά ότι, σύμφωνα με το άρθρο 8 του Ν. 1599/1986 και τα άρθρα 2,4,6 παρ. 3 του Ν. 1256/1982, η παρούσα εργασία αποτελεί αποκλειστικά προϊόν προσωπικής εργασίας και δεν προσβάλλει κάθε μορφής πνευματικά δικαιώματα τρίτων και δεν είναι προϊόν μερικής ή ολικής αντιγραφής, οι πηγές δε που χρησιμοποιήθηκαν περιορίζονται στις βιβλιογραφικές αναφορές και μόνον.