ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ & ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΟΥΣΙΩΝ ΜΕ ΠΙΘΑΝΗ ΕΝΔΟΚΡΙΝΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΣΕ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΤΡΙΧΑΣ ΠΑΙΔΙΩΝ ΤΗΣ ΚΡΗΤΗΣ ΜΕ ΧΡΟΝΙΑ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ ΥΓΕΙΑΣ

ΒΟΛΑΚΑΚΗ ΔΗΜΗΤΡΑ
Α.Μ.: 2332

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΤΖΑΤΖΑΡΑΚΗΣ ΕΜΜΑΝΟΥΗΛ

ΣΥΝΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΡΙΖΟΣ ΑΠΟΣΤΟΛΟΣ

ΗΡΑΚΛΕΙΟ,
ΦΕΒΡΟΥΑΡΙΟΣ 2024

UNIVERSITY OF CRETE
SCHOOL OF SCIENCE & TECHNOLOGY
DEPARTMENT OF CHEMISTRY

BACHELOR'S THESIS

QUALITATIVE & QUANTITATIVE DETERMINATION OF ENDOCRINE–DISRUPTING COMPOUNDS IN HAIR SAMPLES OF CHILDREN IN CRETE WITH CHRONIC HEALTH PROBLEMS

VOLAKAKI DIMITRA
2332

SUPERVISOR: TZATZARAKIS MANOLIS

CO–SUPERVISOR: RIZOS APOSTOLOS

HERAKLION,
FEBRUARY 2024

ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Επόπτη Καθηγητής: **Εμμανουήλ Τζατζαράκης**

Αναπληρωτής Καθηγητής Τοξικολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Κρήτης

Δεύτερος Αξιολογητής: **Απόστολος Ρίζος**

Καθηγητής, Τομέας Φυσικοχημείας, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Κρήτης

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα πτυχιακή εργασία πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Τοξικολογίας & Εγκληματολογικής Χημείας του τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Κρήτης στα πλαίσια του προπτυχιακού προγράμματος σπουδών του τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Κρήτης. Η προκείμενη εργασία εκπονήθηκε υπό την εποπτεία του Αναπληρωτή Καθηγητή Τοξικολογίας του τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Κρήτης κ. Τζατζαράκη Εμμανουήλ, με δεύτερο αξιολογητή τον Καθηγητή του τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Κρήτης κ. Ρίζο Απόστολο.

Κατ' αρχάς, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή Τοξικολογίας και Διευθυντή του Εργαστηρίου Τοξικολογίας & Εγκληματολογικής Χημείας του τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Κρήτης κ. Τσατσάκη Αριστείδη για την παραχώρηση των χώρων των εργαστηρίων του και την παροχή των απαραίτητων υλικοτεχνικών υποδομών και εξοπλιστικών μέσων, τα οποία απαιτούνταν προκειμένου να καταστεί εφικτή η διεξαγωγή της πειραματικής διαδικασίας στα πλαίσια της πτυχιακής μου εργασίας.

Θα ήθελα να εκφράσω τις ιδιαίτερες θερμές μου ευχαριστίες και την ειλικρινή μου ευγνωμοσύνη προς τον Επιβλέποντα Καθηγητή της πτυχιακής μου εργασίας κ. Τζατζαράκη Εμμανουήλ για την εμπιστοσύνη που έδειξε προς το πρόσωπό μου αναθέτοντας μου την εκπόνηση ενός τόσο ενδιαφέροντος και επίκαιρου θέματος και την ευκαιρία που μου έδωσε να συμμετάσχω σε μια ερευνητική μελέτη, για την πολύτιμη καθοδήγηση και βοήθειά του σε κάθε στάδιο της εργασίας, τις γνώσεις που μου μεταλαμπάδευσε και την αμείωτη υπομονή του. Η συμβολή του υπήρξε καθοριστική για τη διεκπεραίωση του πειραματικού μέρους της πτυχιακής μου εργασίας.

Εγκάρδιες ευχαριστίες επίσης θα ήθελα να απευθύνω τόσο στον Υποψήφιο Διδάκτορα της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Κρήτης Κουκάκη Μιχαήλ για τη συνεργασία, τον επαγγελματισμό, τη συνεχή συμπαράσταση και ενθάρρυνση και τις προσοδοφόρες συζητήσεις όσο και στην Διδάκτορα κ. Κατσικαντάμη Ιωάννα, της οποίας οι άρτιες επιστημονικές συμβουλές συνέβαλαν καταλυτικά στη συγγραφή της παρούσας πτυχιακής εργασίας. Στο σημείο αυτό, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλο το προσωπικό και τα μέλη του Εργαστηρίου Τοξικολογίας & Εγκληματολογικής Χημείας για την υποστήριξη που μου προσέφεραν καθόλη τη διάρκεια εκπόνησης της πτυχιακής μου εργασίας.

Τέλος, οφείλω ένα πολύ μεγάλο ευχαριστώ στην οικογένειά μου για την αμέριστη ηθική και υλική στήριξη που μου προσέφεραν, καθώς και για την αγάπη, την υπομονή, και την κατανόηση που μου έδειξαν καθ' όλη τη διάρκεια των προπτυχιακών μου σπουδών.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ 8
ABSTRACT 10
ΕΙΣΑΓΩΓΗ 12
1.1 Δισφαινόλη Α 13
1.1.1 Χημικές Ιδιότητες & Παραγωγή 13
1.1.2 Χρήση & Έκθεση 13
1.1.3 Μεταβολισμός & Απέκκριση 15
1.1.4 Επιδράσεις στην ανθρώπινη υγεία 15
1.1.5 Υφιστάμενοι Περιοριστικοί Κανονισμοί στην Ευρωπαϊκή Ένωση 17
1.2 Φθαλικοί Εστέρες & Κύριοι Μεταβολίτες τους 18
1.2.1 Χημικές Ιδιότητες, Παραγωγή & Κατηγοριοποίηση 18
1.2.2 Χρήση & Έκθεση 20
1.2.3 Μεταβολισμός & Απέκκριση 22
1.2.4 Επιδράσεις στην ανθρώπινη υγεία 22
1.2.5 Υφιστάμενοι Περιοριστικοί Κανονισμοί στην Ευρωπαϊκή Ένωση 25
1.3 Τρικλοζάνη 26
1.3.1 Χημικές Ιδιότητες & Παραγωγή 26
1.3.2 Χρήση & Έκθεση 26
1.3.3 Μεταβολισμός & Απέκκριση 28
1.3.4 Επιδράσεις στην ανθρώπινη υγεία 28
1.3.5 Υφιστάμενοι Περιοριστικοί Κανονισμοί στην Ευρωπαϊκή Ένωση 30
1.4 Η τρίχα ως βιοδείκτης 31
1.4.1 Ενσωμάτωση χημικών ενώσεων στην τρίχα 31
1.5 Υγρή Χρωματογραφία—Φασματομετρία Μάζας 33
1.6 Υγρή Χρωματογραφία 33
1.6.1 HPLC Αντίστροφης Φάσης 34
1.6.2 Πειραματική Διάταξη 35
1.6.2.1 Αντλία 35
1.6.2.2 Χρωματογραφική Στήλη 35
1.7 Φασματομετρία Μάζας 36
1.7.1 Πειραματική Διάταξη 37
1.7.1.1 Πηγή Ιόντων 37
1.7.1.2 Αναλυτής Μαζών 37

1.7.1.3 Ανιχνευτής Ιόντων 38
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ 39
2.1 Χημικές Ουσίες 40
2.2 Εξοπλισμός 40
2.3 Δειγματοληψία Τριχών Κεφαλής 41
2.4 Πειραματική Διαδικασία 42
2.4.1 Αναλυτικό Πρωτόκολλο Προκατεργασίας Δειγμάτων Μαλλιών 42
2.4.2 Πρότυπα Διαλύματα, Διαλύματα Εργασίας & Εμβολιασμένα Δείγματα Μαλλιών 43
2.4.3 Συνθήκες Λειτουργίας Υγρού Χρωματογράφου 44
2.4.4 Συνθήκες Λειτουργίας Φασματόμετρου Μάζας 44
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ 46
3.1 Επικύρωση Μεθόδου 47
3.1.1 Γραμμικότητα 47
3.1.2 Όρια Ανίχνευσης & Ποσοτικοποίησης 51
3.1.3 Ανάκτηση 52
3.1.4 Ακρίβεια 53
3.1.5 Πιστότητα 53
3.2 Αποτελέσματα βιοπαρακολούθησης της BPA, των μεταβολιτών φθαλικών εστέρων και της TCS σε δείγματα τριχών κεφαλής 54
3.2.1 Υγιή παιδιά 54
3.2.2 Παιδιά πάσχοντα από διαβήτη 55
3.2.3 Παιδιά με ενδοκρινολογικά προβλήματα 55
3.2.4 Παιδιά πάσχοντα από παχυσαρκία 56
ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ 58
4.1 Σύγκριση των μέσων τιμών συγκέντρωσης BPA, μεταβολιτών φθαλικών εστέρων και TCS μεταξύ της ομάδας ελέγχου και των κατηγοριών των παιδιών που πάσχουν από συγκεκριμένο χρόνιο πρόβλημα υγείας 59
4.2 Σύγκριση των συχνοτήτων ανίχνευσης BPA, μεταβολιτών φθαλικών εστέρων και TCS μεταξύ των δειγμάτων της ομάδας ελέγχου και των κατηγοριών των παιδιών που πάσχουν από συγκεκριμένο χρόνιο πρόβλημα υγείας 61
4.3 Δισφαινόλη Α 63
4.4 Μεταβολίτες φθαλικών εστέρων 64
4.5 Τρικλοζάνη 65
ΑΝΑΦΟΡΕΣ 66

5.1 Ξενόγλωσσες Αναφορές 66
5.2 Ελληνικές Αναφορές 78
5.3 Διαδικτυακές Πηγές 79

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η δισφαινόλη Α (BPA), οι φθαλικοί εστέρες (PEs) και η τρικλοζάνη (TCS) απαντώνται σε μια ευρεία γκάμα καταναλωτικών προϊόντων καθημερινής χρήσης. Πολλές από αυτές τις χημικές ουσίες έχουν τεκμηριωθεί ή υπάρχουν υποψίες ότι δρουν ως ενδοκρινικοί διαταράκτες (EDCs), ενώ αρκετές επιδημιολογικές μελέτες υποδεικνύουν συσχέτιση αυτών με δυσμενείς επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία. Τα παιδιά διατρέχουν ιδιαίτερο κίνδυνο για την υγεία τους επειδή, ενόσω τα ζωτικά συστήματα του οργανισμού τους ωριμάζουν, η έκθεσή τους σε EDCs κατά τη διάρκεια κρίσιμων αναπτυξιακών φάσεων της ανθρώπινης ζωής μπορεί να επιφέρει μόνιμες επιβλαβείς επιπτώσεις στην υγεία τους που γίνονται αντιληπτές μετά τη γέννηση ή ακόμη και στη μετέπειτα ζωή τους. Μέχρι στιγμής, δεν υπάρχουν βιβλιογραφικές αναφορές σχετικά με την εκτίμηση της επιβάρυνσης σε ουσίες με πιθανή ενδοκρινική δράση παιδιών από την Κρήτη με χρόνια νοσήματα μέσω ανάλυσης τριχών μαλλιών.

Σκοπός της παρούσας πτυχιακής εργασίας είναι η διερεύνηση της επιβάρυνσης παιδιών που πάσχουν από συγκεκριμένα χρόνια προβλήματα υγείας σε BPA, έξι μεταβολίτες φθαλικών εστέρων [φθαλικός μονομεθυλεστέρας (MMP), φθαλικός μονοαιθυλεστέρας (MEP), φθαλικός μονοβουτυλεστέρας (MBP), φθαλικός μονοϊσοβουτυλεστέρας (MiBP), φθαλικός μονοβενζυλεστέρας (MBzP) και φθαλικός μονο-(2-αιθυλεξυλ) εστέρας (MEHP)] και TCS μέσω ανάλυσης δειγμάτων τριχών κεφαλής. Ο πληθυσμός μελέτης αποτελείτο από 100 παιδιά ηλικίας 2-16 ετών που ήταν κάτοικοι του νησιού της Κρήτης, Ελλάδα. Πρόκειται για 75 παιδιά, διαχωρισμένα σε τρεις ομάδες των 25 ατόμων, τα οποία είχαν διαγνωστεί με χρόνια πάθηση, και συγκεκριμένα παχυσαρκία, διαβήτη, πρώιμη ήβη και θυρεοειδοπάθεια, στα ιατρεία παιδικής παχυσαρκίας, παιδοδιαβητολογίας και παιδοενδοκρινολογίας, αντιστοίχως, της Παιδιατρικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Ηρακλείου, καθώς και για 25 υγιή παιδιά αντίστοιχου εύρους ηλικιών του γενικού πληθυσμού που αποτέλεσαν την ομάδα ελέγχου.

Για την απομόνωση των προσδιοριζόμενων ουσιών εφαρμόστηκε εκχύλιση στερεού-υγρού με χρήση μεθανόλης ως διαλύτη εκχύλισης. Η ανίχνευση και ο ποσοτικός προσδιορισμός των αναλυόμενων ενώσεων επιτεύχθηκε χρησιμοποιώντας ένα σύστημα υγρής χρωματογραφίας συζευγμένο με ένα φασματόμετρο μάζας (LC-MS). Προκειμένου να αξιολογηθεί η αποδοτικότητα της εφαρμοζόμενης μεθόδου ελέγχθηκαν και προσδιορίστηκαν οι αναλυτικές παράμετροι της γραμμικότητας, των ορίων ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης, της ανάκτησης, της ακρίβειας και της πιστότητας για κάθε εξεταζόμενη ουσία. Η επικύρωση της αναλυτικής μεθόδου απέδειξε ότι η πειραματική πορεία που ακολουθήθηκε είναι κατάλληλη για τον ταυτόχρονο ποιοτικό και ποσοτικό προσδιορισμό BPA, έξι μεταβολιτών φθαλικών εστέρων και TCS σε δείγματα τριχών.

Σύμφωνα με τα ευρήματα της ανάλυσης, τα διαβητικά παιδιά ήταν περισσότερο επιβαρυμένα με BPA (88.0%, 243.9 pg/mg) συγκριτικά με τις άλλες μελετώμενες κατηγορίες παιδιών και την ομάδα ελέγχου. Οι μέσες τιμές συγκέντρωσης BPA για τα υγιή παιδιά (116.8 pg/mg), τα παιδιά με ενδοκρινολογικά προβλήματα (109.3 pg/mg) και τα παχύσαρκα παιδιά (95.0 pg/mg) παρουσίασαν αρκετή ομοιότητα μεταξύ τους.

Τα αποτελέσματα κατέδειξαν ότι τη μεγαλύτερη επιβάρυνση (βάσει των μέσων συγκεντρώσεων) και συχνότητα ανίχνευσης στα δείγματα τριχών κεφαλής, σημείωσε ο κύριος μεταβολίτης του DEHP, ο MEHP, με ποσοστό που κυμαινόταν από 92.0% στην ομάδα ελέγχου έως 100.0% σε όλες τις εξεταζόμενες κατηγορίες παιδιών. Ο δεύτερος κατά σειρά φθαλικός μεταβολίτης με το μεγαλύτερο καταγεγραμμένο ποσοστό ανίχνευσης στα δείγματα των παιδιών με ενδοκρινολογικά προβλήματα (92.0%) και των παχύσαρκων παιδιών (96.0%) ήταν το MBP.

Όσον αφορά τα διαβητικά παιδιά και τα παιδιά με ενδοκρινολογικά προβλήματα, ο φθαλικός μεταβολίτης με την αμέσως επόμενη, κατά σειρά, υψηλότερη μέση συγκέντρωση ήταν το MMP, του οποίου οι τιμές παρουσίασαν εξαιρετική ομοιότητα μεταξύ τους στις προαναφερόμενες κατηγορίες παιδιών (108.7 pg/mg και 108.9 pg/mg, αντίστοιχα).

Τα ποσοστά ανίχνευσης της TCS ήταν σε παρόμοια επίπεδα μεταξύ των δειγμάτων των υγιών παιδιών (48.0%), των παιδιών με ενδοκρινολογικά προβλήματα (52.0%) και των παχύσαρκων παιδιών (56.0%). Η έκθεση των διαβητικών παιδιών σε TCS (333.0 pg/mg) ήταν υψηλότερη από την έκθεση των άλλων μελετώμενων κατηγοριών παιδιών που έπασχαν από συγκεκριμένο χρόνιο πρόβλημα υγείας και της ομάδας ελέγχου, παρότι η TCS ανιχνεύτηκε με μικρότερη συχνότητα στα δείγματα αυτής της κατηγορίας παιδιών (28.0%). Οι μέσες τιμές συγκέντρωσης του TCS για τα παιδιά με ενδοκρινολογικά προβλήματα (234.8 pg/mg) και τα παχύσαρκα παιδιά (181.4 pg/mg), αν και χαμηλότερες της αντίστοιχης των διαβητικών παιδιών, ήταν εμφανώς υψηλότερες από εκείνη των υγιών παιδιών (154.0 pg/mg).

Λέξεις—κλειδιά: επιβάρυνση, τρίχα, δισφαινόλη Α, μεταβολίτες φθαλικών εστέρων, τρικλοζάνη, παιδιά, διαβήτης, ενδοκρινολογικά προβλήματα, παχυσαρκία

ABSTRACT

Bisphenol A (BPA), phthalates (PEs) and triclosan (TCS) are found in a wide range of everyday consumer products. Many of these chemicals have been documented or suspected to act as endocrine disruptors (EDCs) and several epidemiological studies indicate their association with adverse human health effects. Children's health is particularly at risk because, while their vital systems are maturing, exposure to EDCs during the critical developmental phases of human life can result in lasting adverse health effects that become apparent after birth or even later on in life. So far, there are no literature reports regarding the estimation of the burden of possible endocrine disruptive substances on Cretan children suffering from chronic diseases.

The aim of this thesis is to investigate the level of exposure of children suffering from specific chronic health problems to BPA, six metabolites of phthalates [monomethyl phthalate (MMP)], monoethyl phthalate (MEP), monobutyl phthalate (MBP), monoisobutyl phthalate (MiBP), monobenzyl phthalate (MBzP) and mono(2-ethylhexyl) phthalate (MEHP)] and TCS through the analysis of scalp hair samples. The study population consisted of 100 children aged 2-16 who were residents of the island of Crete, Greece. 75 of these children had previously been diagnosed with chronic disease, namely obesity, diabetes, early puberty and thyroid disease, at the pediatric obesity, pediatric diabetes and pediatric endocrinology clinics, respectively, of the University General Hospital of Heraklion. Furthermore, the study population included 25 healthy children of the general population in the same age range who constituted the control group.

For the isolation of the tested compounds, solid-liquid extraction was applied using methanol as the extraction solvent. Detection and quantification of the analyzed compounds was achieved using a liquid chromatography system coupled to a mass spectrometer (LC-MS). In order to evaluate the efficiency of the applied method, the analytical parameters of linearity, detection and quantification limits, recovery, accuracy and precision were checked and determined for each tested substance. The validation of the analytical method demonstrated that the experimental procedure followed is suitable for the simultaneous qualitative and quantitative determination of BPA, six phthalate metabolites and TCS in hair samples.

According to the findings, diabetic children were more burdened with BPA (88.0%, 243.9 pg/mg) compared to the other studied groups of children and the control group. The mean concentration values of BPA in the healthy children (116.8 pg/mg), children with endocrinological problems (109.3 pg/mg) and obese children (95.0 pg/mg) showed considerable similarity between them.

The results showed that the primary metabolite of DEHP, MEHP, recorded the highest burden (based on mean concentrations) and detection frequency in the scalp hair samples, with a percentage ranging from 92.0% in the control group to 100.0% in all tested groups of children. The second phthalate metabolite with the highest recorded detection frequency in the samples of children with endocrinological problems (92.0%) and obese children (96.0%) was MBP. For diabetic children and children with endocrinological problems, the phthalate metabolite with the next, in order, highest mean concentration was MMP, whose values showed an excellent similarity between the above mentioned groups of children (108.7 pg/mg and 108.9 pg/mg, respectively).

The detection frequencies of TCS were on similar levels in the samples of healthy children (48.0%), children with endocrinological problems (52.0%) and obese children (56.0%). The exposure of diabetic children to TCS (333.0 pg/mg) was higher than the exposure of the other studied groups of children with a specific chronic health problem and the control group, although a lower detection frequency of TCS was recorded in the samples of this group of

children (28.0%). The mean concentration values of TCS in children with endocrinological problems (234.8 pg/mg) and obese children (181.4 pg/mg), although lower than the corresponding value in diabetic children, were clearly higher than that in healthy children (154.0 pg/mg mg).

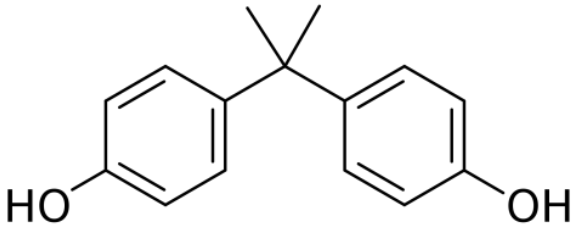
Keywords: burden, hair, bisphenol A, phthalate metabolites, triclosan, children, diabetes, endocrinological problems, obesity

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Δισφαινόλη Α

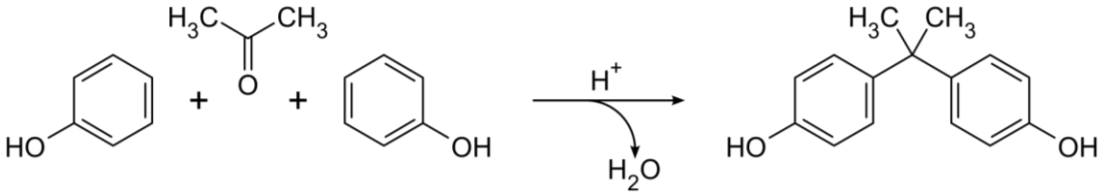
1.1.1 Χημικές Ιδιότητες & Παραγωγή

Η δισφαινόλη Α (Bisphenol A, BPA) είναι μια οργανική ένωση [ονομασία κατά IUPAC: 4,4'-(πρόπανο-2,2-διυλ)-διφαινόλη; Μοριακό βάρος: 228.29 g/mol] με μοριακό τύπο $C_{15}H_{16}O_2$ και αποτελείται από δύο λειτουργικές ομάδες φαινόλης ενωμένες μεταξύ τους μέσω ενός τεταρτοταγούς ατόμου άνθρακα, το οποίο διαθέτει δύο μεθύλια ως διακλαδώσεις (**Εικόνα 1**).



Εικόνα 1. Χημική δομή της δισφαινόλης Α
(Πηγή ιστοσελίδα: https://en.wikipedia.org/wiki/Bisphenol_A).

Η δισφαινόλη Α είναι μια συνθετική χημική ουσία που παράγεται σε βιομηχανική κλίμακα μέσω της αντίδρασης συμπύκνωσης μεταξύ ακετόνης και δύο ισοδυνάμων φαινόλης παρουσία ισχυρού οξέος (π.χ. πυκνό υδροχλωρικό οξύ, θειικό οξύ) ή διασταυρούμενων πολυμερών στυρενίου ως καταλύτες (Fiege et al., 2012) (**Εικόνα 2**). Έξι δισεκατομμύρια κιλά BPA παράγονται ετησίως σε παγκόσμιο επίπεδο και πάνω από 220000 κιλά αυτής της ένωσης απελευθερώνονται ετησίως στην ατμόσφαιρα.



Εικόνα 2. Σύνθεση δισφαινόλης Α μέσω της όξινα καταλυόμενης αντίδρασης συμπύκνωσης δύο μορίων φαινόλης και ενός μορίου ακετόνης (Πηγή ιστοσελίδα: https://en.wikipedia.org/wiki/Bisphenol_A).

1.1.2 Χρήση & Έκθεση

Η BPA είναι ένα μονομερές που χρησιμοποιείται κυρίως στην παραγωγή πολυανθρακικών πλαστικών και εποξειδικών ρητινών.

Το πολυανθρακικό (Polycarbonate, PC) είναι ένα ισχυρό, σκληρό, άκαμπτο, ελαφρύ και οπτικά διαφανές είδος πλαστικού, το οποίο παρουσιάζει εξαιρετική ανθεκτικότητα στη θερμότητα και υψηλή αντοχή στις κρούσεις, ενώ παράλληλα μπορεί να διαμορφωθεί σε υψηλές θερμοκρασίες. Λόγω αυτών των ιδιοτήτων, τα πολυανθρακικά πλαστικά χρησιμεύουν για την κατασκευή πλαστικών συσκευασιών τροφίμων, δοχείων αποθήκευσης τροφίμων, πλαστικών δοχείων ποτών, επαναχρησιμοποιήσιμων πλαστικών μπουκαλιών εμφιαλωμένου νερού και ποτών, μπιμπερό βρεφικής σίτισης, επαναχρησιμοποιούμενων πλαστικών επιτραπέζιων σκευών και διανομέων εμφιαλωμένου νερού. Επιπλέον, τα πολυανθρακικά βρίσκουν εφαρμογή σε πολλά εμπορικά προϊόντα, όπως σκεύη για φούρνο μικροκυμάτων, οικοδομικά υλικά, παιδικά παιχνίδια, φακοί γυαλιών οράσεως, οδοντικά σφραγιστικά και σύνθετα υλικά, ιατρικές συσκευές, αθλητικό εξοπλισμό ασφαλείας, υλικά για την προστασία των υαλοπινάκων, CDs,

DVDs και ηλεκτρονικές οικιακές συσκευές (Dekant & Völkel, 2008; Halden, 2010; Tzatzarakis et al., 2015).

Οι εποξειδικές ρητίνες χρησιμοποιούνται ως προστατευτικές επικαλύψεις για το εσωτερικό των κονσερβοποιημένων τροφίμων και αναψυκτικών, των σωλήνων ύδρευσης, των μεταλλικών δεξαμενών αποθήκευσης τροφίμων, ποτών, πόσιμου νερού, καθώς και των δεξαμενών ζύμωσης και αποθήκευσης οίνου, ώστε να αποφευχθεί η επαφή μεταξύ χάλυβα ή αλουμινίου και του περιεχόμενου προϊόντος (EFSA AFC Panel, 2007). Αποτρέπεται έτσι η διάβρωση της μεταλλικής επιφάνειας της κονσέρβας από αναψυκτικά ή όξινα τρόφιμα και ταυτόχρονα διατηρείται η γεύση του προϊόντος. Επιπλέον, οι εποξειδικές ρητίνες μπορούν να βρεθούν σε εσωτερικές επενδύσεις μεταλλικών καπακιών, πωμάτων και φελλών (Geueke, 2015). Χρησιμοποιούνται επίσης σε δάπεδα, συγκολλητικές ουσίες και επιστρώσεις του αμαξώματος αυτοκινήτων.

Η BPA χρησιμοποιείται ως παράγοντας ανάπτυξης χρώματος σε θερμικό χαρτί, το οποίο βρίσκει εφαρμογή σε αποδείξεις των ταμειακών μηχανών, αποκόμματα συναλλαγών με POS, εισιτήρια και ετικέτες προϊόντων (Geueke, 2015). Τα προϊόντα ανακυκλωμένου χαρτιού μπορεί επίσης να περιέχουν BPA (Liao & Kannan, 2011). Επιπλέον, η BPA χρησιμεύει ως χημικό πρόσθετο στα γάντια από πολυβινυλοχλωρίδιο (Polyvinyl Chloride, PVC) (Aalto-Korte et al., 2003) και ως δομικό στοιχείο στη σύνθεση του βρωμιωμένου επιβραδυντικού φλόγας τετραβρωμοδισφαινόλη Α (Tetrabromobisphenol A, TBBPA). Η BPA απαντάται ακόμη σε μελάνια και υφάσματα.

Ως αποτέλεσμα της παρουσίας BPA σε πλαστικά, ρητίνες και άλλα κοινά καταναλωτικά αγαθά (τρόφιμα, ποτά, ενδύματα, παιχνίδια κ.ά.), οι περισσότεροι άνθρωποι εκτίθενται συχνά σε ίχνη BPA (Calafat et al., 2008; Thoene et al., 2018; Vandenberg et al., 2007). Λόγω της ευρείας χρήσης της BPA σε υλικά συσκευασίας, η πρόσληψη τροφίμων, ποτών και πόσιμου νερού μολυσμένων με BPA έχει αναγνωριστεί ως η κύρια πηγή έκθεσης του ανθρώπου στην εν λόγω χημική ουσία (Heras-González et al., 2020). Η BPA έχει την ικανότητα να διαφεύγει από τα πλαστικά δοχεία/μπουκάλια προς τα τρόφιμα, τα ποτά ή το πόσιμο νερό που περιέχονται σε αυτά. Επιπλέον, δεδομένου ότι η αλληλεπίδραση της BPA με τα μακρομόρια της πολυμερικής ρητίνης δεν είναι μόνιμη (Kubwabo et al., 2009; Wilkes et al., 2005), η εν λόγω χημική ουσία μπορεί να μεταναστεύσει σε μικρές ποσότητες στα τρόφιμα και τα ποτά που είναι αποθηκευμένα εντός υλικών τα οποία έρχονται σε επαφή με αυτά και τα οποία συνίστανται από την ουσία (EFSA AFC Panel, 2007). Άλλωστε, εξαιτίας της χαμηλής υδατοδιαλυτότητας της BPA, τα κονσερβοποιημένα τρόφιμα με υψηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά, παραδείγματος χάριν το κρέας και το τυρί, και τα κονσερβοποιημένα ποτά με υψηλή περιεκτικότητα σε αλκοόλ έχουν υψηλότερα ανιχνευόμενα επίπεδα BPA (Geens et al., 2010).

Άλλες οδοί έκθεσης στην BPA περιλαμβάνουν το χειρισμό θερμικού χαρτιού (Björnsdotter et al., 2017), οδοντιατρικών υλικών (Van Landuyt et al., 2011) και ιατρικών συσκευών (Geens et al., 2012), καθώς και τη δερματική επαφή με τα ρούχα (Xue et al., 2017). Η έκθεση του ανθρώπου στην BPA μπορεί επίσης να συμβαίνει διά της εισπνοής του αέρα ή της σκόνης στην περίπτωση που υπάρχουν πλαστικά προϊόντα εντός εσωτερικών χώρων (CDC, 2017), καθότι πολλές πτητικές οργανικές ενώσεις μπορούν εύκολα να απορροφώνται από τα αιωρούμενα σωματίδια ή να κατακάθονται στη σκόνη (de Boer et al., 2016). Η BPA είναι ευρέως διαδεδομένη ακόμη και στον περιβαλλοντικό αέρα (Corrales et al., 2015). Σημαντικά κλάσματα BPA απελευθερώνονται στο περιβάλλον και τελικά συσσωρεύονται στα επιφανειακά ύδατα, οδηγώντας σε εκτεταμένη παρουσία BPA στο νερό της βρύσης (Li et al., 2019; Radwan et al., 2020).

Η περιγεννητική μετάδοση της BPA μέσω του πλακούντα και του μητρικού γάλακτος αποτελεί έναν άλλο τρόπο έκθεσης των εμβρύων, των νεογνών και των βρεφών (Kabir et al., 2015). Τα παιδιά ενδέχεται να εκτίθενται στην BPA μέσω πολλών οδών ταυτοχρόνως, καθώς είναι πιο πιθανό συγκριτικά με τους ενήλικες να τρώνε και να πίνουν από κονσέρβες, πλαστικά δοχεία και μπουκάλια που είναι κατασκευασμένα από BPA, να τοποθετούν παιχνίδια στο στόμα τους, να μπουσουλάνε ή να παίζουν στο έδαφος και να προσλαμβάνουν σκόνη και άλλα σωματίδια που περιέχουν BPA και που κατακάθονται στο δάπεδο (Li et al, 2021). Γι' αυτό μπορεί να εκτίθενται συχνότερα στους συναφείς κινδύνους για την υγεία.

1.1.3 Μεταβολισμός & Απέκκριση

Αν και η έκθεση σε BPA είναι συχνή, δεν συσσωρεύεται στο σώμα. Μετά την είσοδό της στον ανθρώπινο οργανισμό, η BPA απορροφάται από το εντερικό τοίχωμα και μεταβολίζεται στο ήπαρ. Ο μεταβολισμός και ο χρόνος ημίσειας ζωής της BPA εξαρτώνται από τις οδούς έκθεσης. Ταχύς μεταβολισμός παρατηρείται για έκθεση διά του στόματος, ενώ άλλοι τύποι έκθεσης, με τους οποίους παρακάμπτεται ο ηπατικός μεταβολισμός πρώτης διέλευσης, ενδέχεται να έχουν ως αποτέλεσμα μεγαλύτερο χρόνο παραμονής της BPA στην κυκλοφορία του αίματος (Vandenberg et al., 2007). Σε κάθε περίπτωση, ο χρόνος ημιζωής της BPA μέσα στον ανθρώπινο οργανισμό είναι της τάξης των ωρών (Shin et al., 2004). Η BPA απεκκρίνεται μέσω των νεφρών στα ούρα κυρίως υπό τη γλυκουρονιδωμένη μορφή της (σύζευξη της ουσίας με γλυκουρονικό οξύ) (Hormann et al., 2014; Kurebayashi et al., 2003). Το σύστημα γλυκουρονιδίωσης των νεογνών είναι ανώριμο, γεγονός που μπορεί να οδηγήσει σε υψηλότερα επίπεδα ελεύθερης BPA σε αυτή την ευαίσθητη πληθυσμιακή ομάδα (Nahar et al., 2013). Παρά τον γρήγορο μεταβολισμό της, η BPA, λόγω της λιπόφιλης φύσης της, έχει την ικανότητα να συσσωρεύεται σε χαμηλές συγκεντρώσεις στο λιπώδη ιστό. Η BPA ανευρίσκεται στα μαλλιά ως ελεύθερη ένωση (Tzatzarakis et al., 2015).

1.1.4 Επιδράσεις στην ανθρώπινη υγεία

Οι επιπτώσεις της BPA στην ανθρώπινη υγεία έχουν αποτελέσει αντικείμενο παρατεταμένης δημόσιας και επιστημονικής συζήτησης (Wu et al., 2011; Hengstler et al., 2011; Myers et al., 2009). Ο Ευρωπαϊκός Οργανισμός Χημικών Προϊόντων (European Chemicals Agency, ECHA) έχει προσθέσει τη BPA στον κατάλογο υποψηφίων ουσιών που προκαλούν πολύ μεγάλη ανησυχία (Substances of Very High Concern, SVHCs).

Η BPA έχει χαρακτηριστεί ως χημική ουσία που προκαλεί ενδοκρινικές διαταραχές, ή αλλιώς ενδοκρινικός διαταράκτης (Endocrine−Disrupting Chemical, EDC) (Gore et al., 2015). Οι EDCs είναι χημικές ουσίες που παρεμβαίνουν στη φυσιολογική λειτουργία του ενδοκρινικού συστήματος και διαταράσσουν την ομοιόσταση, επιφέροντας δυσμενείς επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία, την ανάπτυξη και την αναπαραγωγή (Martín et al., 2016). Οι εν λόγω χημικές ουσίες δεσμεύονται σε διάφορους ορμονικούς υποδοχείς και έχουν την ικανότητα είτε να μιμούνται τις φυσικές ορμόνες είτε να δρουν ως ανταγωνιστές, επηρεάζοντας έτσι τη βιοσύνθεση, την έκκριση, τη δράση ή το μεταβολισμό των ενδογενών ορμονών που εμπλέκονται στην ανθρώπινη σύλληψη και ανάπτυξη (Gore et al., 2015).

Η BPA έχει βρεθεί ότι αλληλεπιδρά με ένα ευρύ φάσμα ορμονικών υποδοχέων, συμπεριλαμβανομένων των οιστρογονικών, των ανδρογονικών και των θυρεοειδικών υποδοχέων (MacKay & Abizaid, 2018). Η BPA, λόγω της παρόμοιας δομής της με το φυσικό οιστρογόνο οιστραδιόλη (E2, 17-β-οιστραδιόλη), δεσμεύεται στους οιστρογονικούς υποδοχείς

και δύναται να μιμείται τη δράση των οιστρογόνων. Δρα ως αγωνιστής του οιστρογονικού υποδοχέα και ως ανταγωνιστής του ανδρογονικού υποδοχέα (Geueke, 2015). Οι δράσεις αυτές προκαλούν επιβλαβείς αναπαραγωγικές και αναπτυξιακές επιπτώσεις. Ανατομικές ανωμαλίες στα αναπαραγωγικά όργανα των ανδρών (κρυψορχία) και των γυναικών (ενδομητρίωση), προβλήματα ανδρικής υπογονιμότητας (όπως ανωριμότητα σπέρματος, μειωμένη κινητικότητα σπέρματος, βλάβη του σπερματικού DNA, μειωμένη συγκέντρωση σπέρματος), καθώς και χαμηλά επίπεδα τεστοστερόνης έχουν αναφερθεί ότι σχετίζονται στατιστικά με αυξημένες συγκεντρώσεις BPA που ανιχνεύτηκαν σε ανθρώπινα βιολογικά δείγματα (Gore et al., 2015; Rochester, 2013). Επιπλέον, το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών (Polycystic Ovary Syndrome, PCOS) και γενικότερα η δυσλειτουργία ή υπερπλασία των ωοθηκών, οι επανειλημμένες αποβολές, οι πρόωροι τοκετοί και οι ανεπιτυχείς προσπάθειες εξωσωματικής γονιμοποίησης συσχετίστηκαν με υψηλά επίπεδα BPA στις γυναίκες (Cantonwine et al., 2010; Mok-Lin et al., 2010; Rutkowska & Rachoń, 2014; Sugiura-Ogasawara et al., 2005).

Υπάρχουν επίσης ενδείξεις ότι η BPA επηρεάζει τη λειτουργία του θυρεοειδούς αδένα. Διάφορες μελέτες υποδεικνύουν συσχέτιση των επιπέδων BPA, ακόμη και σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις, με θυρεοειδοπάθειες (Fenichel et al., 2013). Θεωρείται ότι η BPA παρεμβαίνει στο μεταβολισμό των θυρεοειδικών ορμονών (Bertoli et al., 2015; Ghassabian & Trasande, 2018) και υπάρχουν αρκετές μελέτες βιοπαρακολούθησης που συσχετίζουν την έκθεση σε αυτή με αλλοιωμένα επίπεδα θυρεοειδικών ορμονών, όπως η θυροξίνη και η θυρεοειδοτρόπος ορμόνη (Geens et al., 2015; Meeker & Ferguson, 2011).

Η BPA είναι μια ένωση που προκαλεί βιολογικές επιδράσεις σε χαμηλές συγκεντρώσεις. Η έκθεση του ανθρώπου στην BPA συνδέεται με καρδιαγγειακές παθήσεις (Melzer et al., 2010), μεταβολικό σύνδρομο (Teppala et al., 2012), διαβήτη τύπου ΙΙ, υπέρταση (Shankar & Teppala, 2012), περιφερική αρτηριακή νόσο (Shankar et al., 2012), στένωση των στεφανιαίων αρτηριών (Melzer et al., 2012) και υψηλά επίπεδα χοληστερόλης (Olsén et al., 2012). Υπάρχουν επίσης ενδείξεις ότι η BPA προκαλεί μεταβολές στη λειτουργία του ήπατος (Lang et al., 2008) και των νεφρών (Li et al., 2012) και έχει συσχετιστεί θετικά με το οξειδωτικό στρες (Yang et al., 2009). Εκτός των προαναφερομένων αρνητικών επιπτώσεων, η BPA εικάζεται ότι ευθύνεται για την πρόκληση του καρκίνου του μαστού (Paulose et al., 2015).

Οι επιδράσεις της BPA εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από το στάδιο ζωής του ανθρώπου κατά το οποίο εκτίθεται σε αυτή. Οι περίοδοι αυξημένης ευαισθησίας περιλαμβάνουν ιδίως την προγεννητική, τη νεογνική και την (προ)εφηβική αναπτυξιακή φάση της ζωής του ανθρώπου (Geueke, 2015). Σε σύγκριση με τους ενήλικες, τα παιδιά είναι λιγότερο ικανά να μεταβολίζουν και να απεκκρίνουν τους ενδοκρινικούς διαταράκτες και ως εκ τούτου είναι πιο ευάλωτα στις τοξικές επιδράσεις τους (Schug et al., 2011). Τα βρέφη και τα παιδιά διατρέχουν ιδιαίτερο κίνδυνο για την υγεία τους επειδή, ενόσω το σώμα και ο εγκέφαλός τους αναπτύσσονται, οι εν λόγω χημικές ουσίες μπορούν να παρεμβαίνουν σε ευαίσθητες βιολογικές διεργασίες κατά τη διάρκεια κρίσιμων σταδίων της ανάπτυξής τους.

Η έκθεση της μητέρας κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης ενδέχεται να σχετίζεται σε ορισμένες περιπτώσεις με επιπτώσεις στην υγεία των ενήλικων απογόνων. Η προγεννητική έκθεση σε BPA σχετίζεται με μειωμένη πνευμονική λειτουργία στα παιδιά και ενδέχεται να αυξάνει τον κίνδυνο άσθματος σε κορίτσια σχολικής ηλικίας (Spanier et al., 2014). Ειδικότερα, όσον αφορά τα παιδιά, η έκθεση στη BPA επηρεάζει την ανάπτυξη του εγκεφάλου, τη λειτουργία της υπόφυσης και του θυρεοειδούς, το ανδρικό και το γυναικείο αναπαραγωγικό σύστημα, και φαίνεται να σχετίζεται με συμπεριφορικά προβλήματα και νευροαναπτυξιακές διαταραχές (Arbuckle et al., 2016; Braun, 2017; Geueke, 2015). Τα πρώτα στοιχεία μαρτυρούν ότι η αυξημένη υπερκινητικότητα και επιθετικότητα σε κορίτσια ηλικίας 2 ετών σχετίζεται με

υψηλά επίπεδα BPA (Braun et al., 2009). Επιδημιολογικές μελέτες έχουν συνδέσει την παχυσαρκία με υψηλές συγκεντρώσεις BPA στα ούρα παιδιών (Kim & Lee, 2017; Nicolucci et al., 2013).

1.1.5 Υφιστάμενοι Περιοριστικοί Κανονισμοί στην Ευρωπαϊκή Ένωση

Λόγω των πιθανών δυσμενών επιπτώσεών της στον ανθρώπινο οργανισμό, η χρήση της δισφαινόλης Α υπόκειται σε περιορισμούς στην Ευρωπαϊκή Ένωση (ΕΕ) με στόχο την προστασία της ανθρώπινης υγείας και του περιβάλλοντος. Η BPA έχει εγκριθεί για χρήση σε πλαστικά υλικά και αντικείμενα που προορίζονται να έρθουν σε επαφή με τρόφιμα στην Ευρωπαϊκή Ένωση βάσει του Κανονισμού (ΕΕ) αριθ. 10/2011 της Ευρωπαϊκής Επιτροπής. Ωστόσο, μόνο μια περιορισμένη ποσότητα των 0.05 mg BPA ανά kg τροφίμου (mg/kg) επιτρέπεται να μεταναστεύσει από το υλικό συσκευασίας στο τρόφιμο.

Τον Απρίλιο του 2023, η Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων (European Food Safety Authority, EFSA) δημοσίευσε μια επιστημονική γνωμοδότηση όσον αφορά την επανεκτίμηση των κινδύνων για τη δημόσια υγεία που σχετίζονται με την παρουσία της BPA στα τρόφιμα. Οι εμπειρογνώμονες της EFSA, αξιολογώντας όλα τα νέα επιστημονικά στοιχεία, καθιέρωσαν για τη BPA μια ανεκτή ημερήσια πρόσληψη (Tolerable Daily Intake, TDI) των 0.2 νανογραμμαρίων ανά κιλό σωματικού βάρους ανά ημέρα (0.2 ng/kg bw/day). Το νεοσύστατο TDI είναι περίπου 20000 φορές χαμηλότερο από το προγενέστερο προσωρινό επίπεδο των 4 μικρογραμμαρίων ανά κιλό σωματικού βάρους ανά ημέρα (4 μg/kg bw/day), το οποίο είχε οριστεί στην αξιολόγηση της BPA το 2015. Συγκρίνοντας το νέο TDI με τις εκτιμήσεις της διατροφικής έκθεσης σε BPA, οι εμπειρογνώμονές της EFSA κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι οι καταναλωτές με μέτρια και υψηλή έκθεση σε BPA όλων των ηλικιακών ομάδων ξεπερνούσαν το νέο ανεκτό επίπεδο των 0.2 ng/kg bw/day. Υπό αυτή την έννοια, τα επίπεδα έκθεσης BPA θα μπορούσαν να αποτελέσουν κίνδυνο για την υγεία όλων των ηλικιακών ομάδων του γενικού πληθυσμού (EFSA CEP Panel et al., 2023).

Βέβαια, εκτός από το καθορισμένο όριο, πολλές δικαιοδοσίες έχουν λάβει πρόσθετα μέτρα για τη μείωση της έκθεσης στη BPA σε προληπτική βάση. Τον Ιανουάριο του 2011, η Ευρωπαϊκή Επιτροπή εξέδωσε την Οδηγία 2011/8/ΕΕ, με την οποία απαγορεύτηκε η χρήση της BPA για την κατασκευή πλαστικών βρεφικών μπιμπερό σε όλη την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκή Επιτροπή, 2011). Επιπλέον, η BPA απαγορεύτηκε στα πλαστικά μπουκάλια και τις συσκευασίες που περιέχουν τρόφιμα για βρέφη και παιδιά κάτω των τριών ετών από τον Σεπτέμβριο του 2018. Περιορισμός όσον αφορά τη BPA στο θερμικό χαρτί τέθηκε σε ισχύ τον Ιανουάριο του 2020 στην ΕΕ, καταργώντας ουσιαστικά τη χρήση της. Έκτοτε τα θερμικά χαρτιά δεν πρέπει να περιέχουν BPA σε συγκέντρωση ίση ή μεγαλύτερη από 0.02% κατά βάρος (% w/w) (Ευρωπαϊκή Επιτροπή, 2016).

Εξαιτίας του προβληματισμού της παγκόσμιας κοινότητας σχετικά με τις επιπτώσεις της BPA στην ανθρώπινη υγεία, η χρήση της σε καταναλωτικά προϊόντα τείνει να αντικαθίσταται από ανάλογα BPA, τη δισφαινόλη S (Bisphenol S, BPS) και τη δισφαινόλη F (Bisphenol F, BPF). Τα μοριακά ανάλογα της BPA έχουν παρόμοιες φυσικοχημικές ιδιότητες με τη δισφαινόλη Α, γεγονός το οποίο τα καθιστά κατάλληλους υποψηφίους για την αντικατάστασή της σε διάφορες βιομηχανικές εφαρμογές. Δυστυχώς όμως, αυτή η ομοιότητα οδηγεί επίσης σε αρνητικές επιπτώσεις για την ανθρώπινη υγεία.

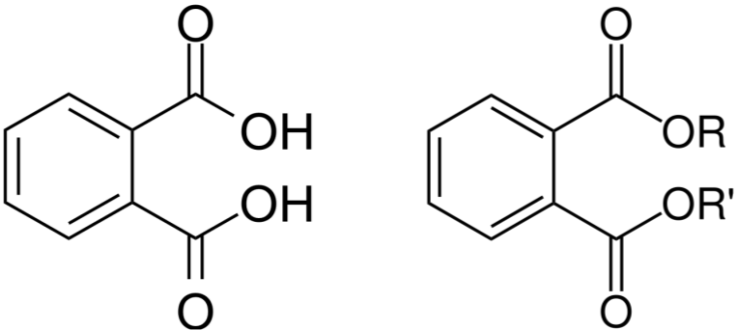
Η χρήση BPA στην κατασκευή πολυανθρακικών μπουκαλιών και δοχείων αποθήκευσης τροφίμων έχει εγείρει ανησυχίες, οδηγώντας στην ανάπτυξη και χρήση πλαστικών «χωρίς BPA» σε διάφορα σκευάσματα. Πλέον, τα περισσότερα πλαστικά μπουκάλια ποτών μιας χρήσης είναι

στην πραγματικότητα κατασκευασμένα από τερεφθαλικό πολυαιθυλένιο (Polyethylene Terephthalate, PET), το οποίο είναι εντελώς απαλλαγμένο από BPA.

1.2 Φθαλικοί Εστέρες & Κύριοι Μεταβολίτες τους

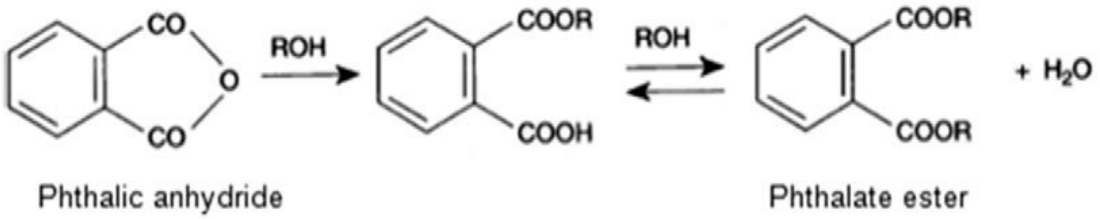
1.2.1 Χημικές Ιδιότητες, Παραγωγή & Κατηγοριοποίηση

Οι φθαλικοί εστέρες (Phthalate Esters, PEs), κοινώς γνωστοί ως φθαλικές ενώσεις, είναι μια ομάδα διεστέρων του 1,2-βενζοδικαρβοξυλικού οξέος [ορθο-φθαλικό οξύ με μοριακό τύπο $C_6H_4(COOH)_2$]. Σε γενικές γραμμές, η χημική δομή των φθαλικών εστέρων αποτελείται από ένα βενζολικό δακτύλιο και δύο εστερικές ομάδες, οι οποίες βρίσκονται συνδεδεμένες σε γειτονικά άτομα άνθρακα του αρωματικού δακτυλίου (ορθο-ισομερές) (**Εικόνα 3**).



Εικόνα 3. Χημική δομή του φθαλικού οξέος (αριστερά) και γενική δομή των φθαλικών εστέρων (δεξιά) (Πηγές ιστοσελίδες: https://el.wikipedia.org/wiki/Φθαλικές_ενώσεις; https://el.wikipedia.org/wiki/Φθαλικό_οξύ).

Οι φθαλικοί εστέρες αποτελούν μια οικογένεια συνθετικών χημικών ενώσεων που παράγονται από την αντίδραση εστεροποίησης του φθαλικού ανυδρίτη με τις κατάλληλες αλκοόλες υπό την παρουσία διαφόρων καταλυτών. Η αντίδραση αυτή πραγματοποιείται σε δύο στάδια: 1) την αλκοόλυση του φθαλικού ανυδρίτη προς σχηματισμό του μονοεστέρα, ένα γρήγορο και μη αντιστρεπτό στάδιο, και 2) τη μετατροπή του μονοεστέρα σε διεστέρα, η οποία είναι μια αντιστρεπτή αντίδραση και απαιτεί καταλύτη (Mariana et al., 2016) (**Εικόνα 4**).



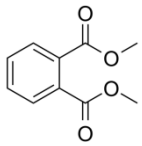
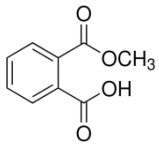
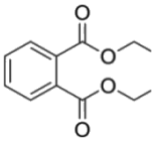
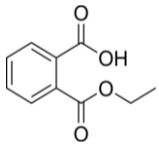
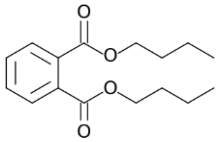
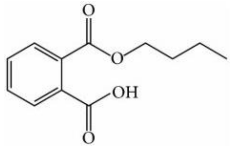
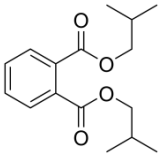
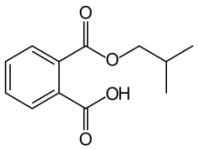
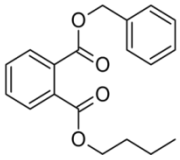
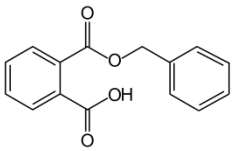
Εικόνα 4. Σύνθεση φθαλικών εστέρων μέσω της αντίδρασης εστεροποίησης μεταξύ του φθαλικού ανυδρίτη και των κατάλληλων αλκοολών (Πηγή: Katsikantami et al., 2016).

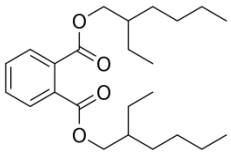
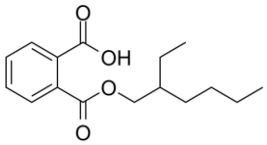
Οι υδρογονανθρακικές αλυσίδες των εστερικών ομάδων προέρχονται από τις αλκοόλες, οι οποίες χρησιμοποιούνται στην σύνθεση του εκάστοτε φθαλικού εστέρα, είναι είτε γραμμικές ή διακλαδισμένες αλκυλικές αλυσίδες (διαλκυλικοί εστέρες φθαλικού οξέος), είτε συνδυασμός άρυλο ομάδας και γραμμικής ή διακλαδισμένης αλκυλικής αλυσίδας (αλκυλ αρυλικοί εστέρες φθαλικού οξέος), και φέρουν από 1 έως 13 άτομα άνθρακα (C1—C13). Η φύση και το μήκος των ανθρακικών αλυσίδων των πλευρικών ομάδων OR και OR' καθορίζουν την ονομασία και τις διαφορετικές φυσικοχημικές ιδιότητες μεταξύ των φθαλικών εστέρων (Fernández et al., 2011; Huang et al., 2013). Τα πολικά οξυγόνα των καρβαλκοξυομάδων συνεισφέρουν ελάχιστα στις

ιδιότητες των φθαλικών ενώσεων, εκτός εάν αλκυλικές αλυσίδες R και R' είναι πολύ μικρές (π.χ. ομάδες μεθυλίου ή αιθυλίου). Οι φθαλικές ενώσεις εμφανίζουν χαμηλή υδατοδιαλυτότητα, υψηλή διαλυτότητα σε έλαια και χαμηλή πτητικότητα.

Στην ομάδα των φθαλικών ενώσεων περιλαμβάνεται ένας μεγάλος αριθμός χημικών ενώσεων με διαφορετικές ιδιότητες και εφαρμογές. Οι φθαλικοί εστέρες κατηγοριοποιούνται σε δύο διακριτές ομάδες ανάλογα με το μήκος της ανθρακικής αλυσίδας των πλευρικών τους ομάδων OR και OR'. Στους φθαλικούς εστέρες χαμηλού μοριακού βάρους (Low Molecular Weight, LMW) ανήκουν εκείνοι που έχουν ανθρακικές αλυσίδες με 1-6 άτομα άνθρακα και χαρακτηρίζονται από υψηλότερους συντελεστές βιοσυσσώρευσης. Στους φθαλικούς εστέρες LMW συμπεριλαμβάνονται μεταξύ άλλων ο φθαλικός διμεθυλεστέρας (DMP), ο φθαλικός διαιθυλεστέρας (DEP), ο φθαλικός διβουτυλεστέρας (DBP) και ο φθαλικός διισοβουτυλεστέρας (DiBP). Στους φθαλικούς εστέρες υψηλού μοριακού βάρους (High Molecular Weight, HMW) ανήκουν εκείνοι που έχουν ανθρακικές αλυσίδες με 7-13 άτομα άνθρακα ή μία δομή δακτυλίου και χαρακτηρίζονται από χαμηλότερους συντελεστές βιοσυσσώρευσης σε σχέση με τους φθαλικούς εστέρες LMW. Στους φθαλικούς εστέρες HMW συμπεριλαμβάνονται μεταξύ άλλων ο φθαλικός δι-(2-αιθυλεξυλ) εστέρας (DEHP) και ο φθαλικός βενζυλ-βουτυλεστέρας (BBzP) (**Πίνακας 1**).

Πίνακας 1. Ονομασίες και χημικές δομές των φθαλικών εστέρων και των αντίστοιχων κύριων μεταβολιτών τους που μελετήθηκαν στην παρούσα πτυχιακή εργασία.

Φθαλικός εστέρας	Σύντμηση	Χημική δομή	Κύριος μεταβολίτης	Σύντμηση	Χημική δομή
Χαμηλού Μοριακού Βάρους					
Φθαλικός διμεθυλεστέρας	DMP		Φθαλικός μονομεθυλεστέρας	MMP	
Φθαλικός διαιθυλεστέρας	DEP		Φθαλικός μονοαιθυλεστέρας	MEP	
Φθαλικός διβουτυλεστέρας	DBP		Φθαλικός μονοβουτυλεστέρας	MBP	
Φθαλικός διισοβουτυλεστέρας	DiBP		Φθαλικός μονοϊσοβουτυλεστέρας	MiBP	
Υψηλού Μοριακού Βάρους					
Φθαλικός βενζυλ-βουτυλεστέρας	BBzP ή BBP		Φθαλικός μονοβενζυλεστέρας	MBzP	

Φθαλικός δι-(2-αιθυλεξυλ) εστέρας	DEHP		Φθαλικός μονο-(2-αιθυλεξυλ) εστέρας	MEHP	

1.2.2 Χρήση & Έκθεση

Υπάρχει πληθώρα φθαλικών εστέρων, οι οποίοι χρησιμοποιούνται σε μια ευρεία ποικιλία βιομηχανικών και καταναλωτικών προϊόντων. Οι φθαλικοί εστέρες υψηλού μοριακού βάρους χρησιμοποιούνται κυρίως στη βιομηχανία ως πλαστικοποιητές για την βελτίωση της μαλακότητας, της ευκαμψίας, της ελαστικότητας και της ανθεκτικότητας άκαμπτων πολυμερών, όπως το πολυβινυλοχλωρίδιο (PVC) (Katsikantami et al., 2016). Το PVC χρησιμοποιείται ευρύτατα σε πλαστικές διαφανείς συσκευασίες και εξοπλισμό επεξεργασίας τροφίμων, καθώς και στις μεμβράνες περιτυλίγματός τους (μεμβράνες και φύλλα συσκευασίας) (Goulas et al., 2007; Kueseng et al., 2007). Τα πλαστικά PVC προορίζονται για την παραγωγή οικοδομικών και μονωτικών υλικών, όπως δάπεδα βινυλίου, πλακάκια βινυλίου, κεραμοσκεπές, κονιάματα, σύρματα και καλώδια, υλικά από καουτσούκ, επενδύσεις τοίχων (ταπετσαρίες), χρώματα και βερνίκια τοίχων και επίπλων, καθώς και στεγανωτικές μεμβράνες στεγών (ECB, 2007; Wams, 1987). Επιπλέον, τα πλαστικά PVC βρίσκουν εφαρμογή σε ευρύ φάσμα προϊόντων οικιακής χρήσης, όπως μοκέτες (χαλιά βινυλίου), μουσαμάδες (κουρτίνες ντους) και αυτοκόλλητες μεμβράνες, ταινίες και ετικέτες. Οι φθαλικές ενώσεις χρησιμοποιούνται συχνά σε υγρά απορρυπαντικά, αποσμητικά χώρου, κόλλες, μελάνια, βιομηχανικά λιπαντικά, χαρτιά και χαρτόνια, συνθετικό δέρμα, αδιάβροχα ρούχα, παπούτσια, ταπετσαρίες αυτοκινήτων και μαλακά πλαστικά δολώματα αλιείας (Braun et al., 2013; Dobrzyńska et al., 2012; Kim & Park, 2014). Τα πλαστικά PVC χρησιμοποιούνται επίσης σε πιπίλες, πλαστικά παιχνίδια (κούκλες) και είδη θαλάσσης (φουσκωτοί τροχοί, μπάλες, μπρατσάκια, κ.λπ.). Υπάρχουν ιατρικές συσκευές και αναλώσιμα τα οποία εμπεριέχουν PVC, και κατ' επέκταση φθαλικούς εστέρες, όπως οι καθετήρες, οι συσκευές μετάγγισης αίματος, οι αναπνευστήρες, τα συστήματα παροχής οξυγόνου, ρινογαστρικής διασωλήνωσης και παράπλευρης καρδιαγγειακής κυκλοφορίας, ο εξοπλισμός αιμοκάθαρσης και παροχής εντερικής σίτισης, τα γάντια βινυλίου, οι ασκοί συλλογής αίματος, καθώς και άλλες πλαστικές συσκευές από PVC (FDA, 2001; Subotic et al., 2007). Ωστόσο, στο σημείο αυτό πρέπει να σημειωθεί ότι δεν υπάρχουν στοιχεία που να αποδεικνύουν πως ο BBzP χρησιμοποιείται σε παιχνίδια ή ιατρικές συσκευές (U.S. EPA, 2007).

Σε αντίθεση με τους φθαλικούς εστέρες HMW, οι φθαλικοί εστέρες χαμηλού μοριακού βάρους δεν χρησιμοποιούνται ως πλαστικοποιητές σε πλαστικά από PVC. Χρησιμοποιούνται κυρίως ως πρόσθετα σε προϊόντα προσωπική φροντίδας (ECPI, 2014; FDA, 2010). Τα προϊόντα προσωπική φροντίδας που περιέχουν φθαλικές ενώσεις περιλαμβάνουν τα προϊόντα ατομικής υγιεινής και περιποίησης ενηλίκων, καθώς και τα παιδικά προϊόντα ατομικής φροντίδας, όπως υγρά σαπούνια, σαμπουάν, λοσιόν, ενυδατικές κρέμες, αποσμητικά, αρωματικά aftershaves, πούδρες, είδη μακιγιάζ (σκιές ματιών), σπρέι μαλλιών, βερνίκια νυχιών, αρώματα και πολλά άλλα είδη καλλυντικών (Sathyanarayana et al., 2008). Συγκεκριμένα, στα αρώματα η παρουσία των φθαλικών εστέρων οφείλεται τόσο στη χρήση τους ως διαλύτες όσο και στη χρήση τους ως στερεωτικά και σταθεροποιητικά των αιθέριων ελαίων, με σκοπό να μειώσουν τον ρυθμό εξάτμισής τους (Bang et al., 2011; Wang et al., 2019). Οι φθαλικοί εστέρες με μικρές πλευρικές αλκυλομάδες χρησιμοποιούνται ως πρόσθετα για τη συγκράτηση του χρώματος σε καλλυντικά και ως διαλύτες σε εντομοαπωθητικά. Επιπρόσθετα, οι φθαλικοί εστέρες LMW απαντώνται στα

πλαστικά περιβλήματα πολλών φαρμάκων, φυτικών παρασκευασμάτων και συμπληρωμάτων διατροφής, όπως, για παράδειγμα, σε δισκία με εντερική επικάλυψη (Hauser et al., 2004). Οι φθαλικές ενώσεις χρησιμοποιούνται συχνά ως συστατικά των κολλών Latex και ως διαλύτες σε βαφές και τυπογραφικά μελάνια.

Ως αποτέλεσμα της παρουσίας φθαλικών εστέρων σε κοινά καταναλωτικά προϊόντα, η μεγάλη πλειονότητα των ανθρώπων εκτίθεται επί μονίμου βάσεως σε χαμηλές δόσεις φθαλικών ενώσεων. Λόγω της ευρείας χρήσης των φθαλικών ενώσεων σε πλαστικά υλικά συσκευασίας από PVC, η πρόσληψη τροφίμων, ποτών και πόσιμου νερού μολυσμένων με αυτές τις χημικές ουσίες αποτελεί την κύρια πηγή έκθεσης του ανθρώπου σε φθαλικούς εστέρες HMW, ειδικά σε DEHP (Al-Saleh et al., 2017; Kavlock et al., 2002; Wang et al., 2019). Δεδομένου ότι η αλληλεπίδραση του πλαστικοποιητή με τα μακρομόρια της πολυμερικής ρητίνης δεν είναι μόνιμη (Kubwabo et al., 2009; Wilkes et al., 2005), οι εν λόγω χημικές ουσίες μπορούν να μεταναστεύσουν από τον εξοπλισμό επεξεργασίας, τα υλικά συσκευασίας ή τα δοχεία προς τα τρόφιμα και τα ποτά που βρίσκονται σε επαφή με αυτά τα πλαστικά προϊόντα και τα οποία περιέχουν φθαλικές ενώσεις (Katsikantami et al., 2020). Άλλωστε, εξαιτίας της λιπόφιλης φύσης των φθαλικών εστέρων, η διείσδυσή τους σε τρόφιμα με υψηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά, παραδείγματος χάριν το κρέας και το τυρί, και σε ποτά με υψηλή περιεκτικότητα σε αλκοόλ καθίσταται πολύ εύκολη (Cao, 2010; Kappenstein et al., 2012). Τα παιδιά δύναται να εκτεθούν σε φθαλικούς εστέρες HMW μέσω της άμεσης επαφής του στόματος με πλαστικά παιχνίδια ή προϊόντα που συνίστανται από φθαλικές ενώσεις.

Τα καλλυντικά και τα προϊόντα προσωπικής φροντίδας συμβάλλουν σημαντικά στην έκθεση του ανθρώπου σε φθαλικούς εστέρες χαμηλού μοριακού βάρους, κυρίως σε DEP, διότι μέσω της χρήσης αυτών επέρχεται άμεση επαφή των εν λόγω χημικών ουσιών με το δέρμα (Σαλαπασίδου, 2009). Η έκθεση του ανθρώπου σε φθαλικούς εστέρες μπορεί επίσης να συμβαίνει διά της δερματικής επαφής με υφάσματα και ιατροτεχνολογικά προϊόντα που περιέχουν τις εν λόγω χημικές ουσίες, καθώς και με τα πλαστικά μέρη του δοχείου ή του συστήματος ψεκασμού των αρωμάτων (Luo et al., 2012). Πιο συγκεκριμένα, τα ενδύματα διαδραματίζουν είτε προστατευτικό είτε επιταχυντικό ρόλο στην ανθρώπινη έκθεση σε φθαλικές ενώσεις μέσω της δερματικής επαφής (Gong et al., 2016). Έχει βρεθεί ότι τόσο τα επίπεδα των φθαλικών ενώσεων στον ρουχισμό όσο και στο υποκείμενο δέρμα αυξάνονται με την αύξηση του χρόνου επαφής. Οι φθαλικοί εστέρες LMW απομακρύνονται επαρκώς από τα ρούχα με το ξέπλυμα (Katsikantami et al., 2016). Η παρεντερική ή αλλιώς ενδοφλέβια χορήγηση φαρμάκων συμπεριλαμβάνεται στις οδούς έκθεσης σε φθαλικούς εστέρες (Kim & Park, 2014).

Η εισπνοή του περιβάλλοντος αέρα ή της σκόνης έχει αποδειχθεί ότι είναι μια σημαντική οδός έκθεσης στις φθαλικές ενώσεις, καθότι πολλοί πτητικοί πλαστικοποιητές μπορούν εύκολα να απορροφώνται από τα αιωρούμενα σωματίδια ή να κατακάθονται στη σκόνη (de Boer et al., 2016). Ο αέρας εσωτερικών χώρων μολύνεται με φθαλικούς εστέρες λόγω της παρουσίας τους στα πλαστικά προϊόντα που βρίσκονται εντός των δωματίων (Katsikantami et al., 2016; Sukiene et al., 2016). Τα παιδιά είναι πιο πιθανόν να εκτεθούν σε σωματίδια φθαλικών ενώσεων που υπάρχουν στη σκόνη, λόγω της συνήθειάς τους να βάζουν τα χέρια στο στόμα. Σημαντικά κλάσματα πλαστικοποιητών απελευθερώνονται στην ατμόσφαιρα και τελικά συσσωρεύονται στα επιφανειακά ύδατα, οδηγώντας σε εκτεταμένη παρουσία φθαλικών εστέρων στο νερό της βρύσης (Li et al., 2019; Radwan et al., 2020).

1.2.3 Μεταβολισμός & Απέκκριση

Η μελέτη των φθαλικών εστέρων καθίσταται δυσχερής λόγω του σύντομου χρόνου ημίσειας ζωής τους μέσα στον ανθρώπινο οργανισμό, ο οποίος είναι μικρότερος των 24 ωρών. Ωστόσο, οι αντίστοιχοι μεταβολίτες (Phthalate Metabolites, PMs) τους φαίνεται να αποτελούν χρήσιμους βιοδείκτες για την εκτίμηση της ανθρώπινης έκθεσης σε φθαλικές ενώσεις. Μετά την είσοδό τους στον ανθρώπινο οργανισμό, οι διεστέρες του φθαλικού οξέος υδρολύονται ταχέως προς τους αντίστοιχους μονοεστέρες τους (μεταβολικές αντιδράσεις Φάσης Ι) μέσω μιας διαδικασίας που καταλύεται από λιπάσες και εστεράσες στο έντερο και σε άλλους ιστούς του ανθρώπινου σώματος (Ventrice et al., 2013). Οι φθαλικοί μονοεστέρες είναι οι κύριοι μεταβολίτες και οι πιο βιοδραστικοί. Οι φθαλικοί εστέρες LMW απεκκρίνονται κυρίως στα ούρα και τα κόπρανα ως ελεύθεροι μονοεστέρες. Στον αντίποδα, οι φθαλικοί μονοεστέρες HMW υφίστανται περαιτέρω μεταβολισμό, μέσω υδροξυλίωσης ή οξείδωσης της λιπόφιλης, αλειφατικής πλευρικής αλυσίδας τους, για να παραχθεί μια σειρά οξειδωτικών μεταβολιτών (Kim & Park, 2014). Η δεύτερη μεταβολική φάση καταλύεται από το ένζυμο UDP-γλυκουρονοσυλ-τρανσφεράση και περιλαμβάνει τη σύζευξη των οξειδωτικών μεταβολιτών με γλυκουρονικό οξύ προς τον σχηματισμό των περισσότερο υδρόφιλων γλυκουρονιδιωμένων μεταβολιτών (μεταβολικές αντιδράσεις Φάσης ΙΙ). Οι φθαλικοί εστέρες HMW απεκκρίνονται στα ούρα και τα κόπρανα κυρίως ή και αποκλειστικά ως γλυκουρονιδιωμένοι μεταβολίτες (Hauser et al., 2004; Kim & Park, 2014; Ventrice et al., 2013). Μη μεταβολισμένες φθαλικές ενώσεις ενδέχεται να είναι επίσης παρούσες στα ούρα (Genuis et al., 2012; Jornet-Martínez et al., 2015).

Οι φθαλικοί εστέρες θεωρούνται ότι είναι χημικές ουσίες με χαμηλή συσσώρευση στον λιπώδη ιστό. Εντούτοις, μια μελέτη σχετικά με τον μεταβολισμό του φθαλικού δι-(2-αιθυλεξυλ) εστέρα (DEHP) σε έναν άνδρα εθελοντή κατέδειξε ότι η απέκκρισή του στα ούρα μετά από 48 ώρες ήταν 74,3% της χορηγούμενης δόσης (Koch et al., 2005). Οι ελεύθεροι φθαλικοί μονοεστέρες αποτελούν χρήσιμους βιοδείκτες έκθεσης για την αξιολόγηση των παρουσίας των φθαλικών εστέρων σε δείγματα τριχών κεφαλής (Chang et al., 2013). Η εναπόθεσή των φθαλικών ενώσεων και των αντίστοιχων μεταβολιτών τους στο λιπώδη ιστό, όπως, παραδείγματος χάριν στα ανθρώπινα μαλλιά, εξακολουθεί να αποτελεί αντικείμενο έρευνας.

1.2.4 Επιδράσεις στην ανθρώπινη υγεία

Τις τελευταίες δύο δεκαετίες, ολοένα και περισσότερα στοιχεία έχουν υποδείξει συσχέτιση μεταξύ ενός συγκεκριμένου επιπέδου έκθεσης σε πλαστικοποιητές και διαφόρων χρόνιων προβλημάτων υγείας (Li et al., 2021). Οι ενώσεις που προκαλούν τοξικότητα υποτίθεται ότι είναι οι ελεύθεροι φθαλικοί μονοεστέρες, ενώ οι γλυκουρονιδιωμένοι μεταβολίτες τους θεωρούνται μη τοξικοί (Stein et al., 2013). Παρά το γεγονός ότι έως σήμερα δεν έχουν ανακαλυφθεί όλες οι επιπτώσεις των φθαλικών εστέρων στην ανθρώπινη υγεία, φαίνεται ότι επιδρούν αρνητικά κυρίως στο ενδοκρινικό, το αναπαραγωγικό και το ανοσοποιητικό σύστημα (Καστανιάς & Τοκμακίδης, 2012).

Στο πλαίσιο αυτό, ορισμένες φθαλικές ενώσεις έχουν χαρακτηριστεί ως ενδοκρινικοί διαταράκτες (EDCs) (Gore et al., 2015). Οι EDCs είναι χημικές ουσίες που παρεμβαίνουν στη φυσιολογική λειτουργία του ενδοκρινικού συστήματος και διαταράσσουν την ομοιόσταση, επιφέροντας δυσμενείς επιπτώσεις στην ανάπτυξη και την αναπαραγωγή (EC JRC, 2008; EFSA, 2005). Λόγω των ιδιοτήτων τους να διαταράσσουν το ενδοκρινικό σύστημα και να προκαλούν επιβλαβείς αναπαραγωγικές επιπτώσεις, η ECHA έχει προσθέσει τους ορθο-φθαλικούς εστέρες DBP, DiBP, BBzP και DEHP στον κατάλογο υποψηφίων ουσιών που εγείρουν πολύ μεγάλη

ανησυχία (SVHCs) (ECHA, n.d.). Οι εν λόγω χημικές ουσίες είτε ανταγωνίζονται τη δράση των ενδογενών ορμονών καταλαμβάνοντας τους υποδοχείς ή τις πρωτεΐνες μεταφοράς των τελευταίων είτε τροποποιούν τον μεταβολισμό ή τη βιοσύνθεση των ενδογενών ορμονών, επηρεάζοντας τελικά τη σύμπραξη των μεταγραφικών παραγόντων και μεταβάλλοντας τη γονιδιακή έκφραση στα κύτταρα (Casals-Casas & Desvergne, 2011; Tabb & Blumberg, 2006; Talsness et al., 2009). Θεωρείται ότι οι φθαλικοί εστέρες, ιδίως ο MEHP, παρεμβαίνουν στο μεταβολισμό των θυρεοειδικών ορμονών (Ghassabian & Trasande, 2018) και υπάρχουν αρκετές μελέτες βιοπαρακολούθησης που συσχετίζουν την έκθεση σε αυτούς με αλλοιωμένα επίπεδα θυρεοειδικών ορμονών, όπως η θυροξίνη (Huang et al., 2007; Meeker & Ferguson, 2011).

Το στάδιο ανάπτυξης του ανθρώπινου οργανισμού και η δόση της έκθεσης φαίνεται να είναι πολύ σημαντικοί παράγοντες οι οποίοι καθορίζουν το σύστημα που θα ζημιωθεί και την έκταση των δυσμενών συνεπειών (WHO & UNEP, 2013). Τα έμβρυα, τα βρέφη και τα παιδιά είναι πιο ευάλωτα στις τοξικές επιδράσεις των φθαλικών ενώσεων και η έκθεσή τους σε αυτές μπορεί να επιφέρει μόνιμες επιβλαβείς επιπτώσεις στην υγεία τους που γίνονται αντιληπτές μετά τη γέννηση ή ακόμη και στη μετέπειτα ζωή τους (Huang et al., 2009). Το ανοσοποιητικό σύστημα και οι πνεύμονες συνεχίζουν να αναπτύσσονται μέχρι την ηλικία των δέκα ετών και το κεντρικό νευρικό σύστημα μαζί με το αναπαραγωγικό σύστημα αναπτύσσονται πλήρως κατά την ενηλικίωση (WHO & UNEP, 2013).

Η πρώιμη έκθεση του ανθρώπου σε φθαλικούς εστέρες μπορεί να αρχίσει ήδη κατά την ενδομήτρια ζωή, καθώς τέτοιες ουσίες, όπως έχει αποδειχθεί, διαπερνούν τον ομφαλοπλακουντιακό φραγμό με αποτέλεσμα την πρόκληση ποικίλων και σύνθετων προβλημάτων υγείας (Καστανιάς & Τοκμακίδης, 2012). Δεν είναι ακόμη σαφές με ποιον τρόπο η έκθεση των εμβρύων και των νεογνών σε φθαλικές ενώσεις επηρεάζει την υγεία τους στα μετέπειτα στάδια της ζωής τους. Η προγεννητική έκθεση σε DEP και DEHP μπορεί να επηρεάσει αρνητικά την ανθρώπινη υγεία μέσω γονιδιωματικής αστάθειας. Ειδικότερα, η έκθεση της μητέρας σε DEHP κατά το τρίτο τρίμηνο της εγκυμοσύνης σχετίζεται αντιστρόφως ανάλογα με τη μεθυλίωση του DNA στο αίμα 9χρονων παιδιών, γεγονός το οποίο οδηγεί σε μεταβολές στην έκφραση των γονιδίων τους (Huen et al., 2016). Η προγεννητική έκθεση σε φθαλικές ενώσεις μπορεί να επηρεάσει δυσμενώς την ανάπτυξη του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος (ΚΝΣ) του εμβρύου και σχετίζεται με νευροσυμπεριφορικές διαταραχές και σύνδρομα σε παιδιά. Τα νευροαναπτυξιακά ελλείμματα, οι νευροψυχολογικές διαταραχές και η νοητική υστέρηση στα παιδιά σχετίζονται με τη μειωμένη δραστηριότητα του θυρεοειδούς κατά τη διάρκεια της κύησης, η οποία ενδέχεται εν μέρει να προκαλείται από τη δράση των EDCs, όπως οι φθαλικές ενώσεις (Katsikantami et al., 2016). Η προγεννητική έκθεση σε DBP και DEHP σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης της Διαταραχής Ελλειμματικής Προσοχής και Υπερκινητικότητας (ΔΕΠΥ), επιθετική και παραβατική συμπεριφορά, και προβλήματα εναντίωσης και προκλητικότητας (Kobrosly et al., 2014; Lien et al., 2015; Park et al., 2014). Οι φθαλικές ενώσεις έχουν επίσης αντίκτυπο στη νοημοσύνη των παιδιών σχολικής ηλικίας. Πρόσφατες μελέτες αναφέρουν ότι η προγεννητική έκθεση σχετίζεται με χαμηλό Δείκτη Νοημοσύνης (Intelligence Quotient, IQ) σε παιδιά ηλικίας μεταξύ 6 και 10 ετών. Υπάρχουν στοιχεία ότι η προγεννητική έκθεση σε DBP, DiBP και DEHP συνδέεται αντιστρόφως ανάλογα με τη λεκτική κατανόηση του παιδιού, την ταχύτητα επεξεργασίας, τον αντιληπτικό συλλογισμό και τη λειτουργική μνήμη (Cho et al., 2010; Factor-Litvak et al., 2014). Η έκθεση της μητέρας σε DEHP κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης συσχετίζεται θετικά με σωματικές ενοχλήσεις, όπως πονοκέφαλο, και χαμηλότερα συμπτώματα άγχους στα κορίτσια (Kobrosly et al., 2014).

Υπάρχουν επιστημονικά δεδομένα που δεικνύουν ότι η δράση των φθαλικών εστέρων διαταράσσει πρώτιστα την αναπτυξιακή διαδικασία των βρεφών και των παιδιών με

αποτέλεσμα την πρόκληση δυσμενών επιπτώσεων στην υγεία τους. Σύμφωνα με πρόσφατες μελέτες βιοπαρακολούθησης σε ανθρώπους, οι φθαλικές ενώσεις έχει διαπιστωθεί ότι επιταχύνουν την έναρξη της εφηβείας στα κορίτσια και καθυστερούν την εφηβική ανάπτυξη στα αγόρια (Shi et al., 2015; Xie et al., 2015; Zhang et al., 2015). Πιο συγκεκριμένα, η πρόωρη έναρξη της εμμηναρχής και η πρώιμη θηλαρχή σχετίζονται με τους μεταβολίτες φθαλικών εστέρων MMP, MEP και MEHP στα ούρα κοριτσιών ηλικίας μεταξύ 6 και 14 ετών (Shi et al., 2015; Zhang et al., 2015). Παρόλο που δεν είναι σαφές αν οι επιδράσεις στο χρονισμό της εφηβείας προέρχονται από την ενδομήτρια έκθεση, φαίνεται ότι η έκθεση κατά την παιδική ηλικία είναι εξίσου σημαντική με την προγεννητική έκθεση (Katsikantami et al., 2016). Ανατομικές ανωμαλίες στα αναπαραγωγικά όργανα των ανδρών (κρυψορχία) και των γυναικών (ενδομητρίωση) έχουν αναφερθεί ότι σχετίζονται στατιστικά με αυξημένες συγκεντρώσεις φθαλικών ενώσεων που ανιχνεύτηκαν σε ανθρώπινα βιολογικά δείγματα (Gore et al., 2015; Mariana et al., 2016). Οι ορθο-φθαλικοί εστέρες DBP, DiBP, BBzP και DEHP ασκούν αντι-ανδρογονικές επιδράσεις στα αγόρια, γεγονός το οποίο ενδέχεται να οδηγήσει σε υπογονιμότητα στην ενήλικη ζωή τους. Οι αυξημένες συγκεντρώσεις PMs στα αγόρια σχετίζονται με χαμηλότερα επίπεδα τεστοστερόνης στον ορό του αίματος τους (Xie et al., 2015).

Τα αυξημένα επίπεδα PMs στα ούρα σε παιδιά ηλικίας μεταξύ 6 και 11 ετών συνδέονται με μαθησιακά και συμπεριφορικά προβλήματα, και ειδικά ο MBzP σχετίζεται με συναισθηματικά συμπτώματα στα κορίτσια (Arbuckle et al., 2016). Υπάρχουν μερικές ενδείξεις ότι ο μεταβολισμός των φθαλικών ενώσεων σχετίζεται με τη Διαταραχή Αυτιστικού Φάσματος (ΔΑΦ) (Stein et al., 2013). Οι μεταβολίτες των φθαλικών εστέρων αποτοξινώνονται μέσω της οδού της γλυκουρονιδίωσης, αλλά αυτή η διεργασία διακυβεύεται κατά κάποιο τρόπο στα άτομα με ΔΑΦ (Katsikantami et al., 2016).

Αρκετές μελέτες έχουν υποδείξει μια σύνδεση μεταξύ της έκθεσης σε φθαλικές ενώσεις και της παιδικής παχυσαρκίας. Οι MEP και MEHP στα ούρα παιδιών ηλικίας μεταξύ 8 και 15 ετών συσχετίζονται θετικά με το Δείκτη Μάζας Σώματος (ΔΜΣ) και την Περίμετρο Μέσης (ΠΜ) που χρησιμοποιούνται ως δείκτες παχυσαρκίας (Wang et al., 2013). Ωστόσο, σε νεότερα παιδιά ηλικίας μεταξύ 1 και 7 ετών, ο ΔΜΣ συσχετίζεται αρνητικά με την προγεννητική έκθεση σε MBzP και μεταβολίτες DEHP (Valvi et al., 2015). Επιπλέον, έρευνα από το Brigham and Women's Hospital υποστηρίζει ότι υπάρχει συσχετισμός ανάμεσα στις αυξημένες συγκεντρώσεις φθαλικών εστέρων στον οργανισμό και τον αυξημένο κίνδυνο εκδήλωσης διαβήτη τύπου ΙΙ σε γυναίκες.

Οι μεταβολίτες DEHP σχετίζονται σημαντικά με υψηλή συστολική αρτηριακή πίεση σε παιδιά και εφήβους ηλικίας 6 έως 19 ετών (Trasande & Attina, 2015; Trasande et al., 2013). Επιδημιολογικές μελέτες σε ανθρώπους έχουν δείξει ότι η επαναλαμβανόμενη έκθεση των παιδιών στις φθαλικές ενώσεις πιθανώς προκαλεί προβλήματα στη λειτουργία του ήπατος και των νεφρών (Hauser & Calafat, 2005).

Η έκθεση των παιδιών σε BBzP και DEHP έχει συνδεθεί με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης αλλεργικής ρινίτιδας, άσθματος και εκζέματος (Bornehag et al., 2004). Η παρουσία αυτών των μεταβολιτών φθαλικών εστέρων στα ούρα των παιδιών συσχετίζεται με την ύπαρξη δαπέδου PVC στα υπνοδωμάτιά τους (Carlstedt et al., 2013; Larsson et al., 2010; Shu et al., 2014). Τα αλλεργικά συμπτώματα και το άσθμα σε παιδιά ηλικίας μεταξύ 2 και 8 ετών αποδίδονται τόσο στην προγεννητική όσο και στη μεταγεννητική έκθεση σε MEP, MBzP και μεταβολίτες DEHP (Ku et al., 2015).

1.2.5 Υφιστάμενοι Περιοριστικοί Κανονισμοί στην Ευρωπαϊκή Ένωση

Οι DBP, BBzP και DEHP έχουν εγκριθεί για χρήση σε πλαστικά υλικά που προορίζονται να έρθουν σε επαφή με τρόφιμα στην Ευρωπαϊκή Ένωση (EFSA CEP Panel et al., 2019). Το Δεκέμβριο του 2019, η EFSA δημοσίευσε μια επιστημονική γνωμοδότηση όσον αφορά την επανεκτίμηση των κινδύνων για τη δημόσια υγεία που σχετίζονται με τη χρήση πέντε φθαλικών εστέρων στα πλαστικά υλικά τα οποία προορίζονται να έρθουν σε επαφή με τρόφιμα. Οι εμπειρογνώμονες της EFSA, αξιολογώντας όλα τα νέα επιστημονικά στοιχεία, διατήρησαν τα ίδια TDIs, όπως αυτά είχαν οριστεί το 2005, των 0.01, 0.5 και 0.05 mg/kg bw/day για τους φθαλικούς εστέρες DBP, BBzP και DEHP, αντίστοιχα. Παράλληλα, η επικαιροποιημένη αξιολόγηση κινδύνου καθιέρωσε για την ομάδα τεσσάρων φθαλικών εστέρων, στους οποίους συμπεριλαμβάνονται οι DBP, BBzP και DEHP, ένα TDI των 50 μg/kg bw/day, λαμβάνοντας υπόψη τη συνδυασμένη έκθεση σε αυτές τις φθαλικές ενώσεις. Οι εμπειρογνώμονές της EFSA κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η τρέχουσα διατροφική έκθεση στους DBP, BBzP και DEHP των ευρωπαίων καταναλωτών όλων των ηλικιακών ομάδων, συμπεριλαμβανομένων των πιο ευαίσθητων ομάδων, δεν εγείρει ανησυχίες για τη δημόσια υγεία, δεδομένου ότι η έκθεση στους εν λόγω φθαλικούς εστέρες μέσω της πρόσληψης τροφών είναι κατάτι χαμηλότερη από τα καθορισμένα TDIs (EFSA CEP Panel et al., 2019).

Στην Ευρωπαϊκή Ένωση η χρήση ορισμένων φθαλικών ενώσεων, οι οποίες είναι γνωστό ότι ενδέχεται να θέτουν σε κίνδυνο την ανθρώπινη υγεία, υπόκειται σε περιορισμούς ή απαγορεύσεις τόσο αυτές καθαυτές ως μεμονωμένες ουσίες όσο και τα μείγματα που τις περιέχουν, ενώ ταυτόχρονα αναζητούνται εναλλακτικές ουσίες για την αντικατάστασή τους σε βιομηχανικές εφαρμογές. Σύμφωνα με την ισχύουσα νομοθεσία της ΕΕ, απαγορεύεται η χρήση των φθαλικών εστέρων που έχουν ταξινομηθεί ως τοξικοί για την αναπαραγωγή, δηλαδή των DBP, DiBP, BBzP και DEHP, σε όλα τα παιδικά παιχνίδια και τα είδη παιδικής φροντίδας (Johns et al., 2015; Zota et al., 2014; Σαλαπασίδου, 2009). Η απόφαση αυτή ελήφθη με στόχο την προστασία των παιδιών, κυρίως κάτω των τριών ετών. Επιπλέον, η ΕΕ εξέδωσε σχετική νομοθεσία, με βάση την οποία απαγορεύεται η παρουσία των DBP, BBzP και DEHP στα καλλυντικά, ενώ η χρήση των DEP και DMP στη βιομηχανία αρωμάτων δεν περιορίζεται επειδή δεν υπάρχουν πλήρως τεκμηριωμένα στοιχεία ότι θέτουν σε κάποιο γνωστό κίνδυνο την υγεία των ανθρώπων. Περιορισμός όσον αφορά τη χρήση των DBP, DiBP, BBzP και DEHP σε υφάσματα, υποδήματα και συναφή αξεσουάρ, τα οποία έρχονται σε επαφή με το δέρμα, τέθηκε σε ισχύ το Νοέμβριο του 2020 στην ΕΕ (ECHA, n.d.).

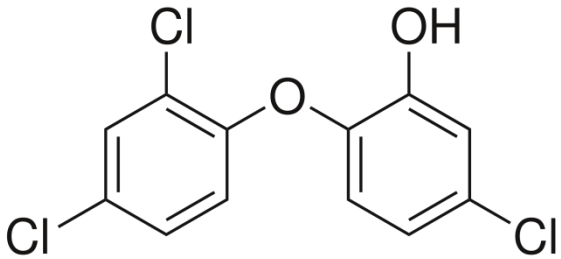
Παρόλο που η χρήση ορισμένων φθαλικών εστέρων σε ένα ευρύ φάσμα καταναλωτικών προϊόντων βαίνει μειούμενη λόγω των υφιστάμενων περιορισμών και απαγορεύσεων, εξακολουθούν να διατίθενται στην αγορά της ΕΕ πολλά προϊόντα που εισάγονται από χώρες εκτός ΕΕ με λιγότερο αυστηρούς ελέγχους και τα οποία περιέχουν τις εν λόγω απαγορευμένες φθαλικές ενώσεις.

Σε εξέλιξη βρίσκονται και πρόσθετες προσπάθειες για τον περαιτέρω περιορισμό της χρήσης ορισμένων φθαλικών ενώσεων στην ΕΕ. Με βάση την αξιολόγηση της ECHA, η χρήση πολλών ορθο-φθαλικών ενώσεων ενδέχεται να χρειαστεί να περιοριστεί στο μέλλον. Ορισμένες θα χρειαστούν εναρμονισμένη ταξινόμηση και επισήμανση ή χαρακτηρισμό ως ουσίες που προκαλούν πολύ μεγάλη ανησυχία (SVHCs). Υπάρχουν όμως και φθαλικές ενώσεις για τις οποίες απαιτούνται περισσότερα δεδομένα για να επιβεβαιωθεί ο δυνητικός κίνδυνος, ενώ για ορισμένες δεν απαιτούνται προς το παρόν ρυθμιστικές ενέργειες (ECHA, n.d.).

1.3 Τρικλοζάνη

1.3.1 Χημικές Ιδιότητες & Παραγωγή

Η τρικλοζάνη (Triclosan, TCS) είναι ένας διφαινυλικός αιθέρας [ονομασία κατά IUPAC: 5-χλωρο-2-(2,4-διχλωροφαινοξυ)φαινόλη ή αλλιώς 2,4,4'-τριχλωρο-2'-υδροξυ-διφαινυλαιθέρας; Μοριακό βάρος: 289.54 g/mol] με μοριακό τύπο $C_{12}H_7Cl_3O_2$, η οποία αποτελείται από δύο φαινυλομάδες συνδεδεμένες μεταξύ τους με ένα αιθερικό οξυγόνο. Ο ένας βενζολικός δακτύλιος φέρει δύο χλώρια τοποθετημένα σε θέση meta το ένα ως προς το άλλο, ενώ ο άλλος βενζολικός δακτύλιος διαθέτει ένα μόνο χλώριο σε θέση meta ως προς μια υδροξυλομάδα (**Εικόνα 5**). Η TCS είναι μια μη πτητική οργανική ένωση και εμφανίζει μέτρια υδατοδιαλυτότητα.



Εικόνα 5. Χημική δομή της τρικλοζάνης
(Πηγή ιστοσελίδα: https://en.wikipedia.org/wiki/Triclosan).

Η τρικλοζάνη είναι μια συνθετική χημική ουσία που μπορεί να συντεθεί από 2,4-διχλωροφαινόλη. Υπό συνθήκες αναρροής, ο 2,4,4'-τριχλωρο-2'-μεθοξυ-διφαινυλαιθέρας υποβάλλεται σε επεξεργασία με χλωριούχο αργίλιο ($AlCl_3$) για να παραχθεί ο 2,4,4'-τριχλωρο-2'-υδροξυ-διφαινυλαιθέρας, η κοινώς επονομαζόμενη τρικλοζάνη. Η ετήσια παραγωγή TCS ανέρχεται παγκοσμίως σε 1500 τόνους (Alfhili & Lee, 2019). Τα ποσοστά παραγωγής της έχουν αυξηθεί μετά το ξέσπασμα της πανδημίας της νόσου του κορωνοϊού 2019 (COVID-19), λόγω της υψηλής ζήτησης για απολύμανση (Chu et al., 2021; Iacopetta et al., 2022; Kumar et al., 2021).

1.3.2 Χρήση & Έκθεση

Η TCS είναι ένας αντιμικροβιακός παράγοντας με ένα ευρύ φάσμα δραστικότητας έναντι μεγάλου αριθμού μικροοργανισμών (Bhargava & Leonard, 1996). Η μυκητοκτόνος και βακτηριοκτόνος δράση της εμποδίζει την ανάπτυξη των μικροβίων σε χαμηλές συγκεντρώσεις (Sinicropi et al., 2022). Χάρη στις αντιμικροβιακές της ιδιότητες, η TCS αποτελεί ένα ευρέως διαδεδομένο συστατικό των προϊόντων προσωπικής φροντίδας. Μεταξύ αυτών των προϊόντων περιλαμβάνονται οι οδοντόκρεμες, τα στοματικά διαλύματα, τα καθαριστικά προσώπου, τα αποσμητικά και τα αντιιδρωτικά, τα αντιβακτηριδιακά σαπούνια και τα σαμπουάν, οι κρέμες σώματος, τα καλλυντικά και τα αντισηπτικά gel χεριών (Witorsch, 2014). Οι οδοντόκρεμες που περιέχουν TCS έχει αποδειχθεί ότι δρουν αποτελεσματικά στη μείωση της πλάκας και της ουλίτιδας (Hall et al., 2003; Walsh & Healey, 2019).

Η TCS χρησιμοποιείται εκτενώς ως αντιμικροβιακό συντηρητικό σε πλαστικά δοχεία αποθήκευσης τροφίμων, πλαστικές επιφάνειες κοπής και πλαστικά σκεύη κουζίνας (Ahmed et al., 2017; Schumann & Schmid, 2018). Σε αυτά τα είδη οικιακής χρήσης, η TCS γενικά ενσωματώνεται απευθείας στη μήτρα του πολυμερούς πριν από τη σκλήρυνση (Beiras et al., 2021; Petersen, 2016). Η TCS χρησιμοποιείται επίσης σε πλήθος καταναλωτικών προϊόντων, όπως προϊόντα οικιακού καθαρισμού (υγρά απορρυπαντικά πιάτων), κλωστοϋφαντουργικά

προϊόντα (υφάσματα και ενδύματα), κλινοσκεπάσματα, παιχνίδια και πλαστικές σακούλες απορριμμάτων (Rodricks et al., 2010; Witorsch & Thomas, 2010).

Έχει επίσης αναφερθεί ότι η TCS χρησιμοποιείται σε ιατρικές συσκευές και για την επικάλυψη χειρολαβών πόρτας σε νοσοκομεία (O'Neal, 2019), εξαιτίας της δράσης της κατά του σχηματισμού βακτηριακών βιοϋμενίων (Liu et al., 2022; Lubarsky et al., 2012). Επιπλέον, η TCS απαντάται σε επικαλύψεις ορισμένων χειρουργικών ραμμάτων (Singer et al., 2010; Tobias & Johnston, 2013). Υπάρχουν ενδείξεις ότι τέτοιου είδους ράμματα μειώνουν τον κίνδυνο μόλυνσης του χειρουργικού τραύματος κατά τη διάρκεια χειρουργικών επεμβάσεων (Renko et al., 2017; Wang et al., 2013).

Λόγω της ευρείας χρήσης της TCS σε πλαστικά δοχεία αποθήκευσης, η πρόσληψη τροφίμων και ποτών μολυσμένων με TCS αποτελεί την κύρια πηγή έκθεσης του ανθρώπου στην εν λόγω χημική ουσία (Li et al., 2021). Η TCS μπορεί να μεταναστεύσει, ενδεχομένως ακόμη και σε πολύ μεγάλες ποσότητες, από τα δοχεία αποθήκευσης προς τα τρόφιμα και τα ποτά που βρίσκονται σε επαφή με αυτά τα πλαστικά προϊόντα και τα οποία συνίστανται από την ουσία (Sinicropi et al., 2022). Επιπλέον, έχει διαπιστωθεί ότι μικροπλαστικά που περιέχουν TCS διαφεύγουν από την εσωτερική επιφάνεια των δοχείων αποθήκευσης τροφίμων, όταν αυτά εκτίθενται είτε σε θέρμανση φούρνου είτε σε θέρμανση με μικροκύματα (Marazuela et al., 2022).

Τα καλλυντικά και τα προϊόντα προσωπικής φροντίδας συμβάλλουν σημαντικά στην έκθεση του ανθρώπου σε TCS διότι μέσω της χρήσης αυτών επέρχεται άμεση επαφή της εν λόγω χημικής ουσίας με το δέρμα (Li et al., 2021). Η έκθεση του ανθρώπου σε TCS μπορεί επίσης να συμβαίνει μέσω της απορρόφησής της από το δέρμα κατά το πλύσιμο των χεριών ή το ντους, το βούρτσισμα των δοντιών, τη χρήση στοματικών διαλυμάτων ή το πλύσιμο των πιάτων. Τα κλωστοϋφαντουργικά είδη ένδυσης διαδραματίζουν αμελητέο ρόλο στην ανθρώπινη έκθεση σε TCS μέσω της δερματικής επαφής (U.S. EPA, 2016).

Η TCS είναι παρούσα ακόμη και στα επιφανειακά ύδατα, το πόσιμο νερό και το έδαφος (Milanović et al., 2021). Μελέτες καταδεικνύουν ότι σημαντικές ποσότητες TCS (170000–970000 kg/έτος) διαφεύγουν από τις εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων και τελικά συσσωρεύονται στα επιφανειακά ύδατα, οδηγώντας σε εκτεταμένη παρουσία TCS στο νερό της βρύσης (FDA, 2019). Επιπλέον, η TCS μπορεί να προσκολλάται σε αιωρούμενα σωματίδια των υδάτινων περιβαλλόντων, γεγονός το οποίο θέτει σε κίνδυνο τους υδρόβιους οργανισμούς και δύναται να οδηγήσει σε περαιτέρω βιοσυσσώρευση (U.S. EPA, 2016). Σημαντικά κλάσματα TCS απελευθερώνονται στο περιβάλλον και ρυπαίνουν το έδαφος, βλάπτοντας τελικά τα φύκη στα επιφανειακά ύδατα (Halden, 2014). Συνεπώς, άλλες οδοί έκθεσης στην TCS περιλαμβάνουν την κατανάλωση θαλασσινών που εκτίθενται σε αυτήν την ουσία, καθώς και την κατάποση φυτών τα οποία έχουν αναπτυχθεί σε έδαφος που έχει υποστεί επεξεργασία με λυματολάσπη (Halden, 2014). Η TCS έχει ανιχνευθεί σε μύδια από τη Μεσόγειο Θάλασσα. Μεταξύ των Ευρωπαίων, οι ενήλικες Ισπανοί, ακολουθούμενοι από τους ενήλικες Πορτογάλους και Ιταλούς, έχουν την υψηλότερη έκθεση σε TCS μέσω της διατροφής τους με θαλασσινά (Álvarez-Muñoz et al., 2018).

Μελέτες βιοπαρακολούθησης υποδεικνύουν σχεδόν καθολική έκθεση σε TCS μεταξύ εγκύων γυναικών και παιδιών (Casas et al., 2011; Woodruff et al., 2011). Η έκθεση σε TCS έχει βρεθεί ότι είναι υψηλότερη στη Βόρεια Αμερική και την Ευρώπη σε σύγκριση με την Ασία (Sinicropi et al., 2022).

1.3.3 Μεταβολισμός & Απέκκριση

Μετά την από του στόματος λήψη της, η TCS απορροφάται αρχικά από τη στοματική βλεννογόνο μεμβράνη και έπειτα από το εντερικό τοίχωμα και μεταβολίζεται στο ήπαρ. Η απορρόφηση της από τον ανθρώπινο οργανισμό μέσω της δερματικής επαφής είναι χαμηλότερη του 10% (Queckenberg et al., 2010).

Η TCS μεταβολίζεται μέσω αντιδράσεων Φάσης I και Φάσης II. Η δραστηριότητα του κυτοχρώματος P450 επιφέρει μονοϋδροξυλιωμένα παράγωγα TCS. Στον αντίποδα, οι αντιδράσεις της δεύτερης μεταβολικής φάσης επιτελούνται από το ένζυμα UDP-γλυκουρονοσυλ-τρανσφεράση και σουλφοτρανσφεράση και περιλαμβάνουν τη σύζευξη της TCS με γλυκουρονικό οξύ και θειϊκό οξύ προς τον σχηματισμό των περισσότερο υδρόφιλων γλυκουρονιδιωμένου μεταβολίτη και της θειϊκής τρικλοζάνης, αντίστοιχα (Sinicropi et al., 2022). Η TCS απεκκρίνεται κυρίως στα ούρα και τα κόπρανα ως γλυκουρονιδιωμένος μεταβολίτης και υπό τη θειϊκή μορφή της (Sandborgh-Englund et al., 2006).

Η TCS, λόγω της έντονης υδρόφοβης φύσης της, έχει την ικανότητα να συσσωρεύεται στους οργανισμούς (βιοσυσσώρευση), και ειδικότερα στο λιπώδη ιστό τους (Dhillon et al., 2015). Η TCS εντός των βιοτικών οργανισμών μετασχηματίζεται σε διάφορες ενώσεις, συμπεριλαμβανομένης της μεθυλο-τρικλοζάνης (Methyltriclosan, MTCS) (DeLorenzo et al., 2008), η οποία μπορεί να σχηματιστεί υπό αερόβιες συνθήκες, της 2,4-διχλωροφαινόλης (2,4-Dichlorophenol, 2,4-DCP) και της 4-χλωρο-κατεχόλης (Armstrong et al., 2018; Chen et al., 2015). Πρόσφατες μελέτες αποδίδουν την τοξικότητα της TCS στα προϊόντα μετασχηματισμού της (Sinicropi et al., 2022).

1.3.4 Επιδράσεις στην ανθρώπινη υγεία

Η τρικλοζάνη αποτελεί έναν αμφιλεγόμενο αντιμικροβιακό παράγοντα όσον αφορά την τοξικότητά του. Παρά το γεγονός ότι έχουν διεξαχθεί πολυάριθμες και πολυετείς μελέτες σχετικά με την εν λόγω χημική ουσία, εξακολουθεί μέχρι και σήμερα να μην είναι σαφές εάν η TCS είναι πράγματι τοξική για τα θηλαστικά και οι δυσμενείς επιπτώσεις που επιφέρει η συνεχής, μακροχρόνια και σε χαμηλές συγκεντρώσεις έκθεση παραμένουν άγνωστες (Sinicropi et al., 2022). Ωστόσο, αρκετές αναφορές επισημαίνουν την πιθανή τοξικότητα της TCS, εγείροντας σημαντικές ανησυχίες στους επιστήμονες σχετικά με τις επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία που ανακύπτουν από την έκθεση σε αυτήν. Η TCS φαίνεται ότι επιδρά αρνητικά στο ενδοκρινικό, το αναπαραγωγικό και το νευρικό σύστημα, το μεταβολισμό και την ανάπτυξη των απογόνων μετά τον τοκετό, την καρδιαγγειακή, ηπατική και νεφρική λειτουργία, και το ανοσοποιητικό σύστημα.

Η TCS υπάγεται στην κατηγορία των χημικών ουσιών που διαταράσσουν το ενδοκρινικό σύστημα (EDCs). Σύμφωνα με την EFSA και την ECHA, η TCS βρίσκεται ακόμη υπό αξιολόγηση ως EDC (ECHA, 2024). Η δράση της TCS ως ενδοκρινικού διαταράκτη έχει μελετηθεί κυρίως σε ζώα, ενώ οι μελέτες σε ανθρώπους όσον αφορά το προκείμενο ζήτημα είναι λιγότερες σε αριθμό. Η TCS έχει βρεθεί ότι αλληλεπιδρά με ένα ευρύ φάσμα ορμονικών υποδοχέων, συμπεριλαμβανομένων των υποδοχέων στεροειδών ορμονών και των θυρεοειδικών υποδοχέων. Η TCS δεσμεύεται με χαμηλή συγγένεια τόσο στους ανδρογονικούς όσο και στους οιστρογονικούς υποδοχείς και δύναται να δράσει ως αγωνιστής ή/και ανταγωνιστής αυτών (Witorsch, 2014), επηρεάζοντας έτσι τη βιοσύνθεση, την έκκριση, τη δράση ή το μεταβολισμό των ενδογενών ορμονών που εμπλέκονται στην ανθρώπινη σύλληψη και ανάπτυξη. Οι δράσεις αυτές προκαλούν επιβλαβείς αναπαραγωγικές και αναπτυξιακές επιπτώσεις.

Παρατηρητικές μελέτες σε ανθρώπους έχουν διαπιστώσει συσχέτιση μεταξύ της έκθεσης σε TCS και δυσμενών συνεπειών στον άξονα υποθαλάμου–υπόφυσης–θυρεοειδούς (Skarha et al., 2019). Τα αποτελέσματα από επιδημιολογικές μελέτες σχετικά με την TCS και τη λειτουργία του θυρεοειδούς στους ανθρώπους δεν συνάδουν μεταξύ τους (Cullinan et al., 2012; Koeppe et al., 2013). Ωστόσο, υπάρχουν ενδείξεις ότι η TCS επηρεάζει αρνητικά τη λειτουργία του θυρεοειδούς αδένα και διαταράσσει τα επίπεδα των θυρεοειδικών ορμονών, όπως η θυροξίνη, στον ορό του αίματος. Επιπλέον, η TCS ενδέχεται να μεταβάλλει τη δραστικότητα συγκεκριμένων στεροειδογόνων ενζύμων, επηρεάζοντας έτσι την παραγωγή στεροειδών ορμονών (στεροειδογένεση).

Η έκθεση σε TCS έχει επίσης συσχετιστεί με αποβολή (Wang et al., 2015), καθώς και με μειωμένη ωοθηκική εφεδρεία, γεγονός το οποίο μπορεί να οδηγήσει σε ελαττωμένη γονιμότητα στις γυναίκες (Sinicropi et al., 2022). Μια πρόσφατη μελέτη υπέδειξε ότι η έκθεση σε TCS σε σχετικά χαμηλά επίπεδα σχετίζεται με το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών (PCOS) (Ye et al., 2018).

Όπως προαναφέρθηκε ανωτέρω, η TCS δεσμεύεται στους ανδρογονικούς υποδοχείς και εμφανίζει αντιανδρογόνο δράση (Gee et al., 2008). Ως εκ τούτου, η ιδιοπαθής ανδρική υπογονιμότητα έχει αναφερθεί ότι σχετίζεται στατιστικά με αυξημένες συγκεντρώσεις TCS στα ούρα ενηλίκων ανδρών. Η TCS έχει καταδειχθεί ότι επηρεάζει αρνητικά την παραγωγή του σπέρματος και τη φυσιολογική μορφολογία των σπερματοζωαρίων (Zhu et al., 2016). Παράλληλα, η έκθεση σε TCS σχετίζεται με μείωση της ποιότητας του σπέρματος (Jurewicz et al., 2018). Επιπλέον, η TCS μειώνει το βάρος των όρχεων και των βοηθητικών οργάνων του φύλου, οδηγώντας σε μείωση της πυκνότητας του σπέρματος. Η TCS ευθύνεται επίσης για την ελάττωση των επιπέδων τεστοστερόνης (Yawer et al., 2020).

Η πρώιμη έκθεση του ανθρώπου σε TCS μπορεί να αρχίσει ήδη κατά την ενδομήτρια ζωή, δεδομένης της ικανότητας της TCS να διαπερνά τον πλακούντα και τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό του εμβρύου (Arbuckle et al., 2015), με αποτέλεσμα την πρόκληση ποικίλων και σύνθετων προβλημάτων υγείας, τα οποία γίνονται αντιληπτά μετά τη γέννηση ή ακόμη και στη μετέπειτα ζωή του. Τα έμβρυα, τα βρέφη και τα παιδιά διατρέχουν ιδιαίτερο κίνδυνο για την υγεία τους επειδή, ενόσω τα ζωτικά συστήματα του οργανισμού τους ωριμάζουν, οι EDCs μπορούν να παρεμβαίνουν σε ευαίσθητες βιολογικές διεργασίες κατά τη διάρκεια κρίσιμων αναπτυξιακών φάσεων της ανθρώπινης ζωής, όπως είναι η περιγεννητική περίοδος και τα στάδια της παιδικής και της εφηβικής ηλικίας (Schug et al., 2011).

Οι επιπτώσεις της προγεννητικής έκθεσης σε TCS στην ανάπτυξη των απογόνων έχουν διερευνηθεί από λίγες μελέτες σε ανθρώπους. Η έκθεση της μητέρας σε TCS κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης σχετίζεται αντιστρόφως ανάλογα με το Δείκτη Νοημοσύνης (IQ) σε παιδιά ηλικίας 8 ετών (Jackson-Browne et al., 2018). Ανατομικές ανωμαλίες στα αναπαραγωγικά όργανα των ανδρών (κρυψορχία), καθώς και αυξημένα επίπεδα τεστοστερόνης στα βρέφη (Wang et al., 2018) έχουν αναφερθεί ότι σχετίζονται με την παρουσία της TCS στα ούρα της μητέρας. Πρόσφατη μελέτη υποδεικνύει ότι τόσο η προγεννητική έκθεση σε TCS όσο και η έκθεση κατά την παιδική ηλικία συνδέονται με συμπεριφορικά προβλήματα σε αγόρια ηλικίας 8 ετών (Jackson-Browne et al., 2019). Έχει αναφερθεί ότι η έκθεση σε TCS προκαλεί πρόωρη έναρξη της εμμηναρχής στα υπέρβαρα ή παχύσαρκα κορίτσια (Binder et al., 2018). Το στάδιο της ηβικής τριχοφυΐας σχετίζεται αντιστρόφως ανάλογα με την TCS στα ούρα κοριτσιών ηλικίας μεταξύ 6 και 9 ετών (Wolff et al., 2010).

Η έκθεση σε TCS ενδέχεται να ασκήσει δυσμενείς επιδράσεις στην ανάπτυξη του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος (ΚΝΣ) και σχετίζεται με νευροαναπτυξιακές διαταραχές (Ruszkiewicz et al., 2017). Ειδικότερα, η έκθεση σε TCS κατά τη διάρκεια της αξονογένεσης

μπορεί να οδηγήσει στην πρόκληση δομικών ανωμαλιών του ΚΝΣ, όπως μειωμένη ανάπτυξη των αξόνων και ελαττωμένη συναπτική πυκνότητα.

Αρκετές μελέτες έχουν υποδείξει μια σύνδεση μεταξύ της έκθεσης σε TCS και μεταβολικών διαταραχών, όπως η παχυσαρκία και ο διαβήτης τύπου ΙΙ (Kalloo et al., 2018; Xie et al., 2020). Η TCS συσχετίζεται θετικά με το Δείκτη Μάζας Σώματος (ΔΜΣ) που χρησιμοποιείται ως προγνωστικός δείκτης παχυσαρκίας (Lankester et al., 2013; Nasab et al., 2021). Πρόσφατη έρευνα υποστηρίζει ότι υπάρχει συσχετισμός ανάμεσα στις αυξημένες συγκεντρώσεις TCS στα ούρα και τον αυξημένο κίνδυνο εκδήλωσης παχυσαρκίας σε παιδιά ηλικίας μεταξύ 7 και 11 ετών (Han et al., 2021).

Η έκθεση σε TCS έχει επίσης συσχετιστεί με καρδιοτοξικότητα (Alfhili et al., 2021). Η TCS διαταράσσει την ανάπτυξη και τη φυσιολογική λειτουργία του ήπατος. Αρκετές μελέτες έχουν αποκαλύψει ότι η έκθεση σε TCS μπορεί να επιφέρει μεταβολές στη λειτουργία των νεφρών (Sinicropi et al., 2022).

Έρευνες έχουν διαπιστώσει ότι η TCS μπορεί να επηρεάσει την ανάπτυξη, τη λειτουργία και τη διάρκεια ζωής των κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος. Η TCS ενδέχεται να εξασθενίσει την ανοσία έναντι λοιμώξεων ή να προκαλέσει υπερδραστηριότητα του ανοσοποιητικού συστήματος, όπως αλλεργίες και αυτοάνοσα νοσήματα (Sinicropi et al., 2022). Έχει αναφερθεί ότι η έκθεση σε TCS παίζει ρόλο στην ευαισθητοποίηση σε τροφικά και εισπνεόμενα (κυρίως εποχιακά) αλλεργιογόνα (Savage et al., 2012) και σχετίζεται με την επιδείνωση του άσθματος, τόσο σε ενήλικες (Goodman et al., 2018) όσο και σε παιδιά (Bertelsen et al., 2013). Η έκθεση των αγοριών σε TCS έχει συνδεθεί με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης αλλεργικής ρινίτιδας, άσθματος και ατοπικής δερματίτιδας (Lin et al., 2022).

Η έκθεση σε TCS συσχετίζεται επίσης με χαμηλή οστική πυκνότητα και, κατ' επέκταση, αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης οστεοπόρωσης στις γυναίκες (Cai et al., 2019). Ορισμένες έρευνες αναφέρουν ότι η TCS αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου (Dinwiddie et al., 2014).

1.3.5 Υφιστάμενοι Περιοριστικοί Κανονισμοί στην Ευρωπαϊκή Ένωση

Λόγω των πιθανών δυσμενών επιπτώσεών της στον ανθρώπινο οργανισμό, η χρήση της τρικλοζάνης σε προϊόντα καθημερινής χρήσης υπόκειται σε περιορισμούς ή απαγορεύσεις στην Ευρωπαϊκή Ένωση με στόχο την προστασία της ανθρώπινης υγείας και του περιβάλλοντος. Δεδομένης της τοξικότητάς της, η TCS αφαιρέθηκε από τον κατάλογο των επιτρεπόμενων προσθέτων σε πλαστικά υλικά και αντικείμενα που προορίζονται να έρθουν σε επαφή με τρόφιμα στην Ευρωπαϊκή Ένωση το 2010 (European Commission, 2010). Η ενέργεια αυτή ισχύει μόνο για εταιρείες και προϊόντα που κατασκευάζονται εντός της ΕΕ. Παρ' όλα αυτά, εξακολουθούν να διατίθενται στην αγορά της ΕΕ αρκετά αντιμικροβιακά δοχεία αποθήκευσης τροφίμων που αγοράζονται μέσω του ηλεκτρονικού εμπορίου και τα οποία περιέχουν TCS.

Η εφαρμογή της TCS σε προϊόντα προσωπικής φροντίδας εντός ορισμένων ορίων εξακολουθεί να επιτρέπεται. Το 2014, παρόλο που διατηρήθηκε η νομιμότητά της ως συντηρητικό, περιορίστηκε η χρήση της TCS στα προϊόντα καθαρισμού και προσωπικής υγιεινής, καθώς και σε ορισμένα καλλυντικά προϊόντα, από την Ευρωπαϊκή Επιτροπή. Έκτοτε οι οδοντόκρεμες, τα σαπούνια χεριών, τα σαμπουάν σώματος, τα αποσμητικά και επιλεκτικά καλλυντικά δεν πρέπει να περιέχουν TCS σε συγκέντρωση μεγαλύτερη από 0.3% w/w, ενώ η μέγιστη επιτρεπόμενη συγκέντρωση της στα στοματικά διαλύματα ανέρχεται σε 0.2% w/w (European Commission, 2014).

Κατόπιν αξιολόγησης της TCS από την Επιτροπή Βιοκτόνων Προϊόντων του Ευρωπαϊκού Οργανισμού Χημικών Προϊόντων, η Ευρωπαϊκή Επιτροπή αποφάσισε τον Ιανουάριο του 2016 να

μην εγκρίνει την TCS ως δραστική ουσία για χρήση σε βιοκτόνα προϊόντα τα οποία χρησιμοποιούνται για την ανθρώπινη υγιεινή (ECHA, 2015; European Commission, 2016). Τον Σεπτέμβριο του 2016, η ΕΕ εξέδωσε σχετική νομοθεσία με βάση την οποία απαγορεύεται η παρουσία της TCS στα σαπούνια (Sinicropi et al., 2022).

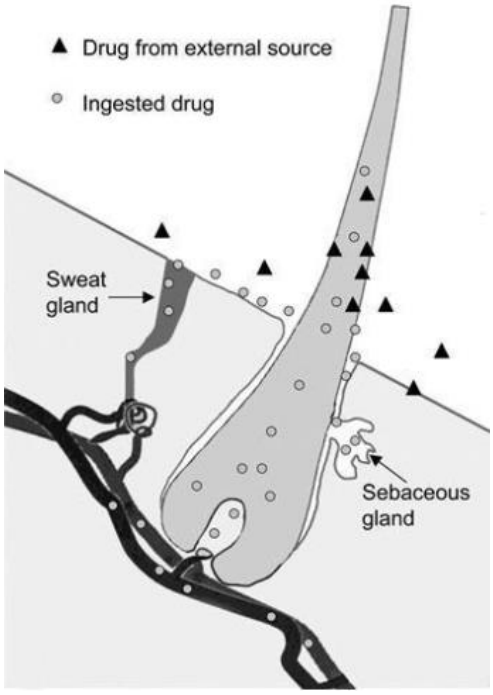
1.4 Η τρίχα ως βιοδείκτης

Οι τρίχες των μαλλιών χρησιμοποιούνται ολοένα και περισσότερο για την εκτίμηση των επιπέδων έκθεσης του ανθρώπου στους αναλύτες που πραγματεύεται η παρούσα πτυχιακή εργασία. Το κύριο πλεονέκτημα της τρίχας έναντι διαφόρων άλλων βιολογικών δειγμάτων που συλλέγονται για τοξικολογικές έρευνες, συμπεριλαμβανομένων του αίματος/ορού, του λιπώδους ιστού, του μητρικού γάλακτος, των ούρων, των νυχιών και του σάλιου, είναι η ικανότητα παροχής λεπτομερειών όσον αφορά την παλαιότερη έκθεση ενός ατόμου σε χημικές ενώσεις (Cooper, 2015). Λόγω της απουσίας ενεργών διεργασιών, όπως ο μεταβολισμός ή η απέκκριση, εντός του στελέχους της τρίχας, οι χημικές ενώσεις στην τρίχα μπορούν να κατακρατηθούν για μεγάλα χρονικά διαστήματα μηνών ή και χρόνων (Peng et al., 2021). Έτσι, τα επίπεδα των χημικών ενώσεων των μαλλιών θεωρούνται αντιπροσωπευτικά της μακροχρόνιας έκθεσης ενός ατόμου και είναι σε θέση να τα εντοπίσουν σε ένα συγκεκριμένο χρονικό πλαίσιο ανάλογα με το μήκος του δείγματος της τρίχας, υποθέτοντας έναν σταθερό ρυθμό ανάπτυξης των μαλλιών, γενικά 1 cm ανά μήνα κατά μέσο όρο (Peng et al., 2020; Ren et al., 2020). Παρότι οι ρυθμοί τριχοφυΐας ποικίλλουν ανάλογα με τον τύπο της τρίχας και επίσης διαφέρουν από άτομο σε άτομο, η Society of Hair Testing (SoHT) προτείνει τη χρήση ενός μέσου ρυθμού ανάπτυξης 1 cm/μήνα για τις τρίχες των μαλλιών της κεφαλής (Society of Hair Testing, 2004). Βάσει αυτού, κάθε εκατοστό αντιπροσωπεύει το ιστορικό έκθεσης σε χημικές ουσίες ενός μηνός και επιτρέπεται μια εκτίμηση της χρονικής κλίμακας έκθεσης σε ουσίες κατά τους μήνες πριν από τη δειγματοληψία. Επιπροσθέτως, σε αντίθεση με τις προαναφερόμενες ανθρώπινες μήτρες βιοπαρακολούθησης, τα μαλλιά έχουν τα μοναδικά πλεονεκτήματα της μη επεμβατικής & ανώδυνης δειγματοληψίας, δεν απαιτούν εξειδικευμένο προσωπικό με ιατρικά προσόντα για τη συλλογή τους, δεν απαιτούν ιδιαίτερες συνθήκες κατά τη μεταφορά και την αποθήκευση, κατάλληλα για ευαίσθητους πληθυσμούς όπως έγκυες γυναίκες, ηλικιωμένοι, νεογέννητα και παιδιά (Iglesias-Gonzalez et al., 2020; Peng et al., 2021).

1.4.1 Ενσωμάτωση χημικών ενώσεων στην τρίχα

Οι ακριβείς μηχανισμοί με τους οποίους οι αναλύτες ενδιαφέροντος ενσωματώνονται στην τρίχα και οι παράγοντες που επηρεάζουν τη σταθερότητά τους δεν είναι πλήρως κατανοητοί. Πιστεύεται ότι οι χημικές ουσίες και τα ιχνοστοιχεία που κυκλοφορούν στο σώμα ενσωματώνονται στα μαλλιά κατά τη διάρκεια περιόδων αυξημένης μεταβολικής δραστηριότητας και κυτταρικής διαίρεσης, γεγονότα τα οποία λαμβάνουν χώρα κατά την φάση ανάπτυξης της τρίχας (Ryder, 1958). Υπάρχουν, ωστόσο, τρεις αναγνωρισμένες οδοί ενσωμάτωσης ενώσεων στην τρίχα: α) απευθείας από την κυκλοφορία του αίματος (ενδογενής πηγή), β) από το σμήγμα και τον ιδρώτα και γ) από την εξωτερική μόλυνση (εξωγενείς πηγές) (*βλέπε* **Εικόνα 6**) (Cooper, 2015). Ο βαθμός στον οποίο καθεμία από αυτές τις οδούς συμβάλλει στην δέσμευση των ενώσεων με τη μήτρα της τρίχας είναι ασαφής, αλλά αυτό που είναι ξεκάθαρο είναι ότι διαφέρει ανάλογα με τη χημική ουσία (Kronstrand & Scott, 2007). Η εισχώρηση στα μαλλιά των χημικών ενώσεων οφειλόμενων σε ενδογενή έκθεση

πραγματοποιείται μέσω παθητικής διάχυσης από τα τριχοειδή αιμοφόρα αγγεία που τροφοδοτούν τον θύλακα της τρίχας στα αναπτυσσόμενα κύτταρα της μήτρας (κερατινοκύτταρα και μελανινοκύτταρα) (Tang et al., 2023).



Εικόνα 6. Οδοί ενσωμάτωσης χημικών ενώσεων στο θύλακα της τρίχας (Πηγή: Cooper, 2015).

Η σταθερότητα των χημικών ενώσεων στα μαλλιά εξαρτάται τόσο από τη μορφολογία όσο και από τις φυσικοχημικές ιδιότητες των μαλλιών. Η αλλοίωση της επιφάνειας της τρίχας με την πάροδο του χρόνου λόγω περιβαλλοντικής φθοράς, φυσικής έκπλυσης και χημικών επεξεργασιών επιτρέπει την ενσωμάτωση ουσιών από εξωτερική μόλυνση, καθώς και την ελάττωση αυτών που προϋπάρχουν στη μήτρα (Cooper, 2015). Σε καθημερινή βάση, τα μαλλιά εκτίθενται στο ηλιακό φως και στις καιρικές συνθήκες που έχει αποδειχθεί ότι μειώνουν τις συγκεντρώσεις των συσσωρευμένων στην τρίχα χημικών ενώσεων. Η εξωτερική μόλυνση και η απώλεια χημικών ουσιών από τα μαλλιά διευκολύνονται με τη διάχυση αυτών μέσα και έξω από τα μαλλιά παρουσία νερού, αντίστοιχα. Αν και το καθημερινό λούσιμο δεν επηρεάζει σημαντικά τις συγκεντρώσεις των ενώσεων, το στέγνωμα των μαλλιών και άλλες τεχνικές περιποίησης με εφαρμογή θερμότητας μπορούν να βλάψει το περιτρίχιο παρέχοντας οδούς για μόλυνση και απώλεια των ενσωματωμένων φαρμάκων (Cooper et al., 2008). Σοβαρή φθορά στο περιτρίχιο και σπάσιμο στην εσωτερική δομή της τρίχας προκαλούνται όταν τα μαλλιά υποβάλλονται σε πιο σκληρές καλλυντικές θεραπείες. Μελέτες που αναφέρονται στη βιβλιογραφία συμφωνούν ότι η βαφή, η περμανάντ, η χαλάρωση και η λεύκανση έχουν αρνητική επίδραση στη συγκέντρωση ενώσεων που ανιχνεύονται στα μαλλιά.

Επί του παρόντος, δεν υπάρχει σαφής κατανόηση των πρόσθετων παραγόντων που επηρεάζουν την ενσωμάτωση των εξεταζόμενων, σε αυτή την πτυχιακή εργασία, αναλυτών στο αναπτυσσόμενο στέλεχος της τρίχας. Προγενέστερες μελέτες έχουν καταδείξει ότι ο χρωματισμός έχει ουσιαστική επιρροή στην συγκέντρωση των βασικών φαρμάκων στα μαλλιά (Kintz, 2019; Ramirez Fernandez et al., 2020; Yu et al., 2017). Ωστόσο, μέχρι στιγμής δεν έχει διεξαχθεί καμία μελέτη για να διερευνηθούν οι επιδράσεις των χρωματικών παραλλαγών στη συσσώρευση των αναλυτών, που προσδιορίστηκαν στην παρούσα πτυχιακή εργασία, στα μαλλιά, παραμένει άγνωστο εάν οι χρωστικές ουσίες των μαλλιών (τύπος της μελανίνης) θα

μπορούσαν να επηρεάσουν την εναπόθεση και την κατακράτηση των αναλυτών ενδιαφέροντος στη μήτρα της τρίχας.

1.5 Υγρή Χρωματογραφία–Φασματομετρία Μάζας

Η υγρή χρωματογραφία (Liquid Chromatography, LC) συζευγμένη με φασματομετρία μάζας (Mass Spectrometry, MS) αποτελεί την πιο συχνά χρησιμοποιούμενη τεχνική για την ανάλυση εξαιρετικά πολύπλοκών μιγμάτων ουσιών. Οι διατάξεις LC-MS αξιοποιούν την ικανότητα της υγρής χρωματογραφίας υψηλής πίεσης/απόδοσης (High Pressure/Performance Liquid Chromatography, HPLC) να διαχωρίζει πολλά διαφορετικά συστατικά ενός μίγματος και του φασματομέτρου μάζας να συντελεί στην ταυτοποίησή τους. Ο συνδυασμός αυτός μπορεί να επιτευχθεί με απευθείας σύνδεση της χρωματογραφικής συσκευής με τον φασματογράφο και λήψη του φάσματος μαζών ταυτόχρονα με την έκλουση των διαφορετικών ουσιών σε ένα δείγμα (Γιουμουξούζης, 2015). Η συζευγμένη αυτή τεχνική διαθέτει τα χαρακτηριστικά του αποτελεσματικού διαχωρισμού της υγρής χρωματογραφίας όσο και της υψηλής ευαισθησίας της φασματομετρίας μάζας (Γινγκ, 2022).

1.6 Υγρή Χρωματογραφία

Η τεχνική της χρωματογραφίας στην οποία η κινητή φάση (mobile phase) είναι υγρή ενώ η στατική φάση (stationary phase) είναι στερεό πορώδες υλικό ή υγρό καθηλωμένο σε στερεό αδρανές υπόστρωμα ονομάζεται υγρή χρωματογραφία (Liquid Chromatography, LC) (Γιουμουξούζης, 2015). Πρόκειται για μια χρωματογραφία στήλης, κατά την οποία το δείγμα, μόλις εισαχθεί στο σύστημα HPLC, μεταφέρεται από την κινητή φάση και ωθείται μέσω της στήλης. Η διαδικασία διαχωρισμού λαμβάνει χώρα σε μια χρωματογραφική στήλη, εντός της οποίας είναι πακεταρισμένη η στατική φάση. Η στατική φάση αποτελείται από μικρά πορώδη σωματίδια, συνήθως κατασκευασμένα από κοκκώδες υλικό, όπως το διοξείδιο του πυριτίου (SiO_2). Αυτά τα σωματίδια παρέχουν μεγάλη επιφάνεια για αλληλεπιδράσεις με τα συστατικά του δείγματος (MN Editors, 2023).

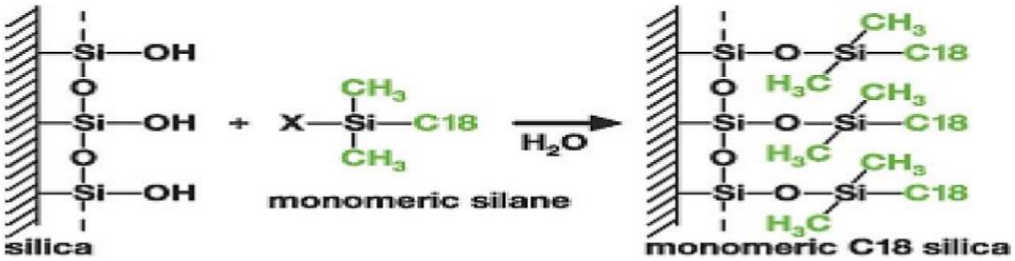
Ο διαχωρισμός αυτός επιτυγχάνεται μέσω κατανομής των συστατικών του μίγματος μεταξύ δυο φάσεων, μιας στατικής και μιας κινητής, (χρωματογραφία κατανομής – partition chromatography). Ο διαχωρισμός βασίζεται στις διαφορές που υπάρχουν σε ορισμένες ιδιότητες μεταξύ των συστατικών ενός μίγματος, όπως η πολικότητα των μορίων. Οι διαφορές αυτές διαφοροποιούν τη σχετική φυσικοχημική συγγένεια κάθε συστατικού προς τις δυο φάσεις της χρωματογραφικής στήλης. Έτσι, προκαλείται διαφορετική μετατόπιση των συστατικών του μίγματος εντός της στήλης λόγω της συγκράτησής τους σε διαφορετικό βαθμό από την στατική φάση. Τα συστατικά με τον τρόπο αυτό διαχωρίζονται μεταξύ τους και εξέρχονται της στήλης σε διαφορετικές χρονικές στιγμές (χρόνος κατακράτησης – retention time, RT) (Χατζηιωάννου & Κουππάρης, 2003). Τα μόρια που δημιουργούν ισχυρότερες αλληλεπιδράσεις με τη στατική φάση κατακρατούνται περισσότερο και κινούνται βραδύτερα μέσω της στήλης, ενώ εκείνα με πιο ασθενείς αλληλεπιδράσεις μετακινούνται κατά μήκος της στήλης ταχύτερα. Οι δυνάμεις οι οποίες ευθύνονται για την κατανομή μεταξύ των υγρών φάσεων είναι δυνάμεις διασποράς, δυνάμεις μεταξύ επαγομένων διπόλων και δυνάμεις Van der Waals (Robards et al., 1994).

Τα εκλουόμενα συστατικά, στη συνέχεια, ανιχνεύονται από έναν κατάλληλο ανιχνευτή, όπως το φασματόμετρο μάζας. Ο χρωματογραφικός διαχωρισμός των συστατικών ενός μίγματος πριν από τη φασματομετρική ανάλυση παρέχει τη δυνατότητα ταυτοποίησης και

λήψης αξιόπιστων ποσοτικών δεδομένων για τους προσδιοριζόμενους αναλύτες (Φοίβας, 2015).

1.6.1 HPLC Αντίστροφης Φάσης

Η HPLC αντίστροφης φάσης (Reversed-Phase Chromatography, RP-HPLC) αποτελεί μια κατηγορία χρωματογραφίας κατανομής στην οποία η στατική φάση είναι λιγότερο πολική από τη κινητή. Η οκταδεκυλιωμένη πηκτή πυριτίας (Octadecyl Silica gel, ODS) είναι το πλέον χρησιμοποιούμενο πληρωτικό υλικό για στήλες οι οποίες βρίσκουν εφαρμογές σε χρωματογραφικές αναλύσεις αντίστροφης φάσης (Watson, 2005). Σε αυτού του είδους τη στατική φάση σωματίδια διοξειδίου του πυριτίου έχουν τροποποιηθεί χημικώς κατά τρόπο ώστε οι ελεύθερες ομάδες σιλανόλης στην επιφάνεια αυτών να είναι συζευγμένες με μακριές υδρόφοβες αλκυλικές αλυσίδες 18 ατόμων άνθρακα (*βλέπε* **Εικόνα 7**). Η κατεργασία της χρωματογραφικής στήλης μέσω της οποίας οι εναπομείνασες ελεύθερες ομάδες σιλανόλης της πηκτής πυριτίας, που δεν έχουν υποκατασταθεί με μια C18 αλκυλική αλυσίδα, καλύπτονται με διάφορους υποκαταστάτες ονομάζεται endcapping. Οι στήλες αντίστροφης φάσης τύπου C18 παραμένουν η πιο διαδεδομένη επιλογή για μεθόδους προσδιορισμού πολικών έως μετρίως πολικών μη ιοντικών αναλυτών.



Εικόνα 7. Endcapping: αντίδραση ομοιοπολικής σύνδεσης αλκυλικών αλυσίδων 18 ατόμων άνθρακα με ελεύθερες ομάδες σιλανόλης που βρίσκονται στην επιφάνεια σωματιδίων πυριτίας της στατικής φάσης (Πηγή ιστοσελίδα: https://www.agilent.com/cs/library/slidepresentation/public/A%20Look%20at%20Column%20Choices.pdf).

Στην περίπτωση της χρωματογραφίας αντίστροφης φάσης, η κινητή φάση αποτελείται συνήθως από μείγματα οργανικών διαλυτών, όπως μεθανόλη ή ακετονιτρίλιο, με νερό και υδατικά ρυθμιστικά διαλύματα (MN Editors, 2023).

Στην περίπτωση χρησιμοποίησης πληρωτικών υλικών αντίστροφης φάσης, ο βαθμός συγκράτησης ενός συστατικού στη στήλη εξαρτάται από την λιποφιλικότητα του (Watson, 2005). Οι ενώσεις εκλούονται με σειρά αυξανόμενης υδροφοβικότητας και οι λιγότερο πολικοί αναλύτες μπορούν να εκλουστούν ταχύτερα μειώνοντας την πολικότητα της κινητής φάσης, δηλαδή αυξάνοντας το ποσοστό του οργανικού διαλύτη.

1.6.2 Πειραματική Διάταξη

Μια διάταξη HPLC αποτελείται από τα ακόλουθα βασικά τμήματα:

1.6.2.1 Αντλία

Ο ρόλος της αντλίας (pump) είναι η αναρρόφηση της κινητής φάσης από τις δεξαμενές αποθήκευσης των διαλυτών και η διέλευσή της μέσω της στήλης με σταθερή ταχύτητα ροής. Το σύστημα παροχής της κινητής φάσης είναι υπεύθυνο για την εξασφάλιση ενός σταθερού και αναπαραγώγιμου ρυθμού ροής του υγρού έκλουσης. Η διαβίβαση της υγρής κινητής φάσης μέσα από την στατική φάση επιτυγχάνεται με την χρησιμοποίηση αντλιών υψηλής πιέσεως, όταν η στατική φάση αποτελείται από πολύ μικρής διαμέτρου, και επομένως μεγάλης αντίστασης, σωματίδια υψηλής διαχωριστικής αποδόσεως. Η πίεση που εφαρμόζεται εξαρτάται από τη σύνθεση της κινητής φάσης, την ταχύτητα ροής και το μέγεθος των σωματιδίων της στατικής φάσης (Αφεντούλη, 2023). Οι αντλίες κατασκευάζονται συνήθως από υψηλής ποιότητας ανοξείδωτο χάλυβα ώστε να παρουσιάζουν αντίσταση στην διάβρωση από τους περισσότερους ευρέως χρησιμοποιούμενους διαλύτες της κινητής φάσης.

Η βαθμιδωτή έκλουση (gradient elution) είναι ένας τρόπος έκλουσης κατά τον οποίο περισσότεροι του ενός διαλύτες αναμειγνύονται και η αναλογία των διαλυτών αλλάζει σταδιακά κατά τη διάρκεια της ανάλυσης. Οι αναλογίες ανάμειξης των διαλυτών, και συνεπώς η σύσταση της κινητής φάσης, μεταβάλλεται προοδευτικά, κατά τη διάρκεια του διαχωρισμού, με καθορισμένο πρόγραμμα. Έτσι, διαχωρίζονται στην αρχή οι ουσίες που συγκρατούνται ασθενώς από τη στατική φάση της στήλης και αυξάνοντας βαθμιαία την περιεκτικότητα του διαλύτη με την ισχυρότερη εκλουστική ισχύ εξάγονται από τη στήλη και όσες κατακρατούνται για περισσότερο χρόνο. Οι αντλίες με βαθμιδωτό σύστημα έκλουσης έχουν τη δυνατότητα μίξης από 2 έως 4 διαλύτες ταυτόχρονα και τα σωληνάκια από τα δοχεία των διαλυτών συνδέονται με ειδικές ηλεκτροβάνες οι οποίες ρυθμίζουν το πόσο και από ποιο διαλύτη αντλεί κάθε φορά το σύστημα. Το όργανο LC-MS, που χρησιμοποιήθηκε για τις ανάγκες της παρούσας πτυχιακής εργασίας, διέθετε αντλία υψηλής πίεσης αποτελούμενη από δύο κεφαλές (δυαδική) με δυνατότητα λειτουργίας βαθμιδωτής έκλουσης.

1.6.2.2 Χρωματογραφική Στήλη

Η στήλη είναι υπεύθυνη για τον αποτελεσματικό διαχωρισμό των αναλυτών με βάση το βαθμό συγγένειά τους προς τη στατική φάση. Οι περισσότερες στήλες είναι ευθύγραμμες κυλινδρικές, έχουν συνήθως μήκος που κυμαίνεται από 5 έως και 25 cm και εσωτερική διάμετρο 3 έως 5 mm (Μανούση, 2017). Ειδικότερα, στην παρούσα πτυχιακή εργασία χρησιμοποιήθηκε στήλη τύπου Discovery® C18 HPLC, της εταιρείας Supelco, μήκους 25 cm και εσωτερικής διαμέτρου 4.6 mm. Οι στήλες κατασκευάζονται από υψηλής ποιότητας ανοξείδωτο χάλυβα. Το περίβλημα αυτό παρέχει μηχανική στιβαρότητα και ανθεκτικότητα στη διάβρωση, επιτρέποντας στη στήλη να αντέχει τις υψηλές πιέσεις και να είναι συμβατή με ένα ευρύ φάσμα διαλυτών που χρησιμοποιούνται στην HPLC ως κινητή φάση (MN Editors, 2023).

Η πηκτή πυριτίας (silica gel) είναι το πιο διαδεδομένο υλικό πλήρωσης των στηλών και λειτουργεί τόσο σαν στατική φάση στη υγρή-στερεή χρωματογραφία (Liquid-Solid Chromatography, LSC) όσο και σαν αδρανές υπόστρωμα για την ακινητοποίηση της υγρής στατικής στοιβάδας στη υγρή-υγρή χρωματογραφία (Liquid-Liquid Chromatography, LLC). Τα υλικά πληρώσεως των στηλών είναι πορώδη σωματίδια, των οποίων το μέγεθος κυμαίνεται συνήθως από 3 έως 5 μm (Μανούση, 2017). Η οκταδεκυλική πηκτή πυριτίας χρησιμοποιήθηκε

ως στατική φάση στην παρούσα πτυχιακή εργασία για την επίτευξη του χρωματογραφικού διαχωρισμού των αναλυτών. Πρόκειται για υψηλής καθαρότητας σφαιρικά σωματίδια διοξειδίου του πυριτίου χημικώς συζευγμένα με αλκυλικές αλυσίδες 18 ατόμων άνθρακα. Το πληρωτικό υλικό αποτελείτο από μικροπορώδη σωματίδια διαμέτρου 5 μm με μέγεθος πόρων 180 Å. Τα σωματίδια αυτά είχαν ειδική επιφάνεια της τάξης των 300 m^2/g.

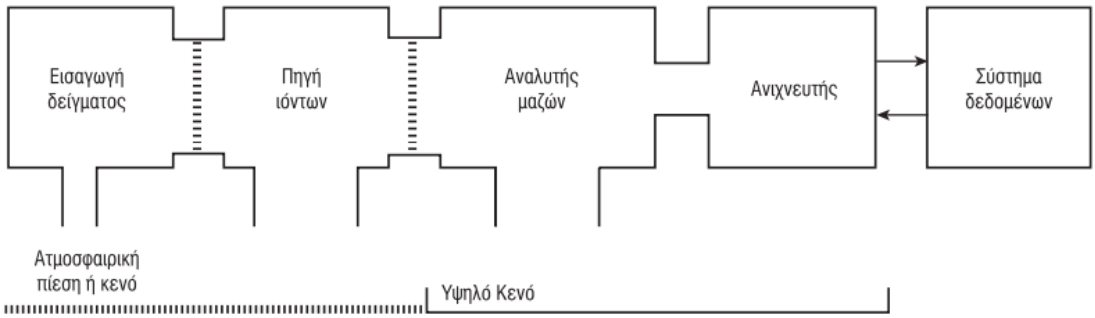
1.7 Φασματομετρία Μάζας

Η φασματομετρία μάζας (Mass Spectometry, MS) αποτελεί μια από τις πιο διαδεδομένες αναλυτικές τεχνικές αναγνώρισης και χαρακτηρισμού δειγμάτων, η οποία βασίζεται στην παραγωγή, το διαχωρισμό και την ακόλουθη καταγραφή ιόντων αέριας φάσης (Φοίβας, 2015). Η διαδικασία αυτή περιλαμβάνει την παραγωγή ιόντων από χημικές ενώσεις ενός δείγματος με τη χρήση κατάλληλης μεθόδου. Το στάδιο ιοντισμού μπορεί να προκαλέσει τον κατακερματισμό ορισμένων συστατικών του δείγματος σε φορτισμένα θραύσματα, ή απλώς να οδηγήσει στο σχηματισμό είτε θετικά είτε αρνητικά φορτισμένων μορίων. Τα παραγόμενα αέρια ιόντα στη συνέχεια διαχωρίζονται με βάση το λόγο μάζας προς φορτίο (mass-to-charge ratio, m/z ή m/e) τους. Κατά το διαχωρισμό, τα ιόντα επιταχύνονται υπό την επίδραση ηλεκτρικού πεδίου και όσα χαρακτηρίζονται από την ίδια αναλογία m/z υφίστανται την ίδια εκτροπή. Τα προκύπτοντα αποτελέσματα παρουσιάζονται με τη μορφή φάσματος μάζας, το οποίο είναι ένα διάγραμμα της έντασης του σήματος του ανιχνευτή ή αλλιώς της σχετικής αφθονίας των ανιχνευόμενων ιόντων ως συνάρτηση του λόγου μάζας προς φορτίο.

Καθότι τα φάσματα που λαμβάνονται είναι χαρακτηριστικά των αναλυόμενων ενώσεων, η φασματομετρία μαζών επιτρέπει την ποιοτική ανίχνευση των συστατικών ενός αγνώστου δείγματος. Επιπλέον, χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό των μοριακών μαζών των χημικών ενώσεων (ανόργανων ή οργανικών) σε ένα δείγμα, συντελώντας στο χαρακτηρισμό και την ταυτοποίησή τους. Ο φασματογράφος μαζών είναι ένας ανιχνευτής υψηλής ευαισθησίας, ικανός να εντοπίζει και να αναλύει ουσίες σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις της τάξης των μερών ανά εκατομμύριο (ppm) ή ακόμα και μερών ανά δισεκατομμύριο (ppb).

1.7.1 Πειραματική Διάταξη

Ένα φασματόμετρο μάζας αποτελείται, όπως φαίνεται στην **Εικόνα 8**, από τα εξής επιμέρους τμήματα:



Εικόνα 8. Βασικά τμήματα ενός φασματομέτρου μάζας (Πηγή: Gross, 2004).

1.7.1.1 Πηγή Ιόντων (ion source)

Το εναρκτήριο βήμα κάθε φασματομετρικού προσδιορισμού είναι ο ιοντισμός των ενώσεων του υπό ανάλυση δείγματος, δηλαδή η μετατροπή τους σε φορτισμένα σωματίδια ή αλλιώς αέρια ιόντα (Bio, 2023). Το στάδιο αυτό αφορά τόσο στον ιοντισμό ατόμων ή μορίων του υπό μελέτη δείγματος όσο και την παραγωγή ιοντικών θραυσμάτων μορίων στην αέρια φάση.

Ο χημικός ιονισμός υπό ατμοσφαιρική πίεση (Atmospheric Pressure Chemical Ionisation, APCI) αποτελεί μια τεχνική ιοντισμού, η οποία χρησιμοποιεί αντιδράσεις μεταξύ ιόντων-μορίων αέριας φάσης για την παραγωγή των φορτισμένων αναλυτών (Αφεντούλη, 2023). Ο ιοντισμός των μορίων του δείγματος πραγματοποιείται υπό συνθήκες ατμοσφαιρικής πίεσης (10^5 Pa) και, πιο συγκεκριμένα, λαμβάνει χώρα εκτός του συστήματος υψηλού κενού που διαθέτει το φασματόμετρο μάζας (Φοίβας, 2015). Η πηγή APCI έχει κυριαρχήσει στη φασματομετρία μαζών σε σύζευξη με τη υγρή χρωματογραφία και χρησιμοποιείται πολύ συχνά ως διεπαφή λόγω της υψηλής συμβατότητας που παρουσιάζει, ειδικά με την HPLC αντίστροφης φάσης (Αφεντούλη, 2023). Η εφεύρεση τεχνικών ιοντισμού που λαμβάνουν χώρα σε συνθήκες ατμοσφαιρικής πίεσης επέτρεψε τη χρήση υψηλότερων ροών κινητής φάσης, προσεγγίζοντας αυτές που χρησιμοποιούνται στην κλασική υγρή χρωματογραφία (Φοίβας, 2015).

Η τεχνική APCI θεωρείται κατάλληλη για τον προσδιορισμό πολικών και μετρίως πολικών αναλυτών μικρού και μεσαίου μοριακού βάρους, έως 2000 Da. Εφαρμόζεται κατά προτίμηση σε πτητικές και θερμικά σταθερές ενώσεις με σημείο ζέσεως κάτω από τους ~500 °C (Αφεντούλη, 2023).

1.7.1.2 Αναλυτής Μαζών

Η δέσμη ιόντων με τη μεσολάβηση ηλεκτρικών πεδίων και υψηλού κενού εισέρχεται στον αναλυτή μαζών. Ο αναλυτής μάζας (mass analyzer) αποτελεί εκείνη την οργανολογική μονάδα του φασματόμετρου μάζας που παρεμβάλλεται μεταξύ της πηγής ιοντισμού και του ανιχνευτή ιόντων. Η κύρια λειτουργία του είναι ο διαχωρισμός των παραγόμενων αέριων ιόντων με βάση το λόγο μάζας προς φορτίο (m/z) τους, προκειμένου να καταστεί δυνατή η ανεξάρτητη μέτρηση από τον ανιχνευτή ιόντων των επιμέρους ειδών ιόντων με διαφορετική αναλογία m/z του ιοντικού ρεύματος (Φοίβας, 2015). Κάθε μονοφορτισμένο ιόν έχει μια μοναδική αναλογία m/z που αντιστοιχεί στη μάζα του. Οι διαφορές στις μάζες των μοριακών ιόντων και θραυσμάτων μορίων επιτρέπουν στον αναλυτή μάζας να ταξινομήσει τα ιόντα

σύμφωνα με τον λόγο μάζας προς φορτίο. Ο διαχωρισμός των ιόντων επιτυγχάνεται μέσω της εφαρμογής δυναμικών ή στατικών ηλεκτρικών ή μαγνητικών πεδίων.

Ο τετραπολικός αναλυτής μάζας (Quadrupole mass analyzer, Q) αποτελεί το συνηθέστερο τύπο αναλυτή μαζών που χρησιμοποιείται στη φασματομετρία μάζας. Ο διαχωρισμός των παραγόμενων ιόντων σύμφωνα με το λόγο m/z βασίζεται στη σταθερότητα της τροχιάς τους και επιτυγχάνεται επιταχύνοντάς το ρεύμα ιοντισμένου αερίου σε μια σειρά ηλεκτρικών πεδίων εντός του αναλυτή μάζας (Μπαλαμπάνος, 2016).

1.7.1.3 Ανιχνευτής Ιόντων

Ο ανιχνευτής ιόντων (ion detector) μετράει τα διαχωρισμένα πλέον με βάση το λόγο m/z ιόντα που προσκρούουν στην επιφάνειά του, αφού έχουν διέλθει από τον αναλυτή μαζών, παράγοντας μετρήσιμο ηλεκτρικό ρεύμα σε ένα κύκλωμα ανίχνευσης (Φοίβας, 2015). Το παραγόμενο ηλεκτρικό σήμα είναι ανάλογο του πληθυσμού ιόντων και του φορτίου τους, που δέχεται στην είσοδό του ο ανιχνευτής στη μονάδα χρόνου, και μπορεί να υποστεί επεξεργασία και ανάλυση (Μπαλαμπάνος, 2016). Επειδή ο αριθμός των ιόντων που εγκαταλείπουν τον αναλυτή μάζας σε μια συγκεκριμένη στιγμή είναι συνήθως αρκετά μικρός, οι ανιχνευτές παράγουν συχνά πολύ αδύναμα σήματα. Για να ξεπεραστεί αυτή η δυσκολία, τα σήματα ενισχύονται με τη χρήση εξειδικευμένων ηλεκτρονικών ή ενισχυτών.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1 Χημικές Ουσίες

Η BPA (99%) και η TCS (98%) αγοράστηκαν από την Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, ΗΠΑ), όπως και οι μεταβολίτες των φθαλικών εστέρων: mono methyl phthalate (MMP) και mono 2-ethylhexyl phthalate (MEHP). Οι μεταβολίτες mono ethyl phthalate (MEP), mono isobutyl phthalate (MiBP), mono butyl Phthalate (MBP) και mono benzyl phthalate (MBzP) προμηθεύτηκαν σε καθαρότητα 98% από την Toronto Research Chemicals (TRC Inc.). Η φαινοβαρβιτάλη, η οποία χρησιμοποιήθηκε ως εσωτερικό πρότυπο, αποκτήθηκε από την Lipomed AG (Arlesheim, Ελβετία).

Η μεθανόλη (CH_3OH) και το ακετονιτρίλιο, τα οποία χρησιμοποιήθηκαν ως συστατικά κινητής φάσης, ήταν κατάλληλα για σύστημα υγρής χρωματογραφίας-φασματομετρίας μάζας (LC-MS grade) και αγοράστηκαν από την Fisher Scientific International, Inc. (Loughborough, Ηνωμένο Βασίλειο). Το υπερκάθαρο νερό παράχθηκε από τη συσκευή Direct-Q® 3 UV System εξαγνισμού νερού της εταιρείας Merck (Darmstadt, Γερμανία). Το οξικό αμμώνιο (CH_3COONH_4), το οποίο χρησιμοποιήθηκε ως πρόσθετο συστατικό της κινητής φάσης, αγοράστηκε από την Sigma-Aldrich. Το φορμικό οξύ (HCOOH, καθαρότητας LC-MS), το οποίο χρησιμοποιήθηκε ως πρόσθετο της κινητής φάσης ακετονιτριλίου, αγοράστηκε από την εταιρεία Honeywell.

2.2 Εξοπλισμός

Η ζύγιση των στερεών αντιδραστηρίων κατέστη εφικτή χρησιμοποιώντας έναν αναλυτικό ζυγό AJ150 ακριβείας 4^{ου} δεκαδικού ψηφίου της εταιρείας Mettler Toledo, με δυνατότητα μέγιστου βάρους ζύγισης έως 150 g. Η εκχύλιση πραγματοποιήθηκε εντός θερμοστατούμενου υδατόλουτρου υπερήχων μοντέλου 3510R-MTH της εταιρείας Branson. Μια συσκευή εξάτμισης χρησιμοποιήθηκε για την εξάτμιση της οργανικής φάσης των μεθανολικών εκχυλισμάτων δειγμάτων τριχών, η οποία πραγματοποιήθηκε στο σύστημα Dri-Block® DB3A της εταιρείας Techne. Επίσης, κατά την πειραματική διαδικασία έγινε χρήση μιας φυγόκεντρου Rotofix 32A με κεφαλή 8 θέσεων της εταιρείας Hettich Zentrifugen.

Για την μετάγγιση των επιθυμητών όγκων υγρών χρησιμοποιήθηκαν μηχανικές πιπέτες μεταβλητού όγκου με εύρη χωρητικότητας 2—20 μl, 10—100 μl, 200—1000 μl. Η ανάδευση του περιεχομένου των σωληναρίων επιτεύχθηκε μέσω χρήσης ενός επιτραπέζιου ανακινητή σωληναρίων τύπου vortex Zx^3 της εταιρείας VELP Scientifica.

Εικόνα 9. Φωτογραφίες εργαστηριακών συσκευών που χρησιμοποιήθηκαν για τη διεκπεραίωση της πειραματικής διαδικασίας. Από πάνω αριστερά προς τα κάτω δεξιά: αναλυτικός ζυγός, φυγόκεντρος, συσκευή εξάτμισης, υδατόλουτρο υπερήχων, ανακινητής Vortex, συσκευή εξαγνισμού νερού.

2.3 Δειγματοληψία Τριχών Κεφαλής

Δείγματα τριχών μαλλιών συλλέχθηκαν από 100 παιδιά ηλικίας 2-16 ετών που ήταν κάτοικοι του νησιού της Κρήτης, Ελλάδα. Η δειγματοληψία έλαβε χώρα στο Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Ηρακλείου (ΠΑ.Γ.Ν.Η.). Ο πληθυσμός της μελέτης αποτελείτο από 75 παιδιά που είχαν διαγνωστεί με χρόνιο πρόβλημα υγείας, και συγκεκριμένα παχυσαρκία, διαβήτη, πρώιμη ήβη και θυρεοειδοπάθεια, στα ιατρεία παιδικής παχυσαρκίας, παιδοδιαβητολογίας και παιδοενδοκρινολογίας, αντιστοίχως, της Παιδιατρικής Κλινικής του ΠΑ.Γ.Ν.Η.. 25 παιδιά αντίστοιχου εύρους ηλικιών του γενικού πληθυσμού που δεν έπασχαν από κάποιο χρόνιο νόσημα (υγιή) αποτέλεσαν την ομάδα ελέγχου.

Η δειγματοληψία περιελάμβανε την λήψη περίπου 200-500 mg μαλλιών όσο το δυνατόν πιο κοντά στο τριχωτό της κεφαλής από το οπίσθιο μέρος της κορυφής του κεφαλιού, σύμφωνα με τις συστάσεις της SoHT (Cooper et al., 2012). Τα μαλλιά που εκφύονται στο τριχωτό της κεφαλής προτιμώνται γιατί έχουν τον ταχύτερο ρυθμό ανάπτυξης με το υψηλότερο ποσοστό ενεργώς αναπτυσσόμενων, και όχι σε φάση ανάπαυσης, θυλακίων (Cooper, 2015). Στο πλαίσιο αυτό, τα ψαλίδια που χρησιμοποιήθηκαν για την κοπή των μαλλιών καθαρίζονταν με αντισηπτικό μαντηλάκι χωρίς οινόπνευμα.

Οι συλλεχθείσες τρίχες μαλλιών, εφόσον είχε αναγνωριστεί το ριζικό τους άκρο, φυλάχθηκαν σε φύλλο αλουμινόχαρτο και , τοποθετήθηκαν σε σημασμένους κατά αριθμό και ιατρείο χάρτινους φακέλους και φυλάχθηκαν σε σκοτεινό και ξηρό μέρος, μακριά από την άμεση έκθεση στην ηλιακή ακτινοβολία, υπό θερμοκρασία δωματίου μέχρι την περαιτέρω ανάλυσή τους.

Τα δείγματα τριχών συλλέχθηκαν μία φορά από κάθε παιδί. Το μήκος των τριχών των δειγμάτων από τα συμμετέχοντα παιδιά ποίκιλε από 4 cm έως 24 cm. Στην παρούσα μελέτη

αναλύθηκαν, , τμήματα τρίχας μέχρι 12 cm, προκειμένου να διερευνηθεί ποσοτικά η έκθεση στους ενδοκρινικούς διαταράκτες ενδιαφέροντος σε βάθος χρόνου ενός έτους από τη λήψη των δειγμάτων.

Η συμμετοχή στην μελέτη ήταν εθελοντική. Πριν την διεξαγωγή της δειγματοληπτικής διαδικασίας, οι συμμετέχοντες ενημερώθηκαν με την παροχή ειδικού εντύπου πληροφόρησης για τον σκοπό και τα προσδοκώμενα οφέλη της έρευνας και ζητήθηκε από τους γονείς των παιδιών γραπτή ενυπόγραφη συγκατάθεση για την λήψη του βιολογικού υλικού και την συμμετοχή των τέκνων τους. Επιπλέον, οι γονείς κλήθηκαν να συμπληρώσουν ένα ερωτηματολόγιο, το οποίο περιελάμβανε ερωτήσεις αναφορικά με τα δημογραφικά χαρακτηριστικά εαυτών και των παιδιών τους (π.χ. φύλο, ηλικία, τόπος διαμονής, εκπαίδευση, επάγγελμα κ.ά.), τα σωματομετρικά στοιχεία των παιδιών, τις διατροφικές συνήθειες των παιδιών και της οικογένειά τους και τα χρόνια προβλήματα υγείας των παιδιών (π.χ. είδος πάθησης, ηλικία εμφάνισης κ.ά.).

2.4 Πειραματική Διαδικασία

2.4.1 Αναλυτικό Πρωτόκολλο Προκατεργασίας Δειγμάτων Μαλλιών

Αρχικά, τα συγκεντρωθέντα μαλλιά τεμαχίστηκαν σε μικρότερα κομμάτια μήκους 2-3 mm με ψαλίδι από ανοξείδωτο χάλυβα. Μια ποσότητα 100 mg από κάθε ομογενοποιημένο δείγμα τριχών ζυγίστηκε και τοποθετήθηκε σε γυάλινο σωληνάριο των 10 ml με βιδωτό καπάκι. Η αποθήκευση σε πλαστικές σακούλες ή σωληνάρια αποφεύχθηκε για να αποτραπεί τυχόν επιμόλυνση (Król et al., 2013).

Τα δείγματα μαλλιών πλύθηκαν τρεις φορές με 2 ml υπερκάθαρου νερού σε λουτρό υπερήχων και τρεις φορές με 2 ml μεθανόλης. Το ενδελεχές πλύσιμο των δειγμάτων μαλλιών, πριν από την ανάλυση, έχει δύο κύριους σκοπούς (Cooper et al., 2012). Πρώτον, για την απομάκρυνση προϊόντων περιποίησης μαλλιών (π.χ. σπρέι/τζελ μαλλιών, σαμπουάν), ιδρώτα, σμήγματος ή επιφανειακού υλικού (π.χ. δερματικά κύτταρα, κ.λπ.) που ενδέχεται να παρεμποδίσουν την ανάλυση ή να μειώσουν την ανάκτηση της εκχύλισης. Δεύτερον, για την απομάκρυνση πιθανής εξωτερικής επιμόλυνσης των προσδιοριζόμενων ουσιών από το περιβάλλον προς αποφυγή υπερεκτιμημένων αποτελεσμάτων. Αυτή η μέθοδος αποκάθαρσης έχει αποδειχθεί ότι είναι αποτελεσματική για την απομάκρυνση ενδογενών ουσιών και χημικών ουσιών που είναι προσροφημένες στην επιφάνεια του στελέχους της τρίχας χωρίς να καταστρέφει το περιτρίχιο της τρίχας (Tang et al., 2023).

Έπειτα, σε κάθε σωληνάριο προστέθηκαν 5 ng φαινοβαρβιτάλης ως εσωτερικό πρότυπο, με τη βοήθεια μηχανικής πιπέτας. Η προκατεργασία των δειγμάτων μαλλιών, ώστε να επιτευχθεί η αποδέσμευση των προσδιοριζόμενων χημικών ενώσεων από το εσωτερικό της μήτρας της τρίχας, προηγείται της ανάλυσης τους με LC-MS. Εκχύλιση στερεού-υγρού πραγματοποιήθηκε με 2 ml μεθανόλης, επωάζοντας τα δείγματα των τριχών εντός λουτρού υπερήχων για 2 ώρες υπό θέρμανση. Το υδατόλουτρο υπερήχων θερμοστατήθηκε για τα πρώτα 30 λεπτά κάθε σταδίου εκχύλισης στους 50 $\pm$ 5 °C και η θερμοκρασία παρακολουθείτο κατά τη διάρκεια της εκχύλισης με υπερήχους ώστε να μην υπερβαίνει την επιθυμητή τιμή. Μέσω της ταλάντωσης που δημιουργούν οι υπέρηχοι επιτεύχθηκε η απελευθέρωση των προσδιοριζόμενων ουσιών από το εσωτερικό της μήτρας της τρίχας στο διαλύτη εκχύλισης. Η διαδικασία εκχύλισης πραγματοποιήθηκε δύο φορές. Πριν και μετά από κάθε στάδιο εκχύλισης, τα δείγματα αναδεύονταν με τη χρήση συστήματος vortex.

Τα προκύπτοντα μεθανολικά εκχυλίσματα (συνολικά 4 ml) από κάθε δείγμα τριχών μεταφέρθηκαν και συγκεντρώθηκαν σε ένα καινούργιο γυάλινο σωληνάριο, κατάλληλο για εισδοχή στις υποδοχές που διαθέτει η θερμαινόμενη μεταλλική μονάδα της συσκευής εξάτμισης. Ο οργανικός διαλύτης εξατμίστηκε μέχρι ξηρού υπό ήπια ροή αερίου αζώτου περίπου στους 40°C. Η συμπύκνωση των δειγμάτων διενεργήθηκε με διοχέτευση αζώτου στην επιφάνεια του διαλύτη μέσω της βελόνας αερίου.

Το στερεό υπόλειμμα επαναδιαλυτοποιήθηκε σε 100 μl μεθανόλης, αναδεύτηκε με τη χρήση συστήματος vortex και μεταγγίστηκε σε φιαλίδια των 2 ml, κατάλληλα για τοποθέτηση στο δίσκο δειγμάτων του συστήματος αυτόματης δειγματοληψίας του οργάνου LC-MS. Ο όγκος του δείγματος που εγχύθηκε στο σύστημα LC-MS ήταν 10 μl.

2.4.2 Πρότυπα Διαλύματα, Διαλύματα Εργασίας & Εμβολιασμένα Δείγματα Μαλλιών

Πρότυπο διάλυμα φαινοβαρβιτάλης (IS) συγκέντρωσης 5 ppm παρασκευάστηκε σε μεθανόλη. Ακολούθησε η προετοιμασία πολυσυστατικού μεθανολικού μείγματος μεταβολιτών φθαλικών εστέρων και μονοσυστατικών μεθανολικών διαλυμάτων BPA και TCS σε συγκέντρωση 10 ppm. Με περαιτέρω αραιώσεις των παραπάνω μεθανολικών διαλυμάτων παρασκευάστηκαν τα πολυσυστατικά πρότυπα διαλύματα όλων των αναλυτών BPA/PEMs/TCS σε συγκεντρώσεις 0, 25, 50, 100, 250, 500 $ng \cdot ml^{-1}$. Τα πολυσυστατικά διαλύματα εργασίας των PEMs συγκεντρώσεων 1 και 0.1 ppm, τα μονοσυστατικά διαλύματα εργασίας της BPA συγκεντρώσεων 1 και 0.1 ppm, καθώς και το μονοσυστατικό διάλυμα εργασίας της TCS συγκέντρωσης 1 ppm προετοιμάστηκαν με κατάλληλες αραιώσεις των πυκνών πρότυπων διαλυμάτων των αναλυόμενων ουσιών συγκέντρωσης 10 ppm σε διαλύτη μεθανόλη. Όλα τα διαλύματα συντηρήθηκαν στους −20 °C σε συνθήκες σκότους.

Στην παρούσα μελέτη τηρήθηκαν οι ειδικές συστάσεις της SoHT όσον αφορά την προετοιμασία των εμβολιασμένων (spiked) δειγμάτων (Society of Hair Testing, 2004). Δείγμα τριχών που υπέδειξε αρνητικά αποτελέσματα για τις προσδιοριζόμενες ουσίες, δηλαδή χωρίς ανιχνεύσιμα επίπεδα (<LODs), ή με ελάχιστη επιβάρυνση σε αυτές, δηλαδή με επίπεδα χαμηλότερα από τις τιμές των ορίων ποσοτικοποίησης (LOQs) της μεθόδου, χρησιμοποιήθηκε ως τυφλό δείγμα για την προετοιμασία των εμβολισμένων δειγμάτων. Οι τρίχες του τυφλού δείγματος, εφόσον κόπηκαν σε μικρά κομμάτια, πλύθηκαν τρεις φορές με 2 ml υπερκάθαρου νερού (για 5 λεπτά) σε λουτρό υπερήχων και με 2 ml μεθανόλης (για 2 λεπτά), ώστε να απομακρυνθούν οι εξωτερικοί επιμολυντές, και ξηράνθηκαν σε φούρνο στους 50 °C επί μία ώρα. Τα εμβολιασμένα δείγματα παρασκευάστηκαν με προσθήκη μεθανολικού διαλύματος των ουσιών, σε εύρη συγκεντρώσεων από 0, 10, 25, 50, 100, 250 και 500 $pg\ mg^{-1}$ για τη δισφαινόλη Α και τους μεταβολίτες φθαλικών εστέρων και από 0, 25, 50, 100, 250, 500 και 1000 $pg\ mg^{-1}$ για την τρικλοζάνη.

Για κάθε παρτίδα των 20 δειγμάτων που αναλύονταν εντός μίας ημέρας, πραγματοποιούταν ταυτοχρόνως ανάλυση ενός αρνητικού δείγματος, εμβολιασμένων δειγμάτων τριχών σε δισφαινόλη Α, τρικλοζάνη και μεταβολίτες φθαλικών εστέρων και ενός πρότυπου διαλύματος που περιείχε μείγμα των προσδιοριζόμενων ενώσεων σε συγκέντρωση 100 $ng \cdot ml^{-1}$. Τα εμβολιασμένα δείγματα χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή των καμπυλών γραμμικής παλινδρόμησης εμβολιασμένων δειγμάτων και, επιπλέον, για τον προσδιορισμό των επιπέδων των αναλυόμενων ουσιών στα συλλεχθέντα από τον πληθυσμό μελέτης δείγματα μαλλιών.

2.4.3 Συνθήκες Λειτουργίας Υγρού Χρωματογράφου

Εικόνα 10. Όργανο υγρής χρωματογραφίας-φασματομετρίας μάζας (LC-MS) της εταιρείας Shimadzu που χρησιμοποιήθηκε για τον ποιοτικό και ποσοτικό προσδιορισμό των αναλυόμενων ενώσεων.

Για την ανίχνευση και τον ποσοτικό προσδιορισμό των αναλυόμενων ενώσεων χρησιμοποιήθηκε ένα σύστημα υγρής χρωματογραφίας συζευγμένο με ένα φασματόμετρο μάζας (LC-MS) της εταιρείας Shimadzu (Kyoto, Ιαπωνία) (*βλέπε* **Εικόνα 10**). Το σύστημα υγρής χρωματογραφίας αποτελείται από δυαδική αντλία LC (Shimadzu LC-20AD Prominence LC), έναν απαερωτή κινητής φάσης (Shimadzu DGU-20As), έναν αυτόματο δειγματολήπτη (Shimadzu SIL-20AC HT) και ένα φούρνο στήλης.

Ο χρωματογραφικός διαχωρισμός των αναλυτών πραγματοποιήθηκε σε αναλυτική στήλη τύπου Discovery® C18 HPLC (l: 25 cm × i.d.: 4.6 mm, μέγεθος σωματιδίων: 5 μm) της εταιρείας Supelco, η οποία αγοράστηκε από την Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, ΗΠΑ). Η στήλη θερμοστατήθηκε στους 30 °C σε ειδικό φούρνο καθ' όλη τη διάρκεια της ανάλυσης.

Η κινητή φάση για την ανάλυση της BPA ήταν ένα μείγμα νερού (διαλύτης A) και μεθανόλης (διαλύτης B), ακολουθώντας ένα πρόγραμμα βαθμιδωτής έκλουσης. Το πρόγραμμα βαθμιδωτής έκλουσης που εφαρμόστηκε ήταν το εξής: συγκέντρωση 15% του διαλύτη B (χρόνος: 1.0 λεπτό), ακολουθούμενη από 98% (χρόνος: 18.00 λεπτά), 98% (χρόνος: 22.00 λεπτά), 15% (χρόνος: 22.00 λεπτά). Η ταχύτητα ροής της κινητής φάσης ήταν 0.6 ml/min και η συνολική διάρκεια της χρωματογραφικής ανάλυσης για κάθε δείγμα ήταν 27 λεπτά. Ο χρόνος κατακράτησης της BPA ήταν 20 λεπτά και του IS ήταν 16.43 λεπτά (**Πίνακας 2**).

Ως κινητή φάση για την ανάλυση των μεταβολιτών των φθαλικών εστέρων και της TCS επιλέχθηκε ένα μείγμα 5 mM ammonium acetate (διαλύτης A) και ακετονιτριλίου με 0,1 % φορμικό οξύ (διαλύτης B), ακολουθώντας ένα πρόγραμμα βαθμιδωτής έκλουσης. Το πρόγραμμα βαθμιδωτής έκλουσης που εφαρμόστηκε ήταν το εξής: συγκέντρωση 15% του διαλύτη B (χρόνος: 1.0 λεπτό) ακολουθούμενη από 95% (χρόνος: 20.0 λεπτά), 95% (χρόνος: 24.0 λεπτά), 15% (χρόνος: 24.0 λεπτά), 15% (χρόνος: 29.0 λεπτά). Η ταχύτητα ροής της κινητής φάσης ήταν 0.6 ml/min και ο απαιτούμενος χρόνος για την ολοκλήρωση του χρωματογραφικού διαχωρισμού ήταν 29 λεπτά. Οι χρόνοι κατακράτησης για κάθε ένωση ήταν οι εξής: MMP: 9.45 λεπτά, MEP: 12.9 λεπτά, MiBP: 17.1 λεπτά, MBP: 17.26 λεπτά, MBzP: 17.56 λεπτά, MEHP: 22.26 λεπτά και IS: 14.15 λεπτά. Ο χρόνος κατακράτησης της TCS ήταν 23.2 λεπτά (**Πίνακας 2**).

2.4.4 Συνθήκες Λειτουργίας Φασματόμετρου Μάζας

Η διάταξη υγρής χρωματογραφίας ήταν συζευγμένη με ένα φασματόμετρο μάζας (Shimadzu LCMS-2010 EV) εξοπλισμένο με πηγή χημικού ιοντισμού υπό ατμοσφαιρική πίεση (Atmospheric Pressure Chemical Ionization, APCI) ρυθμιζόμενη σε αρνητικό ιοντισμό (negative

ionization mode) και απλό τετραπολικό αναλυτή μαζών σε λειτουργία παρακολούθησης επιλεγμένων ιόντων (Selected Ion Monitoring, SIM). Σύμφωνα με τον προαναφερόμενο τρόπο σάρωσης, τα επιλεγμένα ιόντα που ανιχνεύτηκαν χαρακτηρίζονταν από τα εξής m/z για κάθε αναλυόμενη ουσία: IS: **231.05**; BPA: **227.15**, 273.20; MMP: **179**, 225.05; MEP: **193**, 239.05; MiBP: **221.1**, 267.1; MBP: **221.1**, 267.1; MBzP: **255.1**, 301.05; MEHP: **277.1**, 323.1; TCS: **286.9**, 332.95 (**Πίνακας 2**). Με έντονη γραφή επισημαίνονται τα ιόντα m/z που χρησιμοποιήθηκαν για τον ποσοτικό προσδιορισμό των ενώσεων.

Πίνακας 2. Αναλυτικές παράμετροι της εφαρμοζόμενης μεθόδου LC−APCI(-)−MS για BPA, μεταβολίτες φθαλικών εστέρων και TCS σε δείγματα τριχών κεφαλής.

Αναλύτης	Συντομογραφία	Μοριακό βάρος	Χρόνος κατακράτησης RT (min)	Ιόν ποσοτικοποίησης Target ion m/z	Ιόν επιβεβαίωσης Q1 ion m/z
Bisphenol A	**BPA**	228.29	20	227.15	273.20
Mono-methyl phthalate	**MMP**	180.16	9.45	179	225.05
Mono-ethyl phthalate	**MEP**	194.18	12.9	193	239.05
Mono-isobutyl phthalate	**MiBP**	222.24	17.1	221.1	267.1
Mono-butyl phthalate	**MBP**	222.4	17.26	221.1	267.1
Mono-benzyl phthalate	**MBzP**	256.25	17.56	255.1	301.05
Mono-2-ethylhexyl phthalate	**MEHP**	278.34	22.26	277.1	323.1
Triclosan	**TCS**	289.54	23.2	286.9	332.95

Q1: ιόν ποιοτικού χαρακτηρισμού ενώσεων.

Οι λειτουργικές παράμετροι του φασματόμετρου μάζας ρυθμίστηκαν ως παρακάτω:

- Θερμοκρασία διασυνδετή (interface temperature): 400 °C
- Θερμοκρασία γραμμής αποδιαλύτωσης (CDL): 200 °C
- Θερμοκρασία θερμικού μπλοκ: 200 °C
- Ροή αερίου εκνέφωσης: 2.5 l/min
- Πίεση αερίου κατά την ξήρανση με ψεκασμό: 0.02 MPa
- Τάση ανιχνευτή: 1.5 kV

Η καταγραφή και η επεξεργασία των αποτελεσμάτων κατέστη εφικτή με τη χρήση ηλεκτρονικού υπολογιστή μέσω συγκεκριμένου λειτουργικού προγράμματος. Τα δεδομένα καταχωρήθηκαν στο πρόγραμμα λογισμικού υπολογιστικών φύλλων Microsoft Excel 2017. Απλά και ομαδοποιημένα ραβδογράμματα χρησιμοποιήθηκαν για την γραφική απεικόνιση των αποτελεσμάτων.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 Επικύρωση Μεθόδου

Η διασφάλιση ποιότητας των πειραματικών διαδικασιών που εφαρμόζονται στα εργαστήρια είναι απαραίτητη προϋπόθεση για την εξαγωγή αξιόπιστων αναλυτικών αποτελεσμάτων. Στη διαδικασία της διαπίστευσης των εργαστηρίων δοκιμών και διακριβώσεων κατά ISO/IEC 17025:2005 η επικύρωση (validation) των αναλυτικών μεθόδων που χρησιμοποιούνται αποτελεί αναγκαία ενέργεια συμμόρφωσης προς τις απαιτήσεις του ανωτέρω διεθνούς προτύπου. Η επικύρωση αφορά την αξιολόγηση των χαρακτηριστικών ποιότητας της μεθόδου μέσω πειραματικής τεκμηρίωσης ώστε να αποδειχθεί ότι είναι κατάλληλη για τον σκοπό για τον οποίο προορίζεται (fitness for purpose).

Στην παρούσα ερευνητική εργασία, προκειμένου να αξιολογηθεί η αποδοτικότητα της μεθόδου εκχύλισης που ακολουθήθηκε κατά την πειραματική διαδικασία για την προκατεργασία των υπό μελέτη δειγμάτων ανθρώπινων μαλλιών, ελέγχθηκαν και προσδιορίστηκαν οι αναλυτικές παράμετροι της γραμμικότητας, των ορίων ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης, της ανάκτησης, της ακρίβειας και της πιστότητας.

Πίνακας 3. Παράμετροι επικύρωσης της εφαρμοζόμενης μεθόδου για τον προσδιορισμό BPA, μεταβολιτών φθαλικών εστέρων και TCS σε δείγματα τριχών.

Αναλύτης	Γραμμικότητα οργάνου R^2 (standard)	Γραμμικότητα μεθόδου R^2 (spiked)	Όριο ανίχνευσης LOD (pg/mg)	Όριο ποσοτικοποίησης LOQ (pg/mg)	Ανάκτηση % (N = 4)	Ακρίβεια % (N = 4)	Πιστότητα % RSD (N = 4)
BPA	0.9972	0.9974	2.0	6.7	115.9	101.2	18.4
MMP	0.9861	0.9958	2.8	9.4	71.1	90.6	17.2
MEP	0.9806	0.992	1.9	6.3	65.1	90.9	14.8
MiBP	0.9923	0.9919	1.8	5.9	101.0	88.7	18.3
MBP	0.9953	0.9948	2.5	8.5	99.9	97.8	17.3
MBzP	0.9887	0.9894	1.0	3.2	105.8	89.4	14.4
MEHP	0.9961	0.9966	0.5	1.5	128.8	104.4	16.6
TCS	0.9996	0.9975	2.6	8.6	108.7	115.2	16.8

LOD: Limit of Detection.

LOQ: Limit of Quantification.

RSD: Relative Standard Deviation.

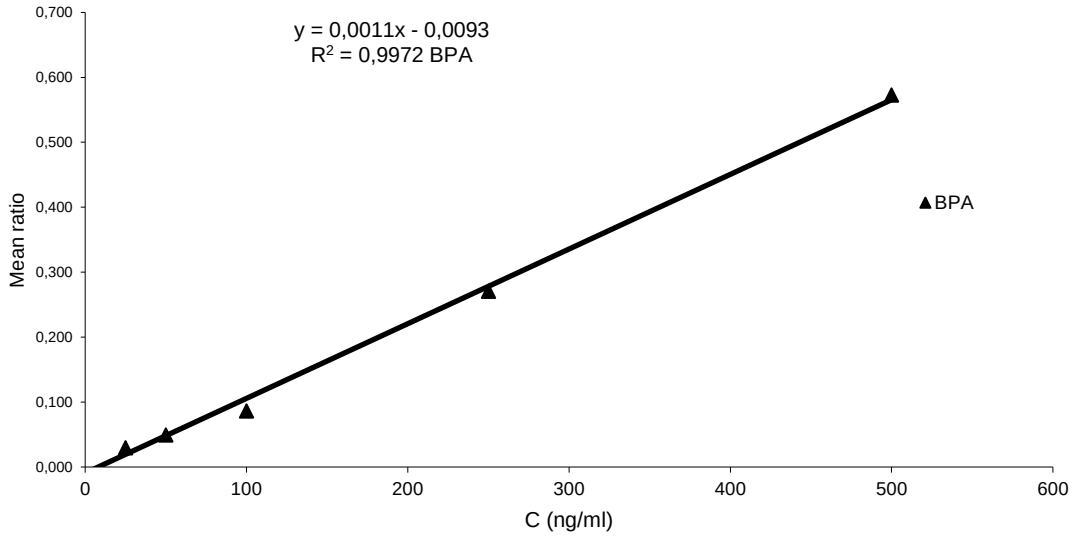
3.1.1 Γραμμικότητα (linearity)

Οι πρότυπες καμπύλες αναφοράς και οι καμπύλες εμβολιασμένων δειγμάτων κατασκευάστηκαν χρησιμοποιώντας το λόγο (ratio) του εμβαδού της χρωματογραφικής κορυφής κάθε αναλυόμενης ένωσης προς το εμβαδόν της κορυφής του εσωτερικού προτύπου. Οι πρότυπες καμπύλες αναφοράς χρησιμοποιήθηκαν για τον έλεγχο της γραμμικότητας του οργάνου, ενώ η χρησιμότητα των καμπυλών εμβολιασμένων δειγμάτων έγκειτο στον έλεγχο της γραμμικότητας της εφαρμοζόμενης μεθόδου και τον ποσοτικό προσδιορισμό των αναλυόμενων ενώσεων στα υπό εξέταση δείγματα ανθρώπινων μαλλιών.

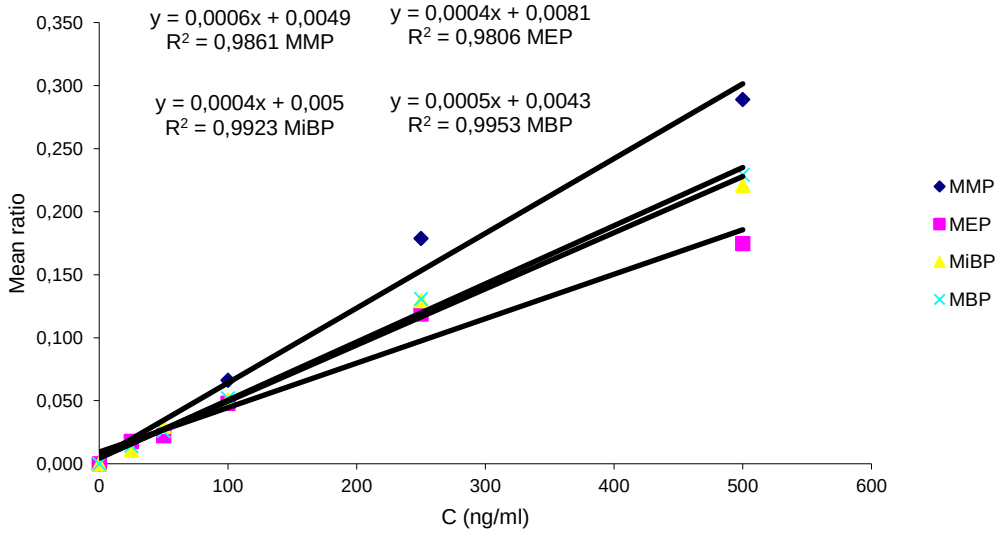
Τόσο οι πρότυπες καμπύλες όσο και οι καμπύλες των εμβολιασμένων δειγμάτων ήταν γραμμικές στα μελετώμενα εύρη με συντελεστές προσδιορισμού $R^2 \geq 0.98$. Εξετάστηκαν εύρη (range) συγκεντρώσεων πρότυπων διαλυμάτων και διαλυμάτων εμβολιασμένων δειγμάτων (BPA & μεταβολίτες φθαλικών εστέρων → standards: 0–500 ng/ml, spiked: 0–500 pg/mg; TCS

→ standards: 0–500 ng/ml, spiked: 0–1000 pg/mg), εντός των οποίων αναμένεται να κυμαίνονται τα επίπεδα των προσδιοριζόμενων ενώσεων στα υπό ανάλυση δείγματα ανθρώπινων μαλλιών.

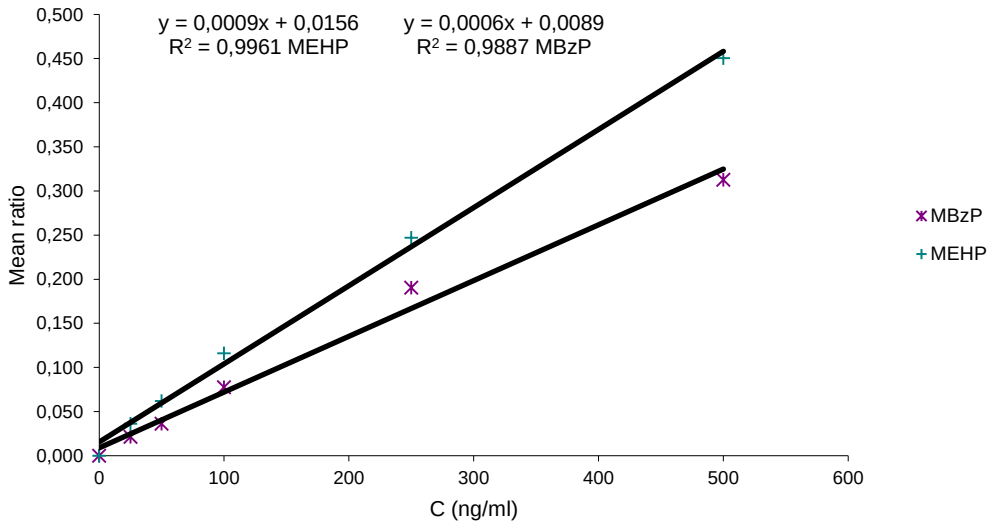
Για τη δημιουργία των πρότυπων καμπυλών αναφοράς παρασκευάστηκαν πρότυπα μονοσυστατικά διαλύματα BPA και TCS και πρότυπα πολυσυστατικά διαλύματα μεταβολιτών φθαλικών εστέρων. Η μέση τιμή του λόγου της επιφάνειας της κορυφής κάθε αναλύτη προς την επιφάνεια της κορυφής του IS από την εκτέλεση επαναλαμβανόμενων μετρήσεων των πρότυπων διαλυμάτων της προσδιοριζόμενης ένωσης για κάθε επίπεδο συγκέντρωσης χρησιμοποιήθηκε για την εκτίμηση της γραμμικότητας του οργάνου. Ο συντελεστής προσδιορισμού, R^2, ο οποίος χρησιμοποιήθηκε ως μέτρο γραμμικότητας, διαπιστώθηκε ότι ήταν 0.9972 για την BPA, 0.9861 για το MMP, 0.9806 για το MEP, 0.9923 για το MiBP, 0.9953 για το MBP, 0.9887 για το MBzP, 0.9961 για το MEHP και 0.9996 για την TCS (**Πίνακας 3**).



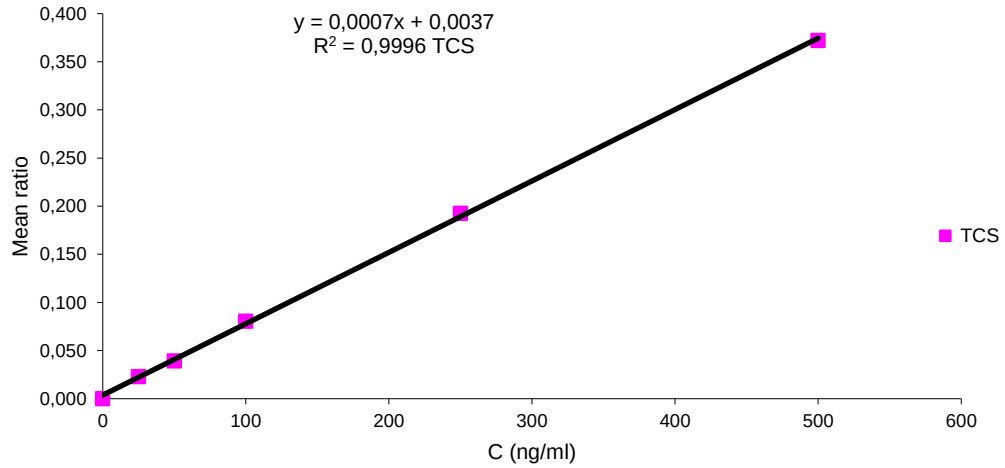
Διάγραμμα 1. Καμπύλη γραμμικής παλινδρόμησης της BPA στα πρότυπα διαλύματα.



Διάγραμμα 2. Καμπύλες γραμμικής παλινδρόμησης των MMP, MEP, MiBP και MBP στα πρότυπα διαλύματα.

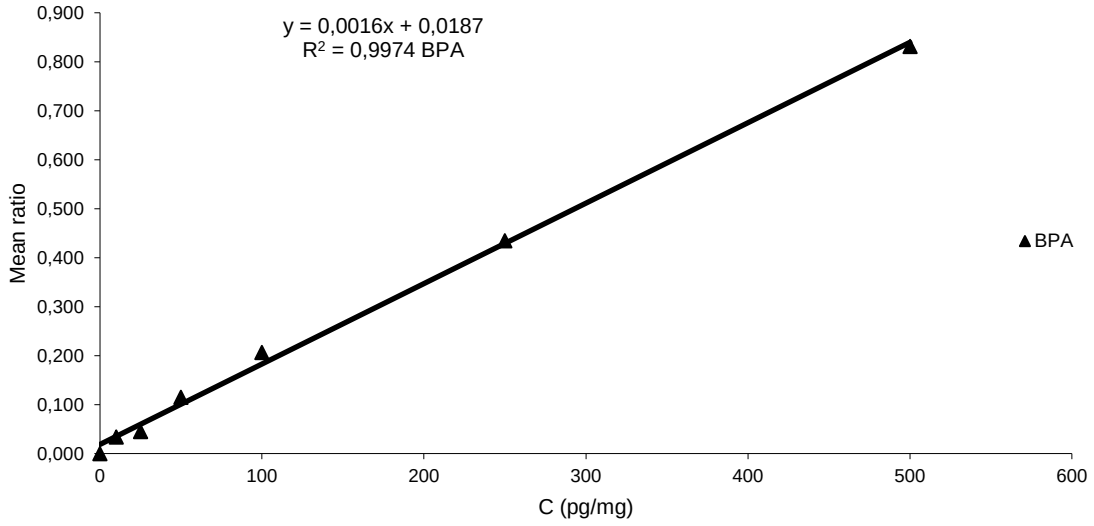


Διάγραμμα 3. Καμπύλες γραμμικής παλινδρόμησης των MBzP και MEHP στα πρότυπα διαλύματα.

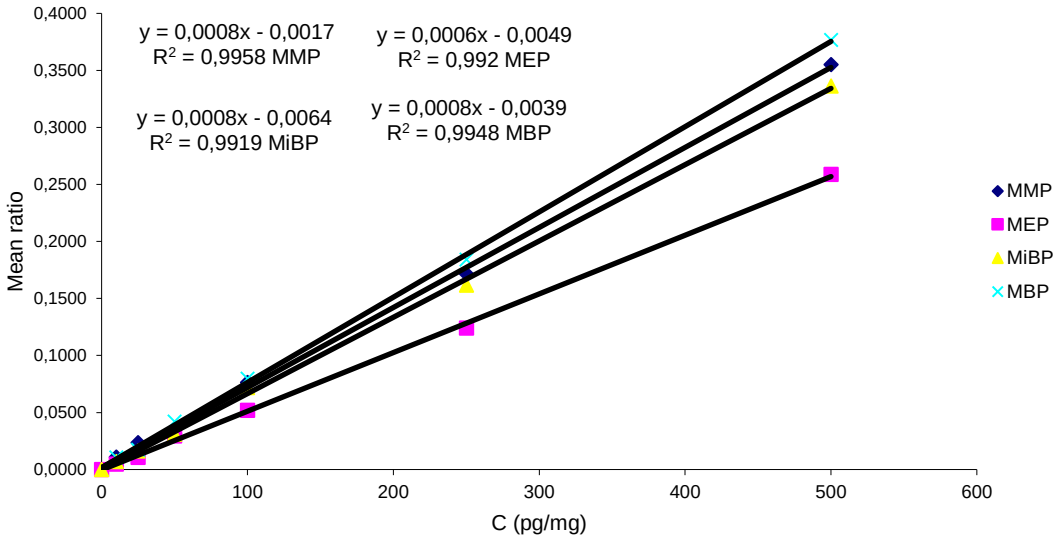


Διάγραμμα 4. Καμπύλη γραμμικής παλινδρόμησης της TCS στα πρότυπα διαλύματα.

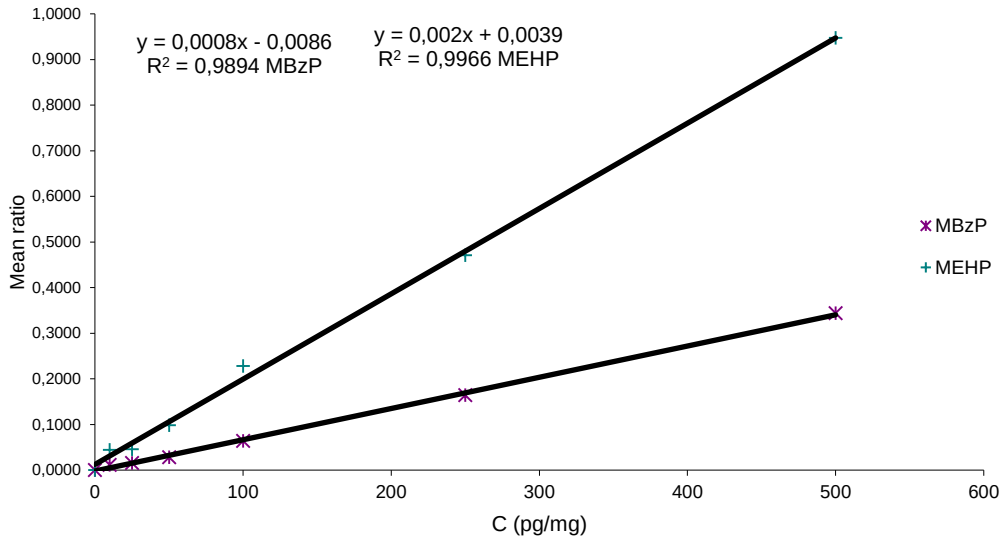
Για την κατασκευή καμπυλών αναφοράς προσαρμοσμένων στη μήτρα των υπό ανάλυση δειγμάτων μαλλιών παρασκευάστηκαν δείγματα τριχών εμβολιασμένα με BPA και μεταβολίτες φθαλικών εστέρων σε συγκεντρώσεις 0, 10, 25, 50, 100, 250 και 500 pg/mg, καθώς και με TCS σε συγκεντρώσεις 0, 25, 50, 100, 250, 500 και 1000 pg/mg. Δείγματα τριχών απαλλαγμένα από τις προσδιοριζόμενες ενώσεις ή έστω με ελάχιστη επιβάρυνση σε αυτές χρησιμοποιήθηκε ως τυφλό για την προετοιμασία των εμβολιασμένων δειγμάτων και εφαρμόστηκε το ίδιο πρωτόκολλο που ακολουθήθηκε για τα εξεταζόμενα δείγματα τριχών κεφαλής του πληθυσμού μελέτης. Ο συντελεστής προσδιορισμού, R^2, διαπιστώθηκε ότι ήταν 0.9974 για την BPA, 0.9958 για το MMP, 0.992 για το MEP, 0.9919 για το MiBP, 0.9948 για το MBP, 0.9894 για το MBzP, 0.9966 για το MEHP και 0.9975 για την TCS (**Πίνακας 3**).



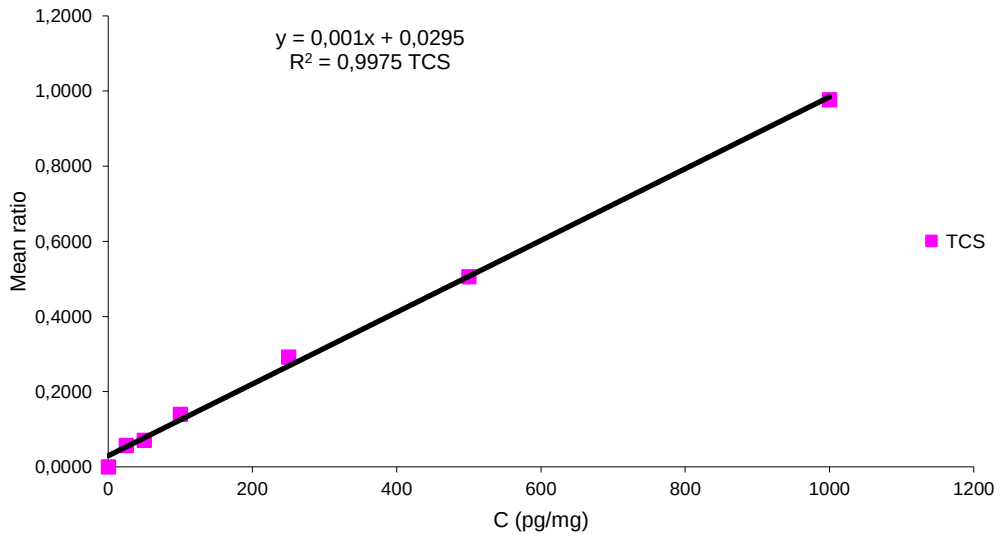
Διάγραμμα 5. Καμπύλη γραμμικής παλινδρόμησης της BPA στα εμβολιασμένα δείγματα τριχών.



Διάγραμμα 6. Καμπύλες γραμμικής παλινδρόμησης των MMP, MEP, MiBP και MBP στα εμβολιασμένα δείγματα τριχών.



Διάγραμμα 7. Καμπύλες γραμμικής παλινδρόμησης των MBzP και MEHP στα εμβολιασμένα δείγματα τριχών.



Διάγραμμα 8. Καμπύλη γραμμικής παλινδρόμησης της TCS στα εμβολιασμένα δείγματα τριχών.

Η εξίσωση της ευθείας (regression line) απλής γραμμικής παλινδρόμησης (simple linear regression) υπολογίζεται με τη μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων. Η εφαρμογή της μεθόδου ελαχίστων τετραγώνων δημιουργεί μια ευθεία παλινδρόμησης της *Y* πάνω στη *X* η οποία ελαχιστοποιεί το άθροισμα των τετραγώνων των αποκλίσεων (κατακόρυφων αποστάσεων) όλων των σημείων $(x_i\,,\ y_i)$ από την ευθεία $y = \alpha + \beta x$, έτσι ώστε να μεγιστοποιηθεί ο βαθμός προσαρμογής του μοντέλου στο "σμήνος" των σημείων.

3.1.2 Όρια Ανίχνευσης & Ποσοτικοποίησης

Οι εκφράσεις των ορίων ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης αποτελούν μια ποσοτική εκτίμηση της ευαισθησίας της χρωματογραφικής μεθόδου, η οποία εφαρμόστηκε για την ανάλυση των χημικών ουσιών ενδιαφέροντος στα δείγματα τρίχας. Ο ορισμός αυτών των ορίων

βασίζεται στην ικανότητα της μεθόδου να διακρίνει το σήμα του αναλύτη από το σήμα του υποβάθρου ή θορύβου.

Το όριο ανίχνευσης (Limit of Detection, LOD) μιας μεθόδου είναι η ελάχιστη δυνατή συγκέντρωση ή ποσότητα ενός συστατικού δείγματος στην οποία η αναλυτική μέθοδος μπορεί να ανιχνεύσει (αλλά όχι να ποσοτικοποιήσει) τον αναλύτη εντός της μήτρας με ορισμένο βαθμό εμπιστοσύνης. Ορίζεται επίσης ως η χαμηλότερη συγκέντρωση του συστατικού, για την οποία η απόκριση του αναλύτη μπορεί να διακριθεί από το σήμα υποβάθρου (background), το θόρυβο (noise) ή το τυφλό (blank) με κάποια αξιοπιστία.

Το όριο ποσοτικοποίησης (Limit of Quantification, LOQ) μιας μεθόδου είναι η ελάχιστη δυνατή συγκέντρωση του αναλύτη που μπορεί να προσδιοριστεί ποσοτικά από την αναλυτική μέθοδο με αξιόπιστο τρόπο.

Τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης υπολογίστηκαν με βάση το λόγο σήματος προς θόρυβο (signal-to-noise ratio, S/N). Μπορεί να εφαρμοστεί μόνο σε αναλυτικές μεθόδους που παρουσιάζουν θόρυβο γραμμής βάσης (baseline noise). Πρόκειται για μια προσέγγιση που πραγματοποιείται συγκρίνοντας τα σήματα δειγμάτων που περιέχουν χαμηλή και γνωστή συγκέντρωση αναλύτη με το σήμα του τυφλού δείγματος. Τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης κάθε μετρούμενης παραμέτρου προσδιορίστηκαν από τα εμβολιασμένα δείγματα τριχών με τη χαμηλότερη συγκέντρωση (10 pg/mg για την BPA & τους μεταβολίτες των φθαλικών εστέρων και 25 pg/mg για την TCS). Ένας γενικά αποδεκτός λόγος σήματος προς θόρυβο για την εκτίμηση του ορίου ανίχνευσης είναι 3:1, ενώ για την εκτίμηση του ορίου ποσοτικοποίησης είναι 10:1. Αυτό σημαίνει ότι ως όριο ανιχνεύσεως ενός συστατικού με μία μέθοδο θεωρείται εκείνη η συγκέντρωση του αναλύτη της οποίας το αναλυτικό σήμα διαφέρει από το σήμα του τυφλού δείγματος κατά 3 φορές, ενώ ως όριο ποσοτικοποίησης θεωρείται εκείνη η συγκέντρωση του αναλύτη της οποίας το αναλυτικό σήμα διαφέρει από το σήμα του τυφλού δείγματος κατά 10 φορές.

Τα LODs διαπιστώθηκαν ότι ήταν 2.0 pg/mg για την BPA, 2.8 pg/mg για το MMP, 1.9 pg/mg για το MEP, 1.8 pg/mg για το MiBP, 2.5 pg/mg για το MBP, 1.0 pg/mg για το MBzP, 0.5 pg/mg για το MEHP και 2.6 pg/mg για την TCS. Τα LOQs βρέθηκαν ότι ήταν 6.7 pg/mg για την BPA, 9.4 pg/mg για το MMP, 6.3 pg/mg για το MEP, 5.9 pg/mg για το MiBP, 8.5 pg/mg για το MBP, 3.2 pg/mg για το MBzP, 1.5 pg/mg για το MEHP και 8.6 pg/mg για την TCS (**Πίνακας 3**).

3.1.3 Ανάκτηση

Η ανάκτηση (recovery) της μεθόδου προσδιορίστηκε εφαρμόζοντας σε εμβολιασμένα δείγματα μαλλιών την ίδια μέθοδο εκχύλισης με εκείνη που ακολουθήθηκε για τα εξεταζόμενα δείγματα τριχών κεφαλής του πληθυσμού μελέτης. Η εκατοστιαία ανάκτηση υπολογίστηκε ως το επί τοις εκατό κλάσμα της ποσότητας (ng) του αναλύτη που βρέθηκε στο δείγμα προς την γνωστή ποσότητα (ng) του αναλύτη που προστέθηκε στο εμβολιασμένο δείγμα.

Η % ανάκτηση προσδιορίστηκε σε επίπεδα συγκέντρωσης 25, 50, 100, 250 και 500 pg/mg για την BPA; 10, 25, 50, 100, 250, 500 και 1000 pg/mg για τους μεταβολίτες φθαλικών εστέρων και 25, 50, 100, 250, 500 και 1000 pg/mg για την TCS. Η μέση ποσοστιαία ανάκτηση ανά εξεταζόμενο επίπεδο συγκέντρωσης κάθε αναλυόμενης ένωσης υπολογίστηκε για την διεξαγωγή τεσσάρων επαναλαμβανόμενων μετρήσεων των εμβολιασμένων δειγμάτων τριχών.

Το αποτέλεσμα της μέσης εκατοστιαίας ανάκτησης της εφαρμοζόμενης μεθόδου προέκυψε ως ο μέσος όρος των επιμέρους μέσων ποσοστιαίων ανακτήσεων για όλα τα εξεταζόμενα επίπεδα συγκέντρωσης κάθε αναλύτη στα εμβολιασμένα δείγματα μαλλιών. Έτσι,

η μέση % ανάκτηση της μεθόδου διαπιστώθηκε ότι ήταν 115.9% για την BPA, 71.1% για το MMP, 65.1% για το MEP, 101.0% για το MiBP, 99.9% για το MBP, 105.8% για το MBzP, 128.8% για το MEHP και 108.7% για την TCS (**Πίνακας 3**).

3.1.4 Ακρίβεια

Η ακρίβεια (accuracy) αποτελεί ένα μέτρο της εγγύτητας της πειραματικώς μετρούμενης τιμής συγκεντρώσεως προς την πραγματική (παραδεκτή) τιμή (true value) ή τιμή αναφοράς.

Η ακρίβεια της μεθόδου ελέγχθηκε με την ανάλυση εμβολιασμένων δειγμάτων μαλλιών. Η εκατοστιαία ακρίβεια υπολογίστηκε ως το επί τοις εκατό κλάσμα της συγκέντρωσης (pg/mg) του αναλύτη που βρέθηκε στο δείγμα προς την γνωστή συγκέντρωση (pg/mg) του αναλύτη που προστέθηκε στο εμβολιασμένο δείγμα.

Η % ακρίβεια προσδιορίστηκε σε επίπεδα συγκέντρωσης 25, 50, 100, 250 και 500 pg/mg για την BPA; 10, 25, 50, 100, 250, 500 και 1000 pg/mg για τους μεταβολίτες φθαλικών εστέρων και 25, 50, 100, 250, 500, 1000 και 2000 pg/mg για την TCS. Η μέση ακρίβεια ανά εξεταζόμενο επίπεδο συγκέντρωσης κάθε αναλυόμενης ένωσης υπολογίστηκε για την εκτέλεση επαναλαμβανόμενων μετρήσεων των εμβολιασμένων δειγμάτων τριχών.

Η μέση % ακρίβεια της μεθόδου διαπιστώθηκε ότι ήταν 101.2% για την BPA, 90.6% για το MMP, 90.9% για το MEP, 88.7% για το MiBP, 97.8% για το MBP, 89.4% για το MBzP, 104.4% για το MEHP και 115.2% για την TCS (**Πίνακας 3**).

3.1.5 Πιστότητα

Η πιστότητα (precision) εκφράζει το βαθμό της συμφωνίας μεταξύ των αριθμητικών τιμών επαναλαμβανόμενων μετρήσεων που έχουν όμως ληφθεί υπό τις ίδιες ακριβώς πειραματιστικές συνθήκες. Ως μία παράμετρος ποιότητας της αναλυτικής μεθόδου, η πιστότητα μπορεί να περιγραφεί ως η ποσότητα που μετρά τη διασπορά (dispersion) των αποτελεσμάτων, όταν η αναλυτική μεθοδολογία επαναλαμβάνεται σε ένα δείγμα.

Με τους όρους επαναληψιμότητα (repeatability) ή ενδιάμεση πιστότητα (intermediate precision) αναφέρεται το μέτρο της διασποράς των τιμών διαδοχικών ανεξάρτητων μετρήσεων που λαμβάνονται εκτελώντας την ίδια μέθοδο ελέγχου στο ίδιο δείγμα από το ίδιο προσωπικό με την ίδια συσκευή στο ίδιο εργαστήριο και σε διαφορετικές ημέρες (inter-day precision). Η επαναληψιμότητα χαρακτηρίζει τη συμφωνία των αποτελεσμάτων μιας σειράς μετρήσεων μεταξύ τους, δηλαδή δείχνει πόσο κοντά μεταξύ τους βρίσκονται τα αποτελέσματα. Η επαναληψιμότητα είναι τόσο μεγαλύτερη, όσο μικρότερη είναι η διασπορά των αποτελεσμάτων.

Στην παρούσα πτυχιακή εργασία, ως μέτρο της πιστότητας χρησιμοποιήθηκε η % σχετική τυπική απόκλιση (Relative Standard Deviation, RSD) που συμβολίζεται συνήθως ως % RSD και είναι επίσης γνωστή ως συντελεστής μεταβολής ή συντελεστής μεταβλητότητας (Coefficient of Variation, CV).

Η πιστότητα της μεθόδου ελέγχθηκε με την ανάλυση εμβολιασμένων δειγμάτων τριχών. Η εκατοστιαία σχετική τυπική απόκλιση ή αλλιώς ο συντελεστής μεταβλητότητας, εκφρασμένος επί τοις εκατό, μιας σειράς μετρήσεων συγκέντρωσης εμβολιασμένων δειγμάτων τριχών, οι οποίες πραγματοποιήθηκαν μεταξύ διαφορετικών ημερών (between days), χρησιμοποιήθηκε ως μέτρο της πιστότητας της μεθόδου. Η % σχετική τυπική απόκλιση

προσδιορίστηκε σε επίπεδα συγκέντρωσης 50, 100, 250, 500 και 1000 pg/mg για την BPA; 10, 25, 50, 100, 250, 500 και 1000 pg/mg για τους μεταβολίτες φθαλικών εστέρων και 25, 50, 100, 250, 500, 1000 και 2000 pg/mg για την TCS.

Η μέση % σχετική τυπική απόκλιση διαπιστώθηκε ότι ήταν 18.4% για την BPA, 17.2% για το MMP, 14.8% για το MEP, 18.3% για το MiBP, 17.3% για το MBP, 14.4% για το MBzP, 16.6% για το MEHP και 16.8% για την TCS (**Πίνακας 3**).

3.2 Αποτελέσματα βιοπαρακολούθησης της BPA, των μεταβολιτών φθαλικών εστέρων και της TCS σε δείγματα τριχών κεφαλής

Ο πληθυσμός της παρούσας ερευνητικής πτυχιακής εργασίας ήταν παιδιά που είχαν διαγνωστεί με διαβήτη, πρώιμη ήβη ή θυρεοειδοπάθεια, και παχυσαρκία στα ιατρεία παιδοδιαβητολογίας, παιδοενδοκρινολογίας και παιδικής παχυσαρκίας, αντιστοίχως, της Παιδιατρικής Κλινικής του ΠΑ.Γ.Ν.Η..

3.2.1 Υγιή παιδιά

Τα αποτελέσματα της ανάλυσης των συνολικά 25 δειγμάτων τριχών κεφαλής παιδιών που δεν έπασχαν από κάποιο χρόνιο νόσημα με την τεχνική LC-MS κατέδειξαν ότι η BPA ανιχνεύτηκε στο 56.0% των δειγμάτων, το MMP στο 8.0%, το MiBP στο 80.0%, το MBP στο 56.0%, το MBzP στο 16.0%, το MEHP στο 92.0%, η TCS στο 48.0%, ενώ το MEP δεν εντοπίστηκε σε κανένα από τα δείγματα (**Πίνακας 4**).

Οι τιμές των συγκεντρώσεων, οι οποίες βρέθηκαν στα δείγματα τριχών κεφαλής των υγιών παιδιών, κυμάνθηκαν μεταξύ 12.7 pg/mg και 380.0 pg/mg για τη BPA, 28.0 pg/mg και 40.6 pg/mg για το MMP, 13.8 pg/mg και 312.3 pg/mg για το MiBP, 14.9 pg/mg και 156.6 pg/mg για το MBP, 20.6 pg/mg και 51.8 pg/mg για το MBzP, 8.2 pg/mg και 733.6 pg/mg για το MEHP & 11.7 pg/mg και 479.8 pg/mg για την TCS. Η διάμεσος τιμή των ανιχνευόμενων συγκεντρώσεων στα θετικά δείγματα ήταν 89.1 pg/mg για τη BPA, 34.3 pg/mg για το MMP, 34.3 pg/mg για το MiBP, 30.7 pg/mg για το MBP, 43.5 pg/mg για το MBzP, 101.4 pg/mg για το MEHP και 98.5 pg/mg για την TCS. Η μέση συγκέντρωση των θετικών δειγμάτων υπολογίστηκε ότι ήταν 116.8 pg/mg για τη BPA, 34.3 pg/mg για το MMP, 61.3 pg/mg για το MiBP, 51.7 pg/mg για το MBP, 39.9 pg/mg για το MBzP, 184.0 pg/mg για το MEHP και 154.0 pg/mg για την TCS (**Πίνακας 4**).

Πίνακας 4. Ανιχνευόμενα επίπεδα συγκέντρωσης και συχνότητες ανίχνευσης BPA, μεταβολιτών φθαλικών εστέρων και TCS σε δείγματα τριχών κεφαλής υγιών παιδιών.

Αναλύτης	Μέση συγκέντρωση C_{mean} (pg/mg)	Ελάχιστη συγκέντρωση C_{min} (pg/mg)	Μέγιστη συγκέντρωση C_{max} (pg/mg)	Διάμεσος συγκέντρωση C_{median} (pg/mg)	Συχνότητα ανίχνευσης % DF
BPA	116.8	12.7	380.0	89.1	56.0
MMP	34.3	28.0	40.6	34.3	8.0
MEP	–	–	–	–	0.0
MiBP	61.3	13.8	312.3	34.3	80.0
MBP	51.7	14.9	156.6	30.7	56.0
MBzP	39.9	20.6	51.8	43.5	16.0
MEHP	184.0	8.2	733.6	101.4	92.0
TCS	154.0	11.7	479.8	98.5	48.0

DF: Detection Frequency.

3.2.2 Παιδιά πάσχοντα από διαβήτη

Τα αποτελέσματα της ανάλυσης των συνολικά 25 δειγμάτων τριχών κεφαλής παιδιών που έπασχαν από διαβήτη με την τεχνική LC-MS κατέδειξαν ότι η BPA ανιχνεύτηκε στο 88.0% των δειγμάτων, το MMP στο 52.0%, το MEP στο 8.0%, το MiBP στο 20.0%, το MBP στο 60.0%, το MBzP στο 4.0%, το MEHP στο 100.0% και η TCS στο 28.0% (**Πίνακας 5**).

Οι τιμές των συγκεντρώσεων, οι οποίες βρέθηκαν στα δείγματα τριχών κεφαλής των διαβητικών παιδιών, κυμάνθηκαν μεταξύ 17.5 pg/mg και 720.6 pg/mg για τη BPA, 12.4 pg/mg και 363.5 pg/mg για το MMP, 42.8 pg/mg και 68.7 pg/mg για το MEP, 49.0 pg/mg και 108.9 pg/mg για το MiBP, 23.7 pg/mg και 120.1 pg/mg για το MBP, 20.9 pg/mg και 969.1 pg/mg για το MEHP & 13.3 pg/mg και 1337.3 pg/mg για την TCS. Η διάμεσος τιμή των ανιχνευόμενων συγκεντρώσεων ήταν 143.4 pg/mg για τη BPA, 60.6 pg/mg για το MMP, 55.8 pg/mg για το MEP, 83.8 pg/mg για το MiBP, 62.9 pg/mg για το MBP, 30.6 pg/mg για το MBzP (ένα θετικό δείγμα), 150.4 pg/mg για το MEHP και 263.2 pg/mg για την TCS. Η μέση συγκέντρωση των θετικών δειγμάτων υπολογίστηκε ότι ήταν 243.9 pg/mg για τη BPA, 108.7 pg/mg για το MMP, 55.8 pg/mg για το MEP, 83.9 pg/mg για το MiBP, 69.7 pg/mg για το MBP, 30.6 pg/mg για το MBzP, 224.5 pg/mg για το MEHP και 333.0 pg/mg για την TCS (**Πίνακας 5**).

Πίνακας 5. Ανιχνευόμενα επίπεδα συγκέντρωσης και συχνότητες ανίχνευσης BPA, μεταβολιτών φθαλικών εστέρων και TCS σε δείγματα τριχών κεφαλής παιδιών που πάσχουν από διαβήτη.

Αναλύτης	Μέση συγκέντρωση C_{mean} (pg/mg)	Ελάχιστη συγκέντρωση C_{min} (pg/mg)	Μέγιστη συγκέντρωση C_{max} (pg/mg)	Διάμεσος συγκέντρωση C_{median} (pg/mg)	Συχνότητα ανίχνευσης % DF
BPA	243.9	17.5	720.6	143.4	88.0
MMP	108.7	12.4	363.5	60.6	52.0
MEP	55.8	42.8	68.7	55.8	8.0
MiBP	83.9	49.0	108.9	83.8	20.0
MBP	69.7	23.7	120.1	62.9	60.0
MEHP	224.5	20.9	969.1	150.4	100.0
TCS	333.0	13.3	1337.3	263.2	28.0

DF: Detection Frequency.

3.2.3 Παιδιά με ενδοκρινολογικά προβλήματα

Τα αποτελέσματα της ανάλυσης των συνολικά 25 δειγμάτων τριχών κεφαλής παιδιών που έπασχαν από ενδοκρινολογικά προβλήματα με την τεχνική LC-MS κατέδειξαν ότι η BPA ανιχνεύτηκε στο 79.2% των δειγμάτων, το MMP στο 28.0%, το MEP στο 4.0%, το MiBP στο 88.0%, το MBP στο 92.0%, το MBzP στο 16.0%, το MEHP στο 100.0% και η TCS στο 52.0% (**Πίνακας 6**).

Οι τιμές των συγκεντρώσεων, οι οποίες βρέθηκαν στα δείγματα τριχών κεφαλής των παιδιών με ενδοκρινολογικά προβλήματα, κυμάνθηκαν μεταξύ 29.8 pg/mg και 372.5 pg/mg για τη BPA, 36.3 pg/mg και 298.4 pg/mg για το MMP, 13.8 pg/mg και 68.5 pg/mg για το MiBP, 12.4 pg/mg και 170.2 pg/mg για το MBP, 21.0 pg/mg και 38.3 pg/mg για το MBzP, 38.5 pg/mg και 1014.2 pg/mg για το MEHP & 18.7 pg/mg και 949.2 pg/mg για την TCS. Η διάμεσος τιμή των ανιχνευόμενων συγκεντρώσεων ήταν 79.8 pg/mg για τη BPA, 79.7 pg/mg για το MMP, 53.1 pg/mg για το MEP (ένα θετικό δείγμα), 31.6 pg/mg για το MiBP, 32.4 pg/mg για το MBP, 27.7 pg/mg για το MBzP, 110.7 pg/mg για το MEHP και 104.7 pg/mg για την TCS. Η μέση συγκέντρωση

των θετικών δειγμάτων υπολογίστηκε ότι ήταν 109.3 pg/mg για τη BPA, 108.9 pg/mg για το MMP, 53.1 pg/mg για το MEP, 32.4 pg/mg για το MiBP, 38.9 pg/mg για το MBP, 28.7 pg/mg για το MBzP, 181.8 pg/mg για το MEHP και 234.8 pg/mg για την TCS (**Πίνακας 6**).

Πίνακας 6. Ανιχνευόμενα επίπεδα συγκέντρωσης και συχνότητες ανίχνευσης BPA, μεταβολιτών φθαλικών εστέρων και TCS σε δείγματα τριχών κεφαλής παιδιών που πάσχουν από ενδοκρινολογικά προβλήματα.

Αναλύτης	Μέση συγκέντρωση C_{mean} (pg/mg)	Ελάχιστη συγκέντρωση C_{min} (pg/mg)	Μέγιστη συγκέντρωση C_{max} (pg/mg)	Διάμεσος συγκέντρωση C_{median} (pg/mg)	Συχνότητα ανίχνευσης % DF
BPA	109.3	29.8	372.5	79.8	79.2
MMP	108.9	36.3	298.4	79.7	28.0
MiBP	32.4	13.8	68.5	31.6	88.0
MBP	38.9	12.4	170.2	32.4	92.0
MBzP	28.7	21.0	38.3	27.7	16.0
MEHP	181.8	38.5	1014.2	110.7	100.0
TCS	234.8	18.7	949.2	104.7	52.0

DF: Detection Frequency.

3.2.4 Παιδιά πάσχοντα από παχυσαρκία

Τα αποτελέσματα της ανάλυσης των συνολικά 25 δειγμάτων τριχών κεφαλής παιδιών που έπασχαν από παχυσαρκία με την τεχνική LC-MS κατέδειξαν ότι η BPA ανιχνεύτηκε στο 63.6% των δειγμάτων, το MMP στο 4.0%, το MiBP στο 80.0%, το MBP στο 96.0%, το MBzP στο 4.0%, το MEHP στο 100.0%, η TCS στο 56.0%, ενώ το MEP δεν εντοπίστηκε σε κανένα από τα δείγματα (**Πίνακας 7**).

Οι τιμές των συγκεντρώσεων, οι οποίες βρέθηκαν στα δείγματα τριχών κεφαλής των παχύσαρκων παιδιών, κυμάνθηκαν μεταξύ 10.7 pg/mg και 295.8 pg/mg για τη BPA, 9.3 pg/mg και 110.2 pg/mg για το MiBP, 11.8 pg/mg και 193.8 pg/mg για το MBP, 26.3 pg/mg και 584.1 pg/mg για το MEHP & 46.3 pg/mg και 488.2 pg/mg για την TCS. Η διάμεσος τιμή των ανιχνευόμενων συγκεντρώσεων ήταν 87.2 pg/mg για τη BPA, 27.7 pg/mg για το MiBP, 33.2 pg/mg για το MBP, 82.7 pg/mg για το MEHP και 87.1 pg/mg για την TCS. Η μέση συγκέντρωση των θετικών δειγμάτων υπολογίστηκε ότι ήταν 95.0 pg/mg για τη BPA, 32.8 pg/mg για το MMP, 32.5 pg/mg για το MiBP, 60.1 pg/mg για το MBP, 14.2 pg/mg για το MBzP, 159.8 pg/mg για το MEHP και 181.4 pg/mg για την TCS (**Πίνακας 7**). Ενώ μόνο ένα δείγμα βρέθηκε θετικό για το MMP και το MBzP με συγκέντρωση 32.8 pg/mg και 14.2 pg/mg, αντίστοιχα.

Πίνακας 7. Ανιχνευόμενα επίπεδα συγκέντρωσης και συχνότητες ανίχνευσης BPA, μεταβολιτών φθαλικών εστέρων και TCS σε δείγματα τριχών κεφαλής παιδιών που πάσχουν από παχυσαρκία.

Αναλύτης	Μέση συγκέντρωση C_{mean} (pg/mg)	Ελάχιστη συγκέντρωση C_{min} (pg/mg)	Μέγιστη συγκέντρωση C_{max} (pg/mg)	Διάμεσος συγκέντρωση C_{median} (pg/mg)	Συχνότητα ανίχνευσης % DF
BPA	95.0	10.7	295.8	87.2	63.6
MEP	–	–	–	–	0.0
MiBP	32.5	9.3	110.2	27.7	80.0
MBP	60.1	11.8	193.8	33.2	96.0

MBzP	–	14.2	14.2	–	4.0
MEHP	159.8	26.3	584.1	82.7	100.0
TCS	181.4	46.3	488.2	87.1	56.0

DF: Detection Frequency.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

4.1 Σύγκριση των μέσων τιμών συγκέντρωσης BPA, μεταβολιτών φθαλικών εστέρων και TCS μεταξύ της ομάδας ελέγχου και των κατηγοριών των παιδιών που πάσχουν από συγκεκριμένο χρόνιο πρόβλημα υγείας

Διαφορές καταγράφηκαν στα ανιχνευόμενα επίπεδα συγκέντρωσης όλων των προσδιοριζόμενων ενώσεων μεταξύ των μελετώμενων κατηγοριών παιδιών που έπασχαν από συγκεκριμένο χρόνιο πρόβλημα υγείας και της ομάδας ελέγχου (**Πίνακας 8**).

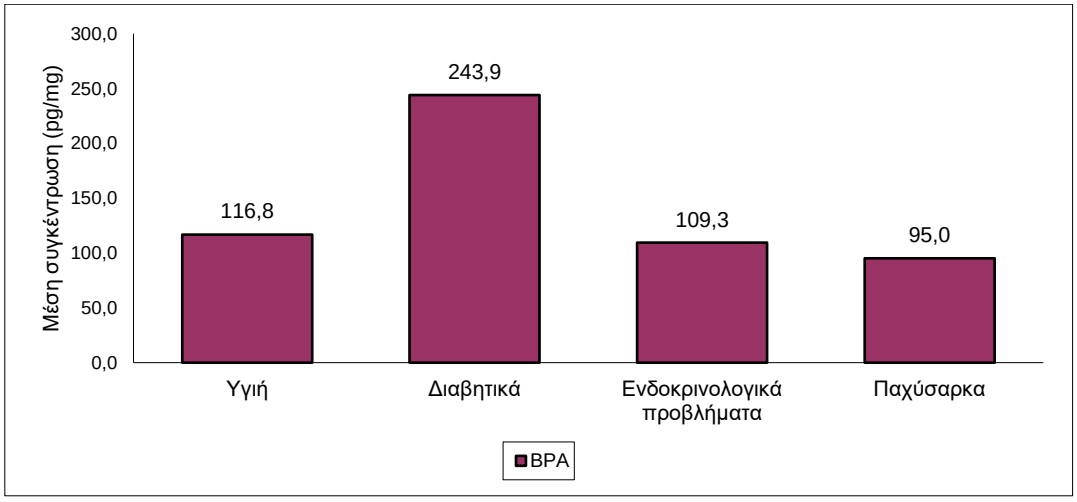
Διαπιστώθηκε ότι τα διαβητικά παιδιά ήταν περισσότερο επιβαρυμένα με BPA (243.9 pg/mg) συγκριτικά με τις άλλες μελετώμενες κατηγορίες παιδιών που έπασχαν από συγκεκριμένο χρόνιο πρόβλημα υγείας και την ομάδα ελέγχου, των οποίων το επίπεδο επιβάρυνσης κυμαινόταν από 95.0 pg/mg στα παχύσαρκα παιδιά έως 116.8 pg/mg στην ομάδα ελέγχου.

Η έκθεση των παιδιών με ενδοκρινολογικά προβλήματα και διαβήτη σε MMP (108.9 pg/mg και 108.7 pg/mg, αντίστοιχα) ήταν υψηλότερη από την έκθεση των άλλων μελετώμενων κατηγοριών παιδιών. Στις υπόλοιπες μελετώμενες ομάδες παιδιών η μέση τιμή συγκέντρωσης του MMP κυμαινόταν από 32.8 pg/mg στα παχύσαρκα παιδιά έως 34.3 pg/mg στην ομάδα ελέγχου. Η μέση συγκέντρωση του MEP στα θετικά δείγματα των διαβητικών παιδιών (55.8 pg/mg) ήταν ανάλογη με την αντίστοιχη των παιδιών με ενδοκρινολογικά προβλήματα (53.1 pg/mg). Η μέση συγκέντρωση του MiBP στα θετικά δείγματα των διαβητικών παιδιών (83.9 pg/mg) ήταν υψηλότερη από τις αντίστοιχες των υπολοίπων εξεταζόμενων κατηγοριών παιδιών που έπασχαν από συγκεκριμένο χρόνιο πρόβλημα υγείας και της ομάδας ελέγχου, των οποίων η μέση τιμή κυμαινόταν από 32.4 pg/mg στα παιδιά που έπασχαν από ενδοκρινολογικά προβλήματα έως 61.3 pg/mg στην ομάδα ελέγχου. Η μέση συγκέντρωση του MBP στα θετικά δείγματα των διαβητικών παιδιών (69.7 pg/mg) ήταν υψηλότερη από τις αντίστοιχες των υπολοίπων εξεταζόμενων κατηγοριών παιδιών που έπασχαν από συγκεκριμένο χρόνιο πρόβλημα υγείας και της ομάδας ελέγχου, των οποίων η μέση τιμή κυμαινόταν από 38.9 pg/mg στα παιδιά που έπασχαν από ενδοκρινολογικά προβλήματα έως 60.1 pg/mg στα παχύσαρκα παιδιά. Η μέση συγκέντρωση του MEHP στα θετικά δείγματα των διαβητικών παιδιών (224.5 pg/mg) ήταν υψηλότερη από τις αντίστοιχες των υπολοίπων εξεταζόμενων κατηγοριών παιδιών που έπασχαν από συγκεκριμένο χρόνιο πρόβλημα υγείας και της ομάδας ελέγχου, των οποίων η μέση τιμή κυμαινόταν από 159.8 pg/mg στα παχύσαρκα παιδιά έως 184.0 pg/mg στην ομάδα ελέγχου.

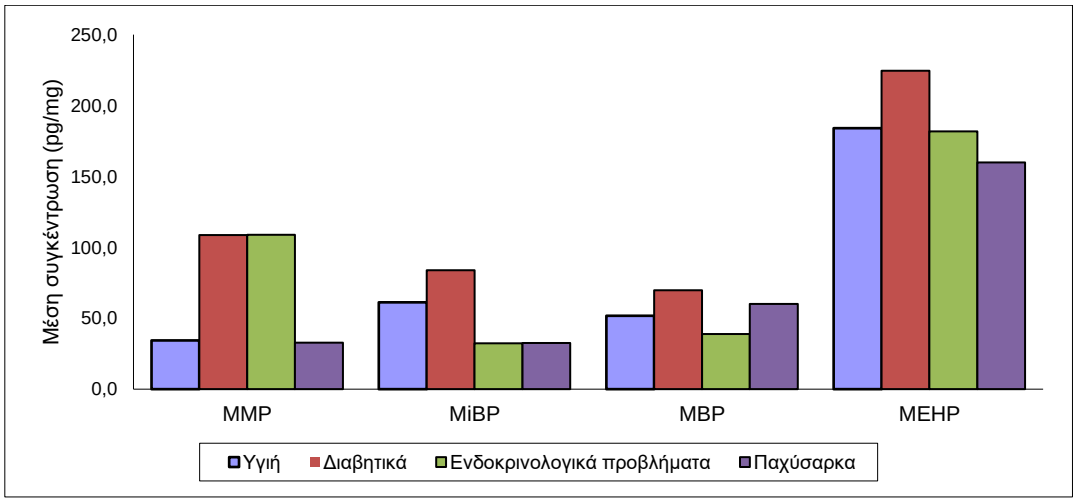
Η έκθεση των διαβητικών παιδιών σε TCS (333.0 pg/mg) ήταν υψηλότερη από την έκθεση των άλλων μελετώμενων κατηγοριών παιδιών που έπασχαν από συγκεκριμένο χρόνιο πρόβλημα υγείας και της ομάδας ελέγχου, των οποίων η μέση τιμή συγκέντρωσης κυμαινόταν από 154.0 pg/mg στην ομάδα ελέγχου έως 234.8 pg/mg στα παιδιά που έπασχαν από ενδοκρινολογικά προβλήματα.

Πίνακας 8. Σύγκριση της μέσης συγκέντρωσης των προσδιοριζόμενων ενώσεων μεταξύ των θετικών δειγμάτων της ομάδας ελέγχου και των κατηγοριών των παιδιών που πάσχουν από συγκεκριμένο χρόνιο πρόβλημα υγείας.

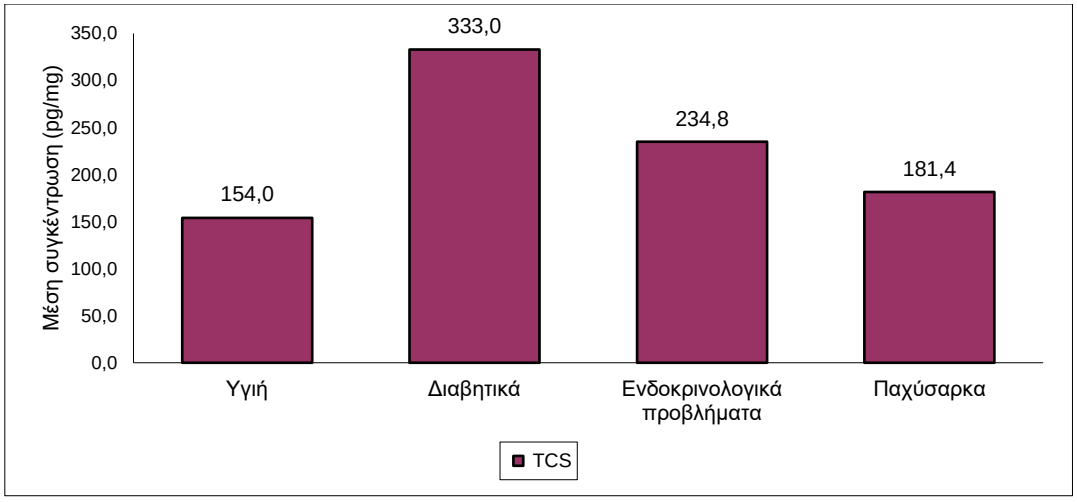
Κατηγορία παιδιών	BPA (pg/mg)	MMP (pg/mg)	MEP (pg/mg)	MiBP (pg/mg)	MBP (pg/mg)	MEHP (pg/mg)	TCS (pg/mg)
Υγιή	116.8	34.3	–	61.3	51.7	184.0	154.0
Διαβητικά	243.9	108.7	55.8	83.9	69.7	224.5	333.0
Ενδοκρινολογικά προβλήματα	109.3	108.9	53.1	32.4	38.9	181.8	234.8
Παχύσαρκα	95.0	32.8	–	32.5	60.1	159.8	181.4



Διάγραμμα 9. Απλό ραβδόγραμμα της μέσης συγκέντρωσης BPA για τα θετικά δείγματα της ομάδας ελέγχου και των κατηγοριών των παιδιών που πάσχουν από συγκεκριμένο χρόνιο πρόβλημα υγείας.



Διάγραμμα 10. Ομαδοποιημένο ραβδόγραμμα της μέσης συγκέντρωσης των θετικών δειγμάτων για τους μεταβολίτες των φθαλικών εστέρων ανάλογα με την παρουσία συγκεκριμένων ιατρικών προβλημάτων ή την απουσία χρόνιων νοσημάτων στον πληθυσμό μελέτης.



Διάγραμμα 11. Απλό ραβδόγραμμα της μέσης συγκέντρωσης TCS για τα θετικά δείγματα της ομάδας ελέγχου και των κατηγοριών των παιδιών που πάσχουν από συγκεκριμένο χρόνιο πρόβλημα υγείας.

4.2 Σύγκριση των συχνοτήτων ανίχνευσης BPA, μεταβολιτών φθαλικών εστέρων και TCS μεταξύ των δειγμάτων της ομάδας ελέγχου και των κατηγοριών των παιδιών που πάσχουν από συγκεκριμένο χρόνιο πρόβλημα υγείας

Διαφορές καταγράφηκαν, επίσης, στις συχνότητες ανίχνευσης όλων των προσδιοριζόμενων ενώσεων μεταξύ των δειγμάτων των μελετώμενων κατηγοριών παιδιών που έπασχαν από συγκεκριμένο χρόνιο πρόβλημα υγείας και της ομάδας ελέγχου (**Πίνακας 9**).

Η BPA εντοπίστηκε με μεγαλύτερη συχνότητα στα δείγματα τριχών κεφαλής των διαβητικών παιδιών (88.0%) σε σχέση με τις άλλες μελετώμενες κατηγορίες παιδιών που έπασχαν από συγκεκριμένο χρόνιο πρόβλημα υγείας και την ομάδα ελέγχου, των οποίων το αντίστοιχο ποσοστό ανίχνευσης κυμαινόταν από 56.0% στην ομάδα ελέγχου έως 79.2% στα παιδιά που έπασχαν από ενδοκρινολογικά προβλήματα.

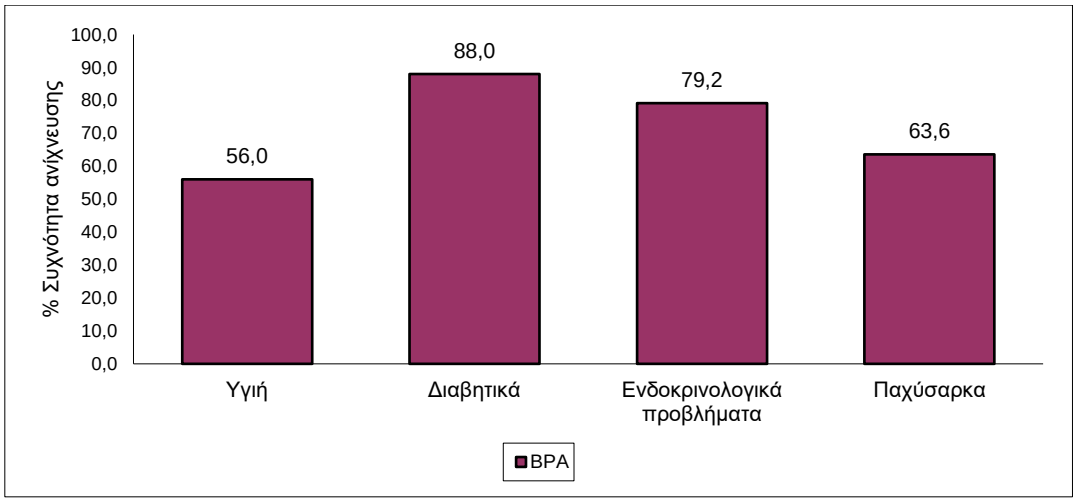
Ο MMP εντοπίστηκε με μεγαλύτερη συχνότητα στα δείγματα των διαβητικών παιδιών (52.0%) έναντι των υπολοίπων εξεταζόμενων κατηγοριών παιδιών που έπασχαν από συγκεκριμένο χρόνιο πρόβλημα υγείας και της ομάδας ελέγχου, των οποίων το αντίστοιχο ποσοστό ανίχνευσης κυμαινόταν από 4.0% στα παχύσαρκα παιδιά έως 28.0% στα παιδιά που έπασχαν από ενδοκρινολογικά προβλήματα. Το ποσοστό ανίχνευσης MEP στα δείγματα τριχών κεφαλής των διαβητικών παιδιών (8.0%) υπερέβαινε το αντίστοιχο ποσοστό στα δείγματα των παιδιών που έπασχαν από ενδοκρινολογικά προβλήματα (4.0%), ενώ ο φθαλικός μονοαιθυλεστέρας δεν εντοπίστηκε σε κανένα από τα δείγματα των παχύσαρκων και των υγιών παιδιών. Ο MiBP εντοπίστηκε με μεγαλύτερη συχνότητα στα δείγματα των παιδιών πασχόντων από ενδοκρινολογικά προβλήματα (88.0%) έναντι των υπολοίπων εξεταζόμενων κατηγοριών παιδιών που έπασχαν από συγκεκριμένο χρόνιο πρόβλημα υγείας και της ομάδας ελέγχου, των οποίων το αντίστοιχο ποσοστό ανίχνευσης κυμαινόταν από 20.0% στα διαβητικά παιδιά έως 80.0% στα παχύσαρκα και τα υγιή παιδιά. Ο MBP εντοπίστηκε με μεγαλύτερη συχνότητα στα δείγματα των παχύσαρκων παιδιών (96.0%) έναντι των υπολοίπων εξεταζόμενων κατηγοριών παιδιών που έπασχαν από συγκεκριμένο χρόνιο πρόβλημα υγείας και της ομάδας ελέγχου, των οποίων το αντίστοιχο ποσοστό ανίχνευσης κυμαινόταν από 56.0% στην ομάδα ελέγχου έως 92.0% στα παιδιά που έπασχαν από ενδοκρινολογικά προβλήματα. Το ποσοστό ανίχνευσης MBzP στα δείγματα των παιδιών πασχόντων από ενδοκρινολογικά προβλήματα και των υγιών

παιδιών (16.0%) υπερέβαινε το αντίστοιχο ποσοστό στα δείγματα των διαβητικών και παχύσαρκων παιδιών (4.0%). Το ποσοστό ανίχνευσης MEHP στα συλλεχθέντα δείγματα κυμαινόταν από 92.0% στην ομάδα ελέγχου έως 100.0% σε όλες τις εξεταζόμενες κατηγορίες παιδιών που έπασχαν από συγκεκριμένο χρόνιο πρόβλημα υγείας.

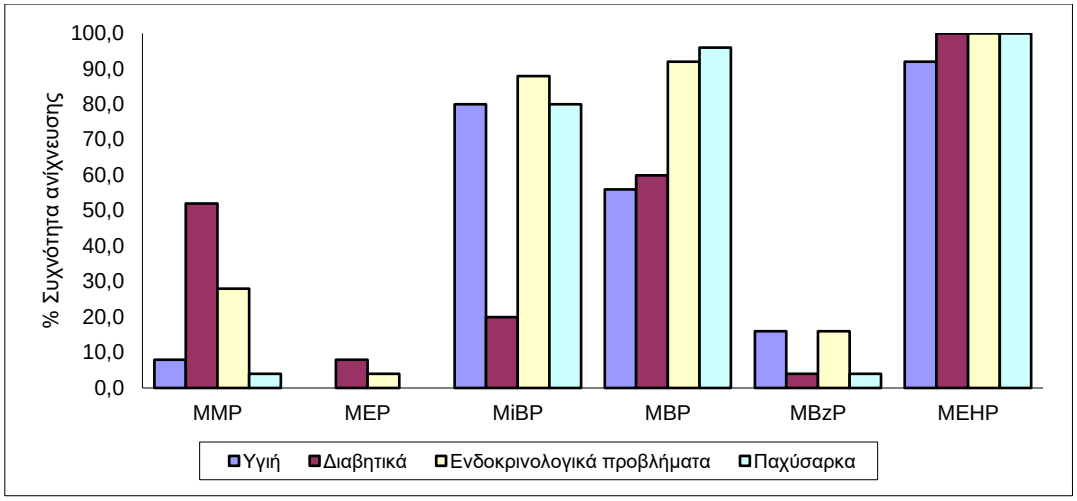
Η TCS εντοπίστηκε με μεγαλύτερη συχνότητα στα δείγματα τριχών κεφαλής των παχύσαρκων παιδιών (56.0%) σε σχέση με τις άλλες μελετώμενες κατηγορίες παιδιών που έπασχαν από συγκεκριμένο χρόνιο πρόβλημα υγείας και την ομάδα ελέγχου, των οποίων το αντίστοιχο ποσοστό ανίχνευσης κυμαινόταν από 28.0% στα διαβητικά παιδιά έως 52.0% στα παιδιά που έπασχαν από ενδοκρινολογικά προβλήματα.

Πίνακας 9. Σύγκριση της συχνότητας ανίχνευσης των προσδιοριζόμενων ενώσεων μεταξύ των δειγμάτων της ομάδας ελέγχου και των κατηγοριών των παιδιών που πάσχουν από συγκεκριμένο χρόνιο πρόβλημα υγείας.

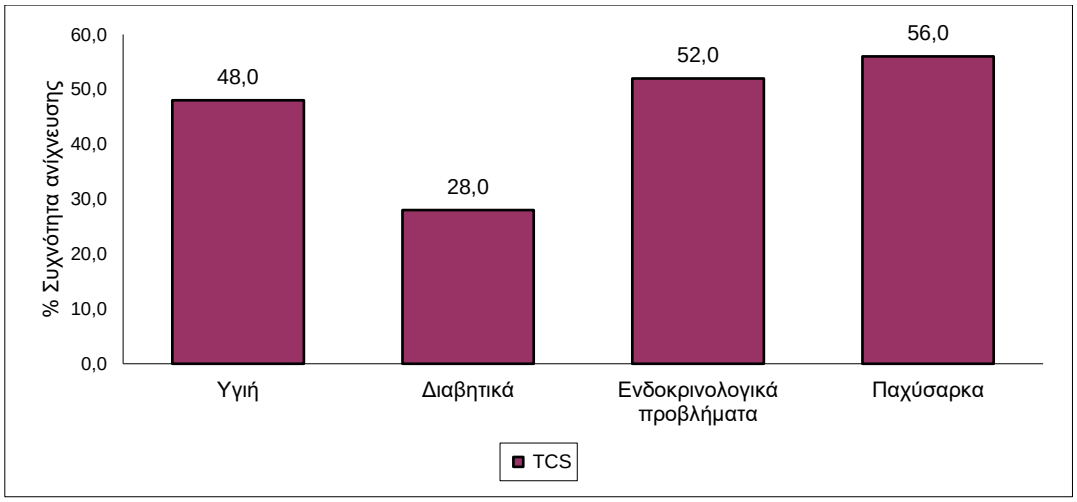
Κατηγορία παιδιών	BPA % DF	MMP % DF	MEP % DF	MiBP % DF	MBP % DF	MBzP % DF	MEHP % DF	TCS % DF
Υγιή	56.0	8.0	0.0	80.0	56.0	16.0	92.0	48.0
Διαβητικά	88.0	52.0	8.0	20.0	60.0	4.0	100.0	28.0
Ενδοκρινολογικά προβλήματα	79.2	28.0	4.0	88.0	92.0	16.0	100.0	52.0
Παχύσαρκα	63.6	4.0	0.0	80.0	96.0	4.0	100.0	56.0



Διάγραμμα 12. Απλό ραβδόγραμμα της συχνότητας ανίχνευσης της BPA στα δείγματα της ομάδας ελέγχου και των κατηγοριών των παιδιών που πάσχουν από συγκεκριμένο χρόνιο πρόβλημα υγείας.



Διάγραμμα 13. Ομαδοποιημένο ραβδόγραμμα της συχνότητας ανίχνευσης των μεταβολιτών των φθαλικών εστέρων ανάλογα με την παρουσία συγκεκριμένων ιατρικών προβλημάτων ή την απουσία χρόνιων νοσημάτων στον πληθυσμό μελέτης.



Διάγραμμα 14. Απλό ραβδόγραμμα της συχνότητας ανίχνευσης της TCS στα δείγματα της ομάδας ελέγχου και των κατηγοριών των παιδιών που πάσχουν από συγκεκριμένο χρόνιο πρόβλημα υγείας.

4.3 Δισφαινόλη Α

Από την ανάλυση του συνόλου των δειγμάτων τριχών κεφαλής, τα διαβητικά παιδιά ήταν περισσότερο επιβαρυμένα με BPA (μεγαλύτερη συχνότητα ανίχνευσης: 88.0% και υψηλότερο επίπεδο συγκέντρωσης: 243.9 pg/mg) συγκριτικά με τις άλλες μελετώμενες κατηγορίες παιδιών που έπασχαν από συγκεκριμένο χρόνιο πρόβλημα υγείας και την ομάδα ελέγχου. Όσον αφορά τις μέσες τιμές συγκέντρωσης BPA των θετικών δειγμάτων για τα υγιή παιδιά (116.8 pg/mg), τα παιδιά με ενδοκρινολογικά προβλήματα (109.3 pg/mg) και τα παχύσαρκα παιδιά (95.0 pg/mg), παρουσίασαν αρκετή ομοιότητα μεταξύ τους. Ωστόσο, αξιοπρόσεκτο είναι το γεγονός ότι η έκθεση των παιδιών με ενδοκρινολογικά προβλήματα και των παχύσαρκων παιδιών σε BPA ήταν ελαφρώς χαμηλότερη από την έκθεση των υγιών παιδιών.

Διαφορές καταγράφηκαν, επίσης, στις συχνότητες ανίχνευσης BPA μεταξύ των δειγμάτων των μελετώμενων κατηγοριών παιδιών που έπασχαν από συγκεκριμένο χρόνιο

πρόβλημα υγείας και της ομάδας ελέγχου. Ειδικότερα, τα ποσοστά ανίχνευσης BPA στα δείγματα τριχών κεφαλής παιδιών που έπασχαν από ορισμένο χρόνιο νόσημα υπερέβαιναν το αντίστοιχο ποσοστό στα δείγματα των υγιών παιδιών (56.0%). Η συχνότητα ανίχνευσης BPA στα δείγματα παιδιών με ενδοκρινολογικά προβλήματα (79.2%), αν και μικρότερη, ήταν σε επίπεδο παραπλήσιο με εκείνη στα αναλυθέντα δείγματα των διαβητικών παιδιών (88.0%).

Σε άλλες ήδη δημοσιευμένες μελέτες έχει αναφερθεί ότι δεν υπήρχε σημαντική διαφορά όσον αφορά τις μέσες συγκεντρώσεις BPA στα ούρα μεταξύ παιδιών που ήταν υπέρβαρα και εκείνων με φυσιολογικό βάρος (Wang et al., 2014; Xue et al., 2015). Αντιθέτως, τα αποτελέσματα της έρευνας των Nicolucci et al. (2013) κατέδειξαν ότι τα παχύσαρκα παιδιά είχαν υψηλότερη μέση συγκέντρωση BPA στα ούρα σε σύγκριση με τα παιδιά φυσιολογικού βάρους.

Τα αποτελέσματα βιοπαρακολούθησης της BPA που παρουσιάζονται στη μελέτη των Tzatzarakis et al. (2015) υπέδειξαν ότι το 37.5% των συγκεντρωθέντων δειγμάτων τριχών κεφαλής από ελληνόπουλα (κάτω των 18 ετών) αγροτικής περιοχής ήταν θετικά στον συγκεκριμένο ενδοκρινικό διαταράκτη, αναφέροντας μέση συγκέντρωση BPA της τάξης των 37.9 pg/mg (13.1−72.8 pg/mg). Οι Karzi et al. (2018) διερεύνησαν την έκθεση σε BPA 72 παιδιών (πληθυσμός μελέτης αποτελούμενος από μεγαλύτερο αριθμό ατόμων) ηλικίας 2 έως 12 ετών, τα οποία ήταν κάτοικοι του νησιού της Κρήτης (Ελλάδα), και διαπίστωσαν ότι η BPA βρέθηκε στο 70.8% των δειγμάτων τριχών κεφαλής με μέση τιμή συγκέντρωσης των 20.6 pg/mg (2.6−205.5 pg/mg). Δείγματα τριχών κεφαλής συλλέχθηκαν από 42 εθελοντές του γενικού πληθυσμού, μεταξύ των οποίων συμπεριλαμβάνονταν και 10 παιδιά, από τη Σεβίλλη της Ισπανίας και προέκυψε ότι η BPA ήταν παρούσα στο 83% των αναλυόμενων δειγμάτων με μέση τιμή συγκέντρωσης των 333.8 pg/mg (24.4−1427.5 pg/mg) (Martin et al., 2019).

4.4 Μεταβολίτες φθαλικών εστέρων

Σύμφωνα με τα ευρήματα της ανάλυσης του συνόλου των δειγμάτων τριχών κεφαλής, διαπιστώθηκε ότι η μέση συγκέντρωση του MEHP στα θετικά δείγματα όλων των εξεταζόμενων ομάδων παιδιών που έπασχαν από συγκεκριμένο χρόνιο πρόβλημα υγείας και της ομάδας ελέγχου ήταν υψηλότερη από τις αντίστοιχες των άλλων διερευνώμενων μεταβολιτών φθαλικών εστέρων. Όσον αφορά τα διαβητικά παιδιά και τα παιδιά με ενδοκρινολογικά προβλήματα, ο φθαλικός μεταβολίτης με την αμέσως επόμενη, κατά σειρά, υψηλότερη μέση συγκέντρωση ήταν το MMP, του οποίου οι τιμές παρουσίασαν εξαιρετική ομοιότητα μεταξύ τους στις προαναφερόμενες κατηγορίες παιδιών (108.7 pg/mg και 108.9 pg/mg, αντίστοιχα). Εντούτοις, το μοτίβο κατανομής των μεταβολιτών των φθαλικών εστέρων βάσει των μέσων τιμών συγκέντρωσής τους διέφερε από ομάδα σε ομάδα.

Μεγαλύτερη συχνότητα ανίχνευσης στα δείγματα τριχών κεφαλής που συλλέχθηκαν από τις μελετώμενες ομάδες παιδιών, σημείωσε ο κύριος μεταβολίτης του DEHP, ο MEHP, με ποσοστό που κυμαινόταν από 92.0% στην ομάδα ελέγχου έως 100.0% σε όλες τις εξεταζόμενες κατηγορίες παιδιών που έπασχαν από συγκεκριμένο χρόνιο πρόβλημα υγείας. Ο δεύτερος κατά σειρά φθαλικός μεταβολίτης με το μεγαλύτερο καταγεγραμμένο ποσοστό ανίχνευσης στα δείγματα των παιδιών με ενδοκρινολογικά προβλήματα (92.0%) και των παχύσαρκων παιδιών (96.0%) ήταν το MBP, ενώ η αντίστοιχη ένωση για τα υγιή παιδιά ήταν το MiBP (80.0%). Μικρότερα έως και μηδαμινά ποσοστά ανίχνευσης παρατηρήθηκαν στα δείγματα όλων των μελετώμενων ομάδων παιδιών όσον αφορά το MEP και το MBzP.

Σε μια προηγούμενη μελέτη που έλαβε χώρα στην Ταϊβάν, ο ποσοτικός προσδιορισμός πέντε μεταβολιτών του DEHP σε 10 δείγματα τριχών κεφαλής αποκάλυψε μέση συγκέντρωση MEHP της τάξης των 44.9 pg/mg (15.3−96.2 pg/mg) (Chang et al., 2013). Η διερεύνηση της επιβάρυνσης σε μεταβολίτες φθαλικών εστέρων ντόπιων μαθητών/τριών από νηπιαγωγεία του Χονγκ Κονγκ (n=27, ηλικία: 4-6 ετών) κατέδειξε τον εντοπισμό πέντε φθαλικών μεταβολιτών στα δείγματα τριχών κεφαλής με συχνότητες ανίχνευσης 100% για τα MBP και MEHP, 74% για το MMP, 48% για το MEP και 22% για το MBzP. Οι μέσες τιμές συγκέντρωσής τους ήταν 51.0 pg/mg για το MBP, 16.1 pg/mg για το MMP, 5.3 pg/mg για το MEHP, 3.1 pg/mg για το MEP και 1.4 pg/mg για το MBzP (Li et al., 2021). Μεταξύ των προαναφερόμενων ανιχνευόμενων χημικών ουσιών, το MBP ανιχνεύθηκε σε ποσοστό 100% (51.0 pg/mg) σε αντίθεση με την παρούσα μελέτη όπου το αντίστοιχο ποσοστό ήταν πολύ μικρότερο.

4.5 Τρικλοζάνη

Τα αποτελέσματα της ανάλυσης του συνόλου των δειγμάτων τριχών κεφαλής κατέδειξαν ότι η έκθεση των διαβητικών παιδιών σε TCS (333.0 pg/mg) ήταν υψηλότερη από την έκθεση των άλλων μελετώμενων κατηγοριών παιδιών που έπασχαν από συγκεκριμένο χρόνιο πρόβλημα υγείας και της ομάδας ελέγχου, παρότι η TCS ανιχνεύτηκε με μικρότερη συχνότητα στα δείγματα αυτής της κατηγορίας παιδιών (28.0%) έναντι των υπολοίπων ομάδων. Πέραν τούτου, οι μέσες τιμές συγκέντρωσης TCS των θετικών δειγμάτων για τα παιδιά με ενδοκρινολογικά προβλήματα (234.8 pg/mg) και τα παχύσαρκα παιδιά (181.4 pg/mg), αν και χαμηλότερες της αντίστοιχης των διαβητικών παιδιών, ήταν εμφανώς υψηλότερες από εκείνη των υγιών παιδιών (154.0 pg/mg).

Η TCS εντοπίστηκε με μεγαλύτερη συχνότητα στα δείγματα τριχών κεφαλής των παχύσαρκων παιδιών (56.0%) σε σχέση με τις άλλες μελετώμενες κατηγορίες παιδιών που έπασχαν από συγκεκριμένο χρόνιο πρόβλημα υγείας και την ομάδα ελέγχου. Τα ποσοστά ανίχνευσης TCS ήταν σε παρόμοια επίπεδα μεταξύ των δειγμάτων των υγιών παιδιών (48.0%), των παιδιών με ενδοκρινολογικά προβλήματα (52.0%) και των παχύσαρκων παιδιών (56.0%).

Τα δεδομένα στη βιβλιογραφία αναφορικά με τα επίπεδα TCS σε δείγματα τριχών κεφαλής είναι περιορισμένα. Στη μελέτη που διεξήχθη από τους Karzi et al. (2018) σχετικά με τη βιοπαρακολούθηση της TCS σε τρίχες κεφαλής παιδιών, εξακριβώθηκε ότι η TCS ανιχνεύτηκε στο 90.3% των δειγμάτων με μέση τιμή συγκέντρωσης των 275.2 pg/mg (3.6−7656.6 pg/mg). Η έρευνα των Xue et al. (2015) φανέρωσε ότι οι μέσες συγκεντρώσεις TCS στα ούρα δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ υπέρβαρων και μη παχύσαρκων παιδιών (ομάδα ελέγχου). Μέχρι στιγμής, δεν υπάρχουν βιβλιογραφικές αναφορές σχετικά με την εκτίμηση της επιβάρυνσης διαβητικών παιδιών και παιδιών με ενδοκρινολογικά προβλήματα σε ουσίες με πιθανή ενδοκρινική δράση μέσω ανάλυσης τριχών κεφαλής, καθώς επίσης και για τη συσχέτιση της βιοπαρακολούθησης των ουσιών αυτών με τα εν λόγω χρόνια νοσήματα.

ΑΝΑΦΟΡΕΣ

5.1 Ξενόγλωσσες Αναφορές

Aalto-Korte, K., Alanko, K., Henriks-Eckerman, M.L., Estlander, T., Jolanki, R. (2003). Allergic contact dermatitis from bisphenol A in PVC gloves. *Contact Dermatitis*, *49*, 202–205. https://doi.org/10.1111/j.0105-1873.2003.0228.x

Ahmed, I., Lin, H., Zou, L., Brody, A.L., Li, Z., Qazi, I.M., Pavase, T.R., Lv, L. (2017). A comprehensive review on the application of active packaging technologies to muscle foods. *Food Control*, *82*, 163-178. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.06.009

Alfhili, M.A., Hussein, H.A., Park, Y., Lee, M.H., Akula, S.M. (2021). Triclosan induces apoptosis in Burkitt lymphoma-derived BJAB cells through caspase and JNK/MAPK pathways. *Apoptosis*, *26*, 96–110. https://doi.org/10.1007/s10495-020-01650-0

Alfhili, M.A., Lee, M.H. (2019). Triclosan: An Update on Biochemical and Molecular Mechanisms. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, *2019*, 1607304. https://doi.org/10.1155/2019/1607304

Al-Saleh, I., Al-Rajudi, T., Al-Qudaihi, G., Manogaran, P. (2017). Evaluating the potential genotoxicity of phthalates esters (PAEs) in perfumes using in vitro assays. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.*, *24*, 23903–23914. https://doi.org/10.1007/s11356-017-9978-1

Álvarez-Muñoz, D., Rodríguez-Mozaz, S., Jacobs, S., Serra-Compte, A., Cáceres, N., Sioen, I., Verbeke, W., Barbosa, V., Ferrari, F., Fernández-Tejedor, M., Cunha, S., Granby, K., Robbens, J., Kotterman, M., Marques, A., Barceló, D. (2018). Pharmaceuticals and endocrine disruptors in raw and cooked seafood from European market: Concentrations and human exposure levels. *Environ. Int.*, *119*, 570–581. https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.07.006

Arbuckle, T.E., Davis, K., Boylan, K., Fisher, M., Fu, J. (2016). Bisphenol A, phthalates and lead and learning and behavioral problems in Canadian children 6-11 years of age: CHMS 2007-2009. *Neurotoxicology*, *54*, 89–98. https://doi.org/10.1016/j.neuro.2016.03.014

Arbuckle, T.E., Marro, L., Davis, K., Fisher, M., Ayotte, P., Bélanger, P., Dumas, P., LeBlanc, A., Bérubé, R., Gaudreau, E., Provencher, G., Faustman, E.M., Vigoren, E., Ettinger, A.S., Dellarco, M., MacPherson, S., Fraser, W.D. (2015). Exposure to Free and Conjugated Forms of Bisphenol A and Triclosan among Pregnant Women in the MIREC Cohort. *Environ. Health Perspect.*, *123*, 277–284. https://doi.org/10.1289/ehp.1408187

Armstrong, D.L., Lozano, N., Rice, C.P., Ramirez, M., Torrents, A. (2018). Degradation of triclosan and triclocarban and formation of transformation products in activated sludge using benchtop bioreactors. *Environ. Res.*, *161*, 17–25. https://doi.org/10.1016/j.envres.2017.10.048

Bang, D.Y., Lee, I.K., Lee, B.M. (2011). Toxicological Characterization of Phthalic Acid. *Toxicol. Res.*, *27*, 191–203. https://doi.org/10.5487/TR.2011.27.4.191

Beiras, R., Verdejo, E., Campoy-López, P., Vidal-Liñán, L. (2021). Aquatic toxicity of chemically defined microplastics can be explained by functional additives. *J. Hazard. Mater.*, *406*, 124338. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124338

Bertelsen, R.J., Longnecker, M.P., Løvik, M., Calafat, A.M., Carlsen, K.H., London, S.J., Carlsen, K.C.L. (2013). Triclosan exposure and allergic sensitization in Norwegian children. *Allergy*, *68*, 84–91. https://doi.org/10.1111/all.12058

Bertoli, S., Leone, A., Battezzati, A. (2015). Human Bisphenol A Exposure and the "Diabesity Phenotype". *Dose-Response*, *13*. https://doi.org/10.1177/1559325815599173

Bhargava, H. N., Leonard, P. A. (1996). Triclosan: Applications and safety. *Am. J. Infect. Control*, *24*, 209–218. https://doi.org/10.1016/S0196-6553(96)90017-6

Binder, A.M., Corvalan, C., Calafat, A.M., Ye, X., Mericq, V., Pereira, A., Michels, K.B. (2018). Childhood and adolescent phenol and phthalate exposure and the age of menarche in Latina girls. *Environ. Health*, *17*, 32. https://doi.org/10.1186/s12940-018-0376-z

Björnsdotter, M.K., de Boer, J., Ballesteros-Gómez, A. (2017). Bisphenol A and replacements in thermal paper: A review. *Chemosphere*, *182*, 691–706. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.05.070

Bornehag, C.G., Sundell, J., Weschler, C.J., Sigsgaard, T., Lundgren, B., Hasselgren, M., Hägerhed-Engman, L. (2004). The Association between Asthma and Allergic Symptoms in Children and Phthalates in House Dust: A Nested Case–Control Study. *Environ. Health Perspect.*, *112*, 1393–1397. https://doi.org/10.1289/ehp.7187

Braun, J.M. (2017). Early-life exposure to EDCs: role in childhood obesity and neurodevelopment. *Nat. Rev. Endocrinol.*, *13*, 161–173. https://doi.org/10.1038/nrendo.2016.186

Braun, J.M., Sathyanarayana, S., Hauser, R. (2013). Phthalate exposure and children's health. *Curr. Opin. Pediatr.*, *25*, 247–254. https://doi.org/10.1097/MOP.0b013e32835e1eb6

Braun, J.M., Yolton, K., Dietrich, K.N., Hornung, R., Ye, X., Calafat, A.M., Lanphear, B.P. (2009). Prenatal bisphenol A exposure and early childhood behavior. *Environ. Health Perspect.*, *117*, 1945–1952. https://doi.org/10.1289/ehp.0900979

Cadogan, D.F., Howick, C.J. (2000). Plasticizers. In: Ullmann, F. (Eds.), *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. Weinheim: Wiley-VCH. ISBN 9783527306732. https://doi.org/10.1002/14356007.a20_439

Cai, S., Zhu, J., Sun, L., Fan, C., Zhong, Y., Shen, Q., Li, Y. (2019). Association Between Urinary Triclosan With Bone Mass Density and Osteoporosis in US Adult Women, 2005–2010. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, *104*, 4531–4538. https://doi.org/10.1210/jc.2019-00576

Calafat, A.M., Ye, X., Wong, L.Y., Reidy, J.A., Needham, L.L. (2008). Exposure of the U.S. Population to Bisphenol A and 4-tertiary-Octylphenol: 2003–2004. *Environ. Health Perspect.*, *116*, 39–44. https://doi.org/10.1289/ehp.10753

Cantonwine, D., Meeker, J.D., Hu, H., Sánchez, B.N., Lamadrid-Figueroa, H., Mercado-García, A., Fortenberry, G.Z., Calafat, A.M., Téllez-Rojo, M.M. (2010). Bisphenol a exposure in Mexico City and risk of prematurity: a pilot nested case control study. *Environ. Health*, *9*, 1-7. https://doi.org/10.1186/1476-069X-9-62

Cao, X.L. (2010). Phthalate Esters in Foods: Sources, Occurrence, and Analytical Methods. Compr. Rev. Food Sci. Food Saf., 9, 21–43. https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2009.00093.x

Carlstedt, F., Jönsson, B.A.G., Bornehag, C.G. (2013). PVC flooring is related to human uptake of phthalates in infants. *Indoor Air*, *23*, 32–39. https://doi.org/10.1111/j.1600-0668.2012.00788.x

Casals-Casas, C., Desvergne, B. (2011). Endocrine Disruptors: From Endocrine to Metabolic Disruption. *Annu. Rev. Physiol.*, *73*, 135–162. https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-012110-142200

Casas, L., Fernández, M.F., Llop, S., Guxens, M., Ballester, F., Olea, N., Irurzun, M.B., Rodríguez, L.S.M., Riaño, I.; Tardón, A., Vrijheid, M., Calafat, A.M., Sunyer, J. (2011). Urinary concentrations of phthalates and phenols in a population of Spanish pregnant women and children. *Environ. Int.*, *37*, 858–866. https://doi.org/10.1016/j.envint.2011.02.012

Chang, Y.J., Lin, K.L., Chang, Y.Z. (2013). Determination of Di-(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) metabolites in human hair using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Clin. Chim. Acta*, *420*, 155-159. https://doi.org/10.1016/j.cca.2012.10.009

Chen, X., Casas, M.E., Nielsen, J.L., Wimmer, R., Bester, K. (2015). Identification of Triclosan-*O*-Sulfate and other transformation products of Triclosan formed by activated sludge. *Sci. Total Environ.*, *505*, 39–46. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.09.077

Cho, S.C., Bhang, S.Y., Hong, Y.C., Shin, M.S., Kim, B.N., Kim, J.W., Yoo, H.J., Cho, I.H., Kim, H.W. (2010). Relationship between Environmental Phthalate Exposure and the Intelligence of School-Age Children. *Environ. Health Perspect.*, *118*, 1027–1032. https://doi.org/10.1289/ehp.0901376

Chu, W., Fang, C., Deng, Y., Xu, Z. (2021). Intensified Disinfection Amid COVID-19 Pandemic Poses Potential Risks to Water Quality and Safety. *Environ. Sci. Technol.*, *55*, 4084–4086. https://doi.org/10.1021/acs.est.0c04394

Cooper, G. A. A. (2015). Anatomy and physiology of hair, and principles for its collection. In: Kintz, P., Salomone, A. and Vincenti, M. (Eds.), *Hair Analysis in Clinical and Forensic Toxicology.* Elsevier, pp. 1-22. ISBN 9780128017005. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801700-5.00001-7

Cooper, G.A.A., Kronstrand, R., Kintz, P. (2012). Society of Hair Testing guidelines for drug testing in hair. *Forensic Sci. Int.*, *218*, 20-4. https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2011.10.024

Cooper, G.A.A., Moeller, M., Kronstrand, R. (2008). Current status of accreditation for drug testing in hair. *Forensic Sci. Int.*, *176*, 9-12. https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2007.07.019

Corrales, J., Kristofco, L.A., Steele, W.B., Yates, B.S., Breed, C.S., Williams, E.S., Brooks, B.W. (2015). Global Assessment of Bisphenol A in the Environment: Review and Analysis of Its Occurrence and Bioaccumulation. *Dose Response*, *13*, 1559325815598308. https://doi.org/10.1177/1559325815598308

Cullinan, M.P., Palmer, J.E., Carle, A.D., West, M.J., Seymour, G.J. (2012). Long term use of triclosan toothpaste and thyroid function. *Sci. Total Environ.*, *416*, 75–79. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.11.063

de Boer, J., Ballesteros-Gómez, A., Leslie, H.A., Brandsma, S.H., Leonards, P.E.G. (2016). Flame retardants: Dust - And not food - Might be the risk. *Chemosphere*, *150*, 461–464. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.12.124

Dekant, W., Völkel, W. (2008). Human exposure to bisphenol A by biomonitoring: methods, results and assessment of environmental exposures. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, *228*, 114–134. https://doi.org/10.1016/j.taap.2007.12.008

DeLorenzo, M.E., Keller, J.M., Arthur, C.D., Finnegan, M.C., Harper, H.E., Winder, V.L., Zdankiewicz, D.L. (2008). Toxicity of the antimicrobial compound triclosan and formation of the metabolite methyl-triclosan in estuarine systems. *Environ. Toxicol.*, *23*, 224–232. https://doi.org/10.1002/tox.20327

Dhillon, G.S., Kaur, S., Pulicharla, R., Brar, S.K., Cledón, M., Verma, M., Surampalli, R.Y. (2015). Triclosan: Current Status, Occurrence, Environmental Risks and Bioaccumulation Potential. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, *12*, 5657–5684. https://doi.org/10.3390/ijerph120505657

Dinwiddie, M.T., Terry, P.D., Chen, J. (2014). Recent Evidence Regarding Triclosan and Cancer Risk. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, *11*, 2209–2217. https://doi.org/10.3390/ijerph110202209

Dobrzyńska, M.M., Tyrkiel, E.J., Derezińska, E., Pachocki, K.A., Ludwicki, J.K. (2012). Two generation reproductive and developmental toxicity following subchronic exposure of pubescent male mice to di(2-ethylhexyl)phthalate. *Ann. Agric. Environ. Med.*, *19*, 31-37.

EC | European Commission (2010, March 19). Commission Decision of 19 March 2010 concerning the non-inclusion of 2,4,4'-trichloro-2'-hydroxydiphenyl ether in the Union list of additives which may be used in the manufacture of plastic materials and articles intended to come into contact with foodstuffs under Directive 2002/72/EC. *Official Journal of the European Union*. Retrieved from https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2010:075:0025:0026:EN:PDF

EC | European Commission (2014, April 9). COMMISSION REGULATION (EU) No 358/2014 of 9 April 2014 amending Annexes II and V to Regulation (EC) No 1223/2009 of the European Parliament and of the Council on cosmetic products. *Official Journal of the European Union*. Retrieved from https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=OJ:L:2014:107:FULL&from=EN

EC | European Commission (2016, January 27). COMMISSION IMPLEMENTING DECISION (EU) 2016/110 of 27 January 2016 not approving triclosan as an existing active substance for use in biocidal products for product-type 1. *Official Journal of the European Union*. Retrieved from https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32016D0110&from=EN

EC JRC | European Commission's Joint Research Center (2008). Bis (2-ethylhexyl) Phthalate (DEHP) – Summary Risk Assessment Report. Luxembourg: OPOCE. Retrieved from https://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/handle/JRC45844

ECB | European Chemicals Bureau (2007). European Union Risk Assessment Report for benzyl butyl phthalate (BBP). Vol. 76, 3rd Priority List. Italy, Ispra: Publications Office of the European Union. https://doi.org/10.2788/75660

ECHA | European Chemicals Agency (2015). Opinion of the Biocidal Products Committee on the application for approval of the active substance triclosan for product-type 1. Retrieved from https://echa.europa.eu/documents/10162/efc985e4-8802-4ebb-8245-29708747a358

EFSA | European Food Safety Authority (2005). Opinion of the Scientific Panel on food additives, flavourings, processing aids and materials in contact with food (AFC) related to Bis(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) for use in food contact materials. *EFSA Journal*, *3*, 1–20. https://doi.org/10.2903/j.efsa.2005.243

EFSA AFC Panel | EFSA Panel on food additives, flavourings, processing aids and materials in contact with food (2007). Opinion of the Scientific Panel on food additives, flavourings, processing aids and materials in contact with food (AFC) related to 2,2-BIS(4-HYDROXYPHENYL)PROPANE. *EFSA Journal*. https://doi.org/10.2903/j.efsa.2007.428

EFSA CEP Panel | EFSA Panel on Food Contact Materials, Enzymes and Processing Aids, et al. (2023). Scientific opinion on the re-evaluation of the risks to public health related to the presence of bisphenol A (BPA) in foodstuffs. *EFSA Journal*, *21*, e06857. https://doi.org/10.2903/j.efsa.2023.6857

EFSA CEP Panel | EFSA Panel on Food Contact Materials, Enzymes and Processing Aids, et al. (2019). Scientific opinion on the update of the risk assessment of di-butylphthalate (DBP), butyl-benzyl-phthalate (BBP), bis(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP), di-isononylphthalate (DINP) and di-isodecylphthalate (DIDP) for use in food contact materials. *EFSA Journal*, *17*, e05838. https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5838

Factor-Litvak, P., Insel, B., Calafat, A.M., Liu, X., Perera, F., Rauh, V.A., Whyatt, R.M. (2014). Persistent Associations between Maternal Prenatal Exposure to Phthalates on Child IQ at Age 7 Years. *PLoS One*, *9*, e114003. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0114003

FDA | U.S. Food and Drug Administration (2001). Safety Assessment of Di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) Released from PVC Medical Devices. Retrieved from https://icpe.in/pdf/Safety_assessment_Diphthalate.pdf

Fenichel, P., Chevalier, N., Brucker-Davis, F. (2013). Bisphenol A: an endocrine and metabolic disruptor. *Ann. Endocrinol. (Paris)*, *74*, 211–220. https://doi.org/10.1016/j.ando.2013.04.002

Fernández, M.A., Gomara, B., González, M.J. (2011). Occurrence of Phthalates and Their Metabolites in the Environment and Human Health Implications. In: Barceló, D. (Eds.), *Emerging Organic Contaminants and Human Health*. The Handbook of Environmental Chemistry, 20. Berlin, Heidelberg: Springer. pp. 307–336. ISBN: 9783642281327. https://doi.org/10.1007/698_2011_127

Fiege, H., Voges, H.W., Hamamoto, T., Umemura, S., Iwata, T., Miki, H., Fujita, Y., Buysch, H.J., Garbe, D., Paulus, W. (2012). Phenol Derivatives. In: Ullmann, F. (Eds.), *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. Weinheim: Wiley-VCH. pp. 521-86. ISBN 9783527306732. https://doi.org/10.1002/14356007.a19_313

Gee, R.H., Charles, A., Taylor, N., Darbre, P.D. (2008). Oestrogenic and androgenic activity of triclosan in breast cancer cells. *J. Appl. Toxicol.*, *28*, 78–91. https://doi.org/10.1002/jat.1316

Geens, T., Aerts, D., Berthot, C., Bourguignon, J.P., Goeyens, L., Lecomte, P., Maghuin-Rogister, G., Pironnet, A.M., Pussemier, L., Scippo, M.L., Van Loco, J., Covaci, A. (2012). A review of dietary and non-dietary exposure to bisphenol-A. *Food Chem. Toxicol.*, *50*, 3725–3740. https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.07.059

Geens, T., Apelbaum, T.Z., Goeyens, L., Neels, H., Covaci, A. (2010). Intake of bisphenol A from canned beverages and foods on the Belgian market. *Food Addit. Contam. Part A Chem. Anal. Control Expo. Risk Assess.*, *27*, 1627–1637. https://doi.org/10.1080/19440049.2010.508183

Geens, T., Dirtu, A.C., Dirinck, E., Malarvannan, G., Van Gaal, L., Jorens, P.G., Covaci, A. (2015). Daily intake of bisphenol A and triclosan and their association with anthropometric data, thyroid hormones and weight loss in overweight and obese individuals. *Environ. Int.*, *76*, 98–105. https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.12.003

Genuis, S.J., Beesoon, S., Lobo, R.A., Birkholz, D. (2012). Human Elimination of Phthalate Compounds: Blood, Urine, and Sweat (BUS) Study. *Sci. World J.*, *2012*, 1–10. https://doi.org/10.1100/2012/615068

Geueke, B. (2015). FPF Dossier: Bisphenol A. *Zenodo*. https://doi.org/10.5281/zenodo.33495

Ghassabian, A., Trasande, L. (2018). Disruption in Thyroid Signaling Pathway: A Mechanism for the Effect of Endocrine-Disrupting Chemicals on Child Neurodevelopment. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*, *9*, 204. https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00204

Gong, M., Weschler, C.J., Zhang, Y. (2016). Impact of Clothing on Dermal Exposure to Phthalates: Observations and Insights from Sampling Both Skin and Clothing. *Environ. Sci. Technol.*, *50*, 4350–4357. https://doi.org/10.1021/acs.est.6b00113

Goodman, M., Naiman, D.Q., Lakind, J.S. (2018). Systematic review of the literature on triclosan and health outcomes in humans. *Crit. Rev. Toxicol.*, *48*, 1–51. https://doi.org/10.1080/10408444.2017.1350138

Gore, A.C., Chappell, V.A., Fenton, S.E., Flaws, J.A., Nadal, A., Prins, G.S., Toppari, J., Zoeller, R.T. (2015). Executive Summary to EDC-2: The Endocrine Society's Second Scientific Statement on Endocrine-Disrupting Chemicals. *Endocr. Rev.*, *36*, 593–602. https://doi.org/10.1210/er.2015-1093

Goulas, A.E., Zygoura, P., Karatapanis, A., Georgantelis, D., Kontominas, M.G. (2007). Migration of di(2-ethylhexyl) adipate and acetyltributyl citrate plasticizers from food-grade PVC film into sweetened sesame paste (halawa tehineh): Kinetic and penetration study. *Food Chem. Toxicol.*, *45*, 585–591. https://doi.org/10.1016/j.fct.2006.10.003

Halden, R.U. (2010). Plastics and health risks. *Annu. Rev. Public Health*, *31*, 179–194. https://doi.org/10.1146/annurev.publhealth.012809.103714

Halden, R.U. (2014). On the Need and Speed of Regulating Triclosan and Triclocarban in the United States. *Environ. Sci. Technol.*, *48*, 3603–3611. https://doi.org/10.1021/es500495p

Hall, P.J., Green, A.K., Horay, C.P., de Brabander, S., Beasley, T.J., Cromwell, V.J., Holt, J.S., Savage, D.J. (2003). Plaque antibacterial levels following controlled food intake and use of a toothpaste containing 2% zinc citrate and 0.3% Triclosan. *Int. Dent. J.*, *53*, 379–384. https://doi.org/10.1111/j.1875-595X.2003.tb00913.x

Han, M., Wang, Y., Tang, C., Fang, H., Yang, D., Wu, J., Wang, H., Chen, Y., Jiang, Q. (2021). Association of triclosan and triclocarban in urine with obesity risk in Chinese school children. *Environ. Int.*, *157*, 106846. https://doi.org/10.1016/j.envint.2021.106846

Hauser, R., Calafat, A.M. (2005). Phthalates and human health. *Occup. Environ. Med.*, *62*, 806–818. https://doi.org/10.1136/oem.2004.017590

Hauser, R., Duty, S., Godfrey-Bailey, L., Calafat, A.M. (2004). Medications as a source of human exposure to phthalates. *Environ. Health Perspect.*, *112*, 751–753. https://doi.org/10.1289/ehp.6804

Hauser, R., Meeker, J.D., Park, S., Silva, M.J., Calafat, A.M. (2004). Temporal Variability of Urinary Phthalate Metabolite Levels in Men of Reproductive Age. *Environ. Health Perspect.*, *112*, 1734–1740. https://doi.org/10.1289/ehp.7212

Hengstler, J.G., Foth, H., Gebel, T., Kramer, P.J., Lilienblum, W., Schweinfurth, H., Völkel, W., Wollin, K.M., Gundert-Remy, U. (2011). Critical evaluation of key evidence on the human health hazards of exposure to bisphenol A. *Crit. Rev. Toxicol.*, *41*, 263–291. https://doi.org/10.3109/10408444.2011.558487

Heras-González, L., Latorre, J.A., Martinez-Bebia, M., Espino, D., Olea-Serrano, F., Mariscal-Arcas, M. (2020). The relationship of obesity with lifestyle and dietary exposure to endocrine-disrupting chemicals. *Food Chem. Toxicol.*, *136*, 110983. https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.110983

Hormann, A.M., Vom Saal, F.S., Nagel, S.C., Stahlhut, R.W., Moyer, C.L., Ellersieck, M.R., Welshons, W.V., Toutain, P.L., Taylor, J.A. (2014). Holding thermal receipt paper and eating food after using hand sanitizer results in high serum bioactive and urine total levels of bisphenol A (BPA). *PLoS One*, *9*, e110509. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0110509

Huang, J., Nkrumah, P.N., Li, Y., Appiah-Sefah, G. (2013). Chemical Behavior of Phthalates Under Abiotic Conditions in Landfills. In: Whitacre, D.M. (Eds.), *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, 224. New York, NY: Springer. pp. 39-52. ISBN: 9781461458821. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-5882-1_2

Huang, P.C., Kuo, P.L., Chou, Y.Y., Lin, S.J., Lee, C.C. (2009). Association between prenatal exposure to phthalates and the health of newborns. *Environ. Int.*, *35*, 14–20. https://doi.org/10.1016/j.envint.2008.05.012

Huang, P.C., Kuo, P.L., Guo, Y.L., Liao, P.C., Lee, C.C. (2007). Associations between urinary phthalate monoesters and thyroid hormones in pregnant women. *Hum. Reprod.*, *22*, 2715–2722. https://doi.org/10.1093/humrep/dem205

Huen, K., Calafat, A.M., Bradman, A., Yousefi, P., Eskenazi, B., Holland, N. (2016). Maternal phthalate exposure during pregnancy is associated with DNA methylation of LINE-1 and Alu repetitive elements in Mexican-American children. *Environ. Res.*, *148*, 55–62. https://doi.org/10.1016/j.envres.2016.03.025

Iacopetta, D., Ceramella, J., Catalano, A., Saturnino, C., Pellegrino, M., Mariconda, A., Longo, P., Sinicropi, M.S., Aquaro, S. (2022). COVID-19 at a Glance: An Up-to-Date Overview on Variants, Drug Design and Therapies. *Viruses*, *14*, 573. https://doi.org/10.3390/v14030573

Iglesias-Gonzalez, A., Hardy, E.M., Appenzeller, B.M.R. (2020). Cumulative exposure to organic pollutants of French children assessed by hair analysis. *Environ. Int.*, *134*, 105332. https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105332

Jackson-Browne, M.S., Papandonatos, G.D., Chen, A., Calafat, A.M., Yolton, K., Lanphear, B.P., Braun, J.M. (2018). Identifying Vulnerable Periods of Neurotoxicity to Triclosan Exposure in Children. *Environ. Health Perspect.*, *126*, 057001. https://doi.org/10.1289/EHP2777

Jackson-Browne, M.S., Papandonatos, G.D., Chen, A., Yolton, K., Lanphear, B.P., Braun, J.M. (2019). Early-life triclosan exposure and parent-reported behavior problems in 8-year-old children. *Environ. Int.*, *128*, 446–456. https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.01.021

Johns, L.E., Cooper, G.S., Galizia, A., Meeker, J.D. (2015). Exposure assessment issues in epidemiology studies of phthalates. *Environ. Int.*, *85*, 27–39. https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.08.005

Jornet-Martínez, N., Antón-Soriano, C., Campíns-Falcó, P. (2015). Estimation of the presence of unmetabolized dialkyl phthalates in untreated human urine by an on-line miniaturized reliable method. *Sci. Total Environ.*, *532*, 239–244. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.05.124

Jurewicz, J., Radwan, M., Wielgomas, B., Kałużny, P., Klimowska, A., Radwan, P., Hanke, W. (2018). Environmental levels of triclosan and male fertility. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, *25*, 5484–5490. https://doi.org/10.1007/s11356-017-0866-5

Kabir, E.R., Rahman, M.S., Rahman, I. (2015). A review on endocrine disruptors and their possible impacts on human health. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, *40*, 241-258. https://doi.org/10.1016/j.etap.2015.06.009

Kalloo, G., Calafat, A.M., Chen, A., Yolton, K., Lanphear, B.P., Braun, J.M. (2018). Early life Triclosan exposure and child adiposity at 8 Years of age: a prospective cohort study. *Environ. Health*, *17*, 24. https://doi.org/10.1186/s12940-018-0366-1

Kappenstein, O., Vieth, B., Luch, A., Pfaff, K. (2012). Toxicologically Relevant Phthalates in Food. In: Luch, A. (Eds.), *Molecular, Clinical and Environmental Toxicology*. Experientia Supplementum, Vol 101. Basel: Springer, pp. 87–106. ISBN: 9783764383404. https://doi.org/10.1007/978-3-7643-8340-4_4

Karzi, V., Tzatzarakis, M.N., Vakonaki, E., Alegakis, T., Katsikantami, I., Sifakis, S., Rizos, A., Tsatsakis, A.M. (2018). Biomonitoring of bisphenol A, triclosan and perfluorooctanoic acid in hair samples of children and adults. *J. Appl. Toxicol.*, *38*, 1144–1152. https://doi.org/10.1002/jat.3627

Katsikantami, I., Tzatzarakis, M.N., Karzi, V., Stavroulaki, A., Xezonaki, P., Vakonaki, E., Alegakis, A.K., Sifakis, S., Rizos, A.K., Tsatsakis, A.M. (2020). Biomonitoring of bisphenols A and S and phthalate metabolites in hair from pregnant women in Crete. *Sci. Total Environ.*, *712*, 135651. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135651

Katsikantami, I., Sifakis, S., Tzatzarakis, M.N., Vakonaki, E., Kalantzi, O.I., Tsatsakis, A.M., Rizos, A.K. (2016). A global assessment of phthalates burden and related links to health effects. *Environ. Int.*, *97*, 212–236. https://doi.org/10.1016/j.envint.2016.09.013

Kavlock, R., Boekelheide, K., Chapin, R., Cunningham, M., Faustman, E., Foster, P., Golub, M., Henderson, R., Hinberg, I., Little, R., Seed, J., Shea, K., Tabacova, S., Tyl, R., Williams, P., Zacharewski, T. (2002). NTP Center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction: phthalates expert panel report on the reproductive and developmental toxicity of di(2-ethylhexyl) phthalate. *Reprod. Toxicol.*, *16*, 529–653. https://doi.org/10.1016/S0890-6238(02)00032-1

Kim, J.T., Lee, H.K. (2017). Childhood obesity and endocrine disrupting chemicals. *Ann. Pediatr. Endocrinol. Metab.*, *22*, 219–225. https://doi.org/10.6065/apem.2017.22.4.219

Kim, S.H., Park, M.J. (2014). Phthalate exposure and childhood obesity. *Ann. Pediatr. Endocrinol. Metab.*, *19*, 69–75. https://doi.org/10.6065/apem.2014.19.2.69

Kintz, P. (2019). Hair analysis in forensic toxicology. *WIREs Forensic Sci.*, *1*, e1196. https://doi.org/10.1002/wfs2.1196

Kobrosly, R.W., Evans, S., Miodovnik, A., Barrett, E.S., Thurston, S.W., Calafat, A.M., Swan, S.H. (2014). Prenatal Phthalate Exposures and Neurobehavioral Development Scores in Boys and Girls at 6–10 Years of Age. *Environ. Health Perspect.*, *122*, 521–528. https://doi.org/10.1289/ehp.1307063

Koch, H.M., Bolt, H.M., Preuss, R., Angerer, J. (2005). New metabolites of di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) in human urine and serum after single oral doses of deuterium-labelled DEHP. *Arch. Toxicol.*, *79*, 367–376. https://doi.org/10.1007/s00204-004-0642-4

Koeppe, E.S., Ferguson, K.K., Colacino, J.A., Meeker, J.D. (2013). Relationship between urinary triclosan and paraben concentrations and serum thyroid measures in NHANES 2007–2008. *Sci. Total Environ.*, *445–446*, 299–305. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.12.052

Król, S., Zabiegała, B., Namieśnik, J. (2013). Human hair as a biomarker of human exposure to persistent organic pollutants (POPs). *TrAC Trends in Anal. Chem.*, *47*, 84-98. https://doi.org/10.1016/j.trac.2013.02.010

Kronstrand, R., Scott, K. (2007). Drug Incorporation into hair. In: Kintz, P. (Eds.), *Analytical and practical aspects of drugs testing in hair*. Informa, pp. 1-23. ISBN 9780429245251. https://doi.org/10.1201/9781420006193

Ku, H.Y., Su, P.H., Wen, H.J., Sun, H.L., Wang, C.J., Chen, H.Y., Jaakkola, J.J.K., Wang, S.L., Chen, M.L., Wu, M.T., Hsieh, C.J. (2015). Prenatal and Postnatal Exposure to Phthalate Esters and Asthma: A 9-Year Follow-Up Study of a Taiwanese Birth Cohort. *PLoS One*, *10*, 1–14. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0123309

Kubwabo, C., Kosarac, I., Stewart, B., Gauthier, B.R., Lalonde, K., Lalonde, P.J. (2009). Migration of bisphenol A from plastic baby bottles, baby bottle liners and reusable polycarbonate drinking bottles. *Food Addit. Contam. Part A Chem. Anal. Control Expo. Risk Assess.*, *26*, 928–937. https://doi.org/10.1080/02652030802706725

Kueseng, P., Thavarungkul, P., Kanatharana, P. (2007). Trace phthalate and adipate esters contaminated in packaged food. *J. Environ. Sci. Health B*, *42*, 569–576. https://doi.org/10.3390/toxics7020021

Kumar, S., Paul, T., Shukla, S.P., Kumar, K., Karmakar, S., Bera, K.K. (2021). Biomarkers-based assessment of triclosan toxicity in aquatic environment: A mechanistic review. *Environ. Pollut.*, *286*, 117569. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117569

Kurebayashi, H., Betsui, H., Ohno, Y. (2003). Disposition of a low dose of 14C-bisphenol A in male rats and its main biliary excretion as BPA glucuronide. *Toxicol. Sci.*, *73*, 17–25. https://doi.org/10.1093/toxsci/kfg040

Lang, I.A., Galloway, T.S., Scarlett, A., Henley, W.E., Depledge, M., Wallace, R.B., Melzer, D. (2008). Association of urinary bisphenol A concentration with medical disorders and laboratory abnormalities in adults. *JAMA*, *300*, 1303–1310. https://doi.org/10.1001/jama.300.11.1303

Lankester, J., Patel, C., Cullen, M.R., Ley, C., Parsonnet, J. (2013). Urinary Triclosan is Associated with Elevated Body Mass Index in NHANES. *PLoS One*, *8*, e80057. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0080057

Larsson, M., Hägerhed-Engman, L., Kolarik, B., James, P., Lundin, F., Janson, S., Sundell, J., Bornehag, C.G. (2010). PVC – as flooring material – and its association with incident asthma in a Swedish child cohort study. *Indoor Air*, *20*, 494–501. https://doi.org/10.1111/j.1600-0668.2010.00671.x

Li, J., He, J., Li, Y., Liu, Y., Li, W., Wu, N., Zhang, L., Zhang, Y., Niu, Z. (2019). Assessing the threats of organophosphate esters (flame retardants and plasticizers) to drinking water safety based on USEPA oral reference dose (RfD) and oral cancer slope factor (SFO). *Water Res.*, *154*, 84–93. https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.01.035

Li, M., Bi, Y., Qi, L., Wang, T., Xu, M., Huang, Y., Xu, Y., Chen, Y., Lu, J., Wang, W., Ning, G. (2012). Exposure to bisphenol A is associated with low-grade albuminuria in Chinese adults. *Kidney Int.*, *81*, 1131–1139. https://doi.org/10.1038/ki.2012.6

Li, N., Ying, G.G., Hong, H., Tsang, E.P.K., Deng, W.J. (2021). Plasticizer contamination in the urine and hair of preschool children, airborne particles in kindergartens, and drinking water in Hong Kong. *Environ. Pollut.*, *271*, 116394. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.116394

Li, X., Zhong, Y., He, W., Huang, S., Li, Q., Guo, C., Ma, S., Li, G., Yu, Y. (2021). Co-exposure and health risks of parabens, bisphenols, triclosan, phthalate metabolites and hydroxyl polycyclic aromatic hydrocarbons based on simultaneous detection in urine samples from guangzhou, south China. *Environ. Pollut.*, *272*, 115990. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115990

Liao, C., Kannan, K. (2011). Widespread occurrence of bisphenol A in paper and paper products: implications for human exposure. *Environ. Sci. Technol.*, *45*, 9372–9379. https://doi.org/10.1021/es202507f

Lien, Y.J., Ku, H.Y., Su, P.H., Chen, S.J., Chen, H.Y., Liao, P.C., Chen, W.J., Wang, S.L. (2015). Prenatal Exposure to Phthalate Esters and Behavioral Syndromes in Children at 8 Years of Age: Taiwan Maternal and Infant Cohort Study. *Environ. Health Perspect.*, *123*, 95–100. https://doi.org/10.1289/ehp.1307154

Lin, M.H., Chiu, S.Y., Ho, W.C., Chi, K.H., Liu, T.Y., Wang, I.J. (2022). Effect of triclosan on the pathogenesis of allergic diseases among children. J*. Expo. Sci. Environ. Epidemiol.*, *32*, 60–68. https://doi.org/10.1038/s41370-021-00304-w

Liu, X., Tu, M., Wang, S., Wang, Y., Wang, J., Hou, Y., Zheng, X., Yan, Z. (2022). Research on freshwater water quality criteria, sediment quality criteria and ecological risk assessment of triclosan in China. *Sci. Total Environ.*, *816*, 151616. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.151616

Lubarsky, H.V., Gerbersdorf, S.U., Hubas, C., Behrens, S., Ricciardi, F., Paterson, D.M. (2012). Impairment of the Bacterial Biofilm Stability by Triclosan. *PLoS One*, *7*, e31183. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031183

Luo, Y.B., Yu, Q.W., Yuan, B.F., Feng, Y.Q. (2012). Fast microextraction of phthalate acid esters from beverage, environmental water and perfume samples by magnetic multi-walled carbon nanotubes. *Talanta*, *90*, 123–131. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2012.01.015

MacKay, H., Abizaid, A. (2018). A plurality of molecular targets: The receptor ecosystem for bisphenol-A (BPA). *Horm. Behav.*, *101*, 59–67. https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2017.11.001

Marazuela, M.D., Klaiber, M., Moreno-Gordaliza, E., Barata, A., Gómez-Gómez, M.M. (2022). Safety assessment of commercial antimicrobial food packaging: Triclosan and microplastics, a closer look. *Food Pack. Shelf Life*, *31*, 100780. https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2021.100780

Mariana, M., Feiteiro, J., Verde, I., Cairrao, E. (2016). The effects of phthalates in the cardiovascular and reproductive systems: A review. *Environ. Int.*, *94*, 758–776. https://doi.org/10.1016/j.envint.2016.07.004

Martín, J., Santos, J.L., Aparicio, I., Alonso, E. (2016). Analytical method for biomonitoring of endocrine-disrupting compounds (bisphenol A, parabens, perfluoroalkyl compounds and a brominated flame retardant) in human hair by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta*, *945*, 95–101. https://doi.org/10.1016/j.aca.2016.10.004

Martín, J., Santos, J.L., Aparicio, I., Alonso, E. (2019). Exposure assessment to parabens, bisphenol A and perfluoroalkyl compounds in children, women and men by hair analysis. *Sci. Total Environ.*, *695*, 133864. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.133864

Meeker, J.D., Ferguson, K.K. (2011). Relationship between urinary phthalate and bisphenol A concentrations and serum thyroid measures in U.S. adults and adolescents from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2007-2008. *Environ. Health Perspect.*, *119*, 1396–1402. https://doi.org/10.1289/ehp.1103582

Melzer, D., Gates, P., Osborn, N.J., Henley, W.E., Cipelli, R., Young, A., Money, C., McCormack, P., Schofield, P., Mosedale, D., Grainger, D., Galloway, T.S. (2012). Urinary bisphenol a concentration and angiography-defined coronary artery stenosis. *PLoS One*, *7*, e43378. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0043378

Melzer, D., Rice, N.E., Lewis, C., Henley, W.E., Galloway, T.S. (2010). Association of urinary bisphenol a concentration with heart disease: evidence from NHANES 2003/06. *PLoS One*, *5*, e8673. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008673

Milanović, M., Đurić, L., Milošević, N., Milić, N. (2021). Comprehensive insight into triclosan—from widespread occurrence to health outcomes. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, *30*, 25119–25140. https://doi.org/10.1007/s11356-021-17273-0

Mok-Lin, E., Ehrlich, S., Williams, P.L., Petrozza, J., Wright, D.L., Calafat, A.M., Ye, X., Hauser, R. (2010). Urinary bisphenol A concentrations and ovarian response among women undergoing IVF. *Int. J. Androl.*, *33*, 385-393. https://doi.org/10.1111/j.1365-2605.2009.01014.x

Myers, J.P., vom Saal, F.S., Akingbemi, B.T., Arizono, K., Belcher, S., Colborn, T., Chahoud, I., Crain, D.A., Farabollini, F., Guillette, L.J., Jr., Hassold, T., Ho, S.M., Hunt, P.A., Iguchi, T., Jobling, S., Kanno, J., Laufer, H., Marcus, M., McLachlan, J.A., Nadal, A., Oehlmann, J., Olea, N., Palanza, P., Parmigiani, S., Rubin, B.S.,

Schoenfelder, G., Sonnenschein, C., Soto, A.M., Talsness, C.E., Taylor, J.A., Vandenberg, L.N., Vandenbergh, J.G., Vogel, S., Watson, C.S., Welshons, W.V., Zoeller, R.T. (2009). Why Public Health Agencies Cannot Depend on Good Laboratory Practices as a Criterion for Selecting Data: The Case of Bisphenol A. *Environ. Health Perspect.*, *117*, 309–315. https://doi.org/10.1289/ehp.0800173

Nahar, M.S., Liao, C., Kannan, K., Dolinoy, D.C. (2013). Fetal Liver Bisphenol A Concentrations and Biotransformation Gene Expression Reveal Variable Exposure and Altered Capacity for Metabolism in Humans. *J. Biochem. Mol. Toxicol.*, *27*, 116-123. https://doi.org/10.1002/jbt.21459

Nasab, H., Mirzaee, M., Ebrahimpour, K., Hashemi, M. (2021). Association of urinary triclosan and methyl-triclosan levels with predictive indicators of cardiovascular disease and obesity in children and adolescents in 2020 (case study: Kerman, Iran). *Environ. Health Eng. Manag. J.*, *8*, 187–195. https://doi.org/10.34172/EHEM.2021.22

Nicolucci, C., Rossi, S., Menale, C., del Giudice, E.M., Perrone, L., Gallo, P., Mita, D.G., Diano, N. (2013). A high selective and sensitive liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for quantization of BPA urinary levels in children. *Anal. Bioanal. Chem.*, *405*, 9139–9148. https://doi.org/10.1007/s00216-013-7342-y

Olsén, L., Lind, L., Lind, P.M. (2012). Associations between circulating levels of bisphenol A and phthalate metabolites and coronary risk in the elderly. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, *80*, 179–183. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2012.02.023

O'Neal, T.K. (2019). *Identification and Characterization of Triclosan Resistant Bacteria* (Master's thesis). University of South Alabama, USA. ProQuest Dissertations Publishing Nos. 13903462.

Park, S., Kim, B.N., Cho, S.C., Kim, Y., Kim, J.W., Lee, J.Y., Hong, S.B., Shin, M.S., Yoo, H.J., Im, H., Cheong, J.H., Han, D.H. (2014). Association between Urine Phthalate Levels and Poor Attentional Performance in Children with Attention-Deficit Hyperactivity Disorder with Evidence of Dopamine Gene-Phthalate Interaction. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, *11*, 6743–6756. https://doi.org/10.3390/ijerph110706743

Paulose, T., Speroni, L., Sonnenschein, C., Soto, A.M. (2015). Estrogens in the wrong place at the wrong time: fetal BPA exposure and mammary cancer. *Reprod. Toxicol.*, *54*, 58-65. https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2014.09.012

Peng, F.J., Emond, C., Hardy, E.M., Sauvageot, N., Alkerwi, A., Lair, M.L., Appenzeller, B. M.R., Luxembourg, N.p g f t G D o L. (2021). Population-based biomonitoring of exposure to persistent and non-persistent organic pollutants in the Grand Duchy of Luxembourg: results from hair analysis. *Environ. Int.*, *153*, 106526. https://doi.org/10.1016/j.envint.2021.106526

Peng, F.J., Hardy, E.M., Beranger, R., Mezzache, S., Bourokba, N., Bastien, P., Li, J., Zaros, C., Chevrier, C., Palazzi, P., Soeur, J., Appenzeller, B.M.R. (2020). Human exposure to PCBs, PBDEs and bisphenols revealed by hair analysis: a comparison between two adult female populations in China and France. *Environ. Pollut.*, *267*, 115425. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115425

Petersen, R.C. (2016). Triclosan antimicrobial polymers. *AIMS Mol. Sci.*, *3*, 88–103. https://doi.org/10.3934/molsci.2016.1.88

Queckenberg, C., Meins, J., Wachall, B., Doroshyenko, O., Tomalik-Scharte, D., Bastian, B., Abdel-Tawab, M., Fuhr, U. (2010). Absorption, Pharmacokinetics, and Safety of Triclosan after Dermal Administration. *Antimicrob. Agents Chemother.*, *54*, 570–572. https://doi.org/10.1128/aac.00615-09

Radwan, E.K., Ibrahim, M.B.M., Adel, A., Farouk, M. (2020). The occurrence and risk assessment of phenolic endocrine-disrupting chemicals in Egypt's drinking and source water. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.*, *27*, 1776–1788. https://doi.org/10.1007/s11356-019-06887-0

Ramirez Fernandez, M.D.M., Baumgartner, W.A., Wille, S.M.R., Farabee, D., Samyn, N., Baumgartner, A.M. (2020). A different insight in hair analysis: Simultaneous measurement of antipsychotic drugs and metabolites in the protein and melanin fraction of hair from criminal justice patients. *Forensic Sci. Int.*, *312*, 110337. https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2020.110337

Ren, M., Jia, X., Shi, J., Yan, L., Li, Z., Lan, C., Chen, J., Li, N., Li, K., Huang, J., Wu, S., Lu, Q., Li, Z., Wang, B., Liu, J. (2020). Simultaneous analysis of typical halogenated endocrine disrupting chemicals and metal(loid)s in human hair. *Sci. Total Environ.*, *718*, 137300. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137300

Renko, M., Paalanne, N., Tapiainen, T., Hinkkainen, M., Pokka, T., Kinnula, S., Sinikumpu, J.J., Uhari, M., Serlo, W. (2017). Triclosan-containing sutures versus ordinary sutures for reducing surgical site infections in children: a double-blind, randomised controlled trial. *Lancet Infect. Dis.*, *17*, 50–57. https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)30373-5

Robards, K., Haddad, P.R., & Jackson, P.E. (1994). *Principles and Practice of Modern Chromatographic Methods*. 1st Ed. London: Academic Press. ISBN 0-12-589570-4.

Rochester, J.R. (2013). Bisphenol A and human health: a review of the literature. *Reprod. Toxicol.*, *42*, 132-155. https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2013.08.008

Rodricks, J.V., Swenberg, J.A., Borzelleca, J.F., Maronpot, R.R., Shipp, A.M. (2010). Triclosan: A critical review of the experimental data and development of margins of safety for consumer products. *Crit. Rev. Toxicol.*, *40*, 422–484. https://doi.org/10.3109/10408441003667514

Ruszkiewicz, J.A., Li, S., Rodriguez, M.B., Aschner, M. (2017). Is Triclosan a neurotoxic agent? *J. Toxicol. Environ. Health B Crit. Rev.*, *20*, 104–117. https://doi.org/10.1080/10937404.2017.1281181

Rutkowska, A., Rachoń, D. (2014). Bisphenol A (BPA) and its potential role in the pathogenesis of the polycystic ovary syndrome (PCOS). *Gynecol. Endocrinol.*, *30*, 260–265. https://doi.org/10.3109/09513590.2013.871517

Ryder, M.L. (1958). Nutritional factors influencing hair and wool growth. In: Montagna, W., Ellis R.A. (Eds.), *The biology of hair growth*. New York, NY: Academic Press. pp. 305-34. ISBN: 9781483261652.

Sandborgh-Englund, G., Adolfsson-Erici, M., Odham, G., Ekstrand, J. (2006). Pharmacokinetics of Triclosan Following Oral Ingestion in Humans. *J. Toxicol. Environ. Health A*, *69*, 1861–1873. https://doi.org/10.1080/15287390600631706

Sathyanarayana, S., Karr, C.J., Lozano, P., Brown, E., Calafat, A.M., Liu, F., Swan, S.H. (2008). Baby Care Products: Possible Sources of Infant Phthalate Exposure. *Pediatrics*, *121*, e260–e268. https://doi.org/10.1542/peds.2006-3766

Savage, J.H., Matsui, E.C., Wood, R.A., Keet, C.A. (2012). Urinary levels of triclosan and parabens are associated with aeroallergen and food sensitization. *J. Allergy Clin. Immunol.*, *130*, 453–460.e7. https://doi.org/10.1016/j.jaci.2012.05.006

Schug, T.T., Janesick, A., Blumberg, B., Heindel, J.J. (2011). Endocrine disrupting chemicals and disease susceptibility. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, *127*, 204–215. https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2011.08.007

Schumann, B., Schmid, M. (2018). Packaging concepts for fresh and processed meat – Recent progresses. *Inn. Food Sci. Emerg. Technol.*, *47*, 88–100. https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.02.005

Shankar, A., Teppala, S. (2012). Urinary bisphenol A and hypertension in a multiethnic sample of US adults. *J. Environ. Public Health*, *2012*, 5 pages. https://doi.org/10.1155/2012/481641

Shankar, A., Teppala, S., Sabanayagam, C. (2012). Bisphenol A and peripheral arterial disease: results from the NHANES. *Environ. Health Perspect.*, *120*, 1297-1300. https://doi.org/10.1289/ehp.1104114

Shi, H., Cao, Y., Shen, Q., Zhao, Y., Zhang, Z., Zhang, Y. (2015). Association Between Urinary Phthalates and Pubertal Timing in Chinese Adolescents. *J. Epidemiol.*, *25*, 574–582. https://doi.org/10.2188/jea.JE20140205

Shin, B.S., Kim, C.H., Jun, Y.S., Kim, D.H., Lee, B.M., Yoon, C.H., Park, E.H., Lee, K.C., Han, S.Y., Park, K.L., Kim, H.S., Yoo, S.D. (2004). Physiologically based pharmacokinetics of bisphenol A. *J. Toxicol. Environ. Health Part A*, *67*, 1971–1985. https://doi.org/10.1080/15287390490514615

Shu, H., Jönsson, B.A., Larsson, M., Nånberg, E., Bornehag, C.G. (2014). PVC flooring at home and development of asthma among young children in Sweden, a 10-year follow-up. *Indoor Air*, *24*, 227–235. https://doi.org/10.1111/ina.12074

Singer, A.J., Hollander, J.E., & Blumm, R.M. (2010). *Skin and Soft Tissue Injuries and Infections: A Practical Evidence Based Guide*. PMPH-USA, Ltd. 95 p. ISBN: 9781607950295.

Sinicropi, M.S., Iacopetta, D., Ceramella, J., Catalano, A., Mariconda, A., Pellegrino, M., Saturnino, C., Longo, P., Aquaro, S. (2022). Triclosan: A Small Molecule with Controversial Roles. *Antibiotics*, *11*, 735. https://doi.org/10.3390/antibiotics11060735

Skarha, J., Mínguez-Alarcón, L., Williams, P.L., Korevaar, T.I.M., de Poortere, R.A., Broeren, M.A.C., Ford, J.B., Eliot, M., Hauser, R., Braun, J.M. (2019). Cross-sectional associations between urinary triclosan and serum thyroid function biomarker concentrations in women. *Environ. Int.*, *122*, 256–262. https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.11.015

Society of Hair Testing. (2004). Recommendations for hair testing in forensic cases. . *Forensic Sci. Int.*, *145*, 83-4. https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2004.04.022

Spanier, A.J., Kahn, R.S., Kunselman, A.R., Schaefer, E.W., Hornung, R., Xu, Y., Calafat, A.M., Lanphear, B.P. (2014). Bisphenol A Exposure and the Development of Wheeze and Lung Function in Children Through Age 5 Years. *JAMA Pediatr.*, *168*, 1131–1137. https://doi.org/10.1001/jamapediatrics.2014.1397

Stein, T.P., Schluter, M.D., Steer, R.A., Ming, X. (2013). Autism and Phthalate Metabolite Glucuronidation. *J. Autism Dev. Disord.*, *43*, 2677–2685. https://doi.org/10.1007/s10803-013-1822-y

Subotic, U., Hannmann, T., Kiss, M., Brade, J., Breitkopf, K., Loff, S. (2007). Extraction of the Plasticizers Diethylhexylphthalate and Polyadipate From Polyvinylchloride Nasogastric Tubes Through Gastric Juice and Feeding Solution. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, *44*, 71–76. https://doi.org/10.1097/01.mpg.0000237939.50791.4b

Sugiura-Ogasawara, M., Ozaki, Y., Sonta, S.I., Makino, T., Suzumori, K. (2005). Exposure to bisphenol A is associated with recurrent miscarriage. Hum. Reprod., 20, 2325-2329. https://doi.org/10.1093/humrep/deh888

Sukiene, V., Gerecke, A.C., Park, Y.M., Zennegg, M., Bakker, M. I., Delmaar, C.J. E., Hungerbühler, K., von Götz, N. (2016). Tracking SVOCs' Transfer from Products to Indoor Air and Settled Dust with Deuterium-Labeled Substances. *Environ. Sci. Technol.*, *50*, 4296–4303. https://doi.org/10.1021/acs.est.5b05906

Tabb, M.M., Blumberg, B. (2006). New Modes of Action for Endocrine-Disrupting Chemicals. *Mol. Endocrinol.*, *20*, 475–482. https://doi.org/10.1210/me.2004-0513

Talsness, C.E., Andrade, A.J.M., Kuriyama, S.N., Taylor, J.A., vom Saal, F.S. (2009). Components of plastic: experimental studies in animals and relevance for human health. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, *364*, 2079–2096. https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0281

Tang, B., Zheng, J., Xiong, S.M., Cai, F.S., Li M., Ma, Y., Gao, B., Du, D.W., Yu, Y.J., Mai, B.X. (2023). The accumulation of organic contaminants in hair with different biological characteristics. *Chemosphere*, *312*, 137064. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.137064

Tang, B., Zheng, J., Xiong, S.M., Cai, F.S., Li, M., Ma, Y., Gao, B., Du, D.W., Yu, Y.J., Mai, B.X. (2023). The accumulation of organic contaminants in hair with different biological characteristics. *Chemosphere*, *312*, 137064. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.137064

Teppala, S., Madhavan, S., Shankar, A. (2012). Bisphenol A and Metabolic Syndrome: Results from NHANES. *Int. J. Endocrinol.*, *2012*, 5 pages. https://doi.org/10.1155/2012/598180

Thoene, M., Rytel, L., Nowicka, N., Wojtkiewicz, J. (2018). The state of bisphenol research in the lesser developed countries of the EU: a mini-review. *Toxicol. Res.*, *7*, 371–380. https://doi.org/10.1039/c8tx00064f

Tobias, K.M., & Johnston, S.A. (2013). *Veterinary Surgery: Small Animal; 2-Volume Set*. e-Book. Canada: Elsevier Health Sciences. 190 p. ISBN: 9780323263375.

Trasande, L., Attina, T.M. (2015). Association of Exposure to Di-2-Ethylhexylphthalate Replacements With Increased Blood Pressure in Children and Adolescents. *Hypertension*, *66*, 301–308. https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.115.05603

Trasande, L., Sathyanarayana, S., Spanier, A.J., Trachtman, H., Attina, T.M., Urbina, E.M. (2013). Urinary Phthalates Are Associated with Higher Blood Pressure in Childhood. *J. Pediatr.*, *163*, 747–753. https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2013.03.072

Tzatzarakis, M.N., Vakonaki, E., Kavvalakis, M.P., Barmpas, M., Kokkinakis, E.N., Xenos, K., Tsatsakis, A.M. (2015). Biomonitoring of bisphenol A in hair of Greek population. *Chemosphere*, *118*, 336–341. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.10.044

Valvi, D., Casas, M., Romaguera, D., Monfort, N., Ventura, R., Martinez, D., Sunyer, J., Vrijheid, M. (2015). Prenatal Phthalate Exposure and Childhood Growth and Blood Pressure: Evidence from the Spanish INMA-Sabadell Birth Cohort Study. *Environ. Health Perspect.*, *123*, 1022–1029. https://doi.org/10.1289/ehp.1408887

Van Landuyt, K.L., Nawrot, T., Geebelen, B., De Munck, J., Snauwaert, J., Yoshihara, K., Scheers, H., Godderis, L., Hoet, P., Van Meerbeek, B. (2011). How much do resin-based dental materials release? A meta-analytical approach. *Dent. Mater.*, *27*, 723–747. https://doi.org/10.1016/j.dental.2011.05.001

Vandenberg, L.N., Hauser, R., Marcus, M., Olea, N., Welshons, W.V. (2007). Human exposure to bisphenol A (BPA). *Reprod. Toxicol.*, *24*, 139–177. https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2007.07.010

Ventrice, P., Ventrice, D., Russo, E., De Sarro, G. (2013). Phthalates: European regulation, chemistry, pharmacokinetic and related toxicity. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, *36*, 88–96. https://doi.org/10.1016/j.etap.2013.03.014

Walsh, L.J., Healey, D.L. (2019). Prevention and caries risk management in teenage and orthodontic patients. *Aust. Dent. J.*, *64*, S37–S45. https://doi.org/10.1111/adj.12671

Wams, T.J. (1987). Diethylhexylphthalate as an environmental contaminant — A review. *Sci. Total Environ.*, *66*, 1–16. https://doi.org/10.1016/0048-9697(87)90072-6

Wang, B., Wang, H., Zhou, W., He, Y., Zhou, Y., Chen, Y., Jiang, Q. (2014). Exposure to bisphenol A among school children in eastern China: a multicenter cross-sectional study. *J. Exp. Sci. Environ. Epidemiol.*, *24*, 657–664. https://doi.org/10.1038/jes.2014.36

Wang, C., Chen, L., Zhao, S., Hu, Y., Zhou, Y., Gao, Y., Wang, W., Zhang, J., Tian, Y. (2018). Impacts of prenatal triclosan exposure on fetal reproductive hormones and its potential mechanism. *Environ. Int.*, *111*, 279–286. https://doi.org/10.1016/j.envint.2017.11.007

Wang, H., Zhou, Y., Tang, C., He, Y., Wu, J., Chen, Y., Jiang, Q. (2013). Urinary Phthalate Metabolites Are Associated with Body Mass Index and Waist Circumference in Chinese School Children. *PLoS One*, *8*, e56800. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0056800

Wang, X., Chen, X., Feng, X., Chang, F., Chen, M., Xia, Y., Chen, L. (2015). Triclosan causes spontaneous abortion accompanied by decline of estrogen sulfotransferase activity in humans and mice. *Sci. Rep.*, *5*, 18252. https://doi.org/10.1038/srep18252

Wang, Y., Zhu, H., Kannan, K. (2019). A Review of Biomonitoring of Phthalate Exposures. *Toxics.*, *7*, 1–28. https://doi.org/10.3390/toxics7020021

Wang, Z.X., Jiang, C.P., Cao, Y., Ding, Y.T. (2013). Systematic review and meta-analysis of triclosan-coated sutures for the prevention of surgical-site infection. *British Journal of Surgery*, *100*, 465–473. https://doi.org/10.1002/bjs.9062

Watson, D.G. (2005). *Pharmaceutical Analysis: A Textbook for Pharmacy Students and Pharmaceutical Chemists*. 2nd Ed. Edinburgh; New York: Elsevier/Churchill Livingstone. xiii, 382 p. ISBN: 0 443 07445 3.

Wilkes, C.E., Summers, J.W., & Daniels, C.A. (2005). *PVC Handbook*. Berlin: Hanser. ISBN 9783446227149.

Witorsch, R.J. (2014). Critical analysis of endocrine disruptive activity of triclosan and its relevance to human exposure through the use of personal care products. *Crit. Rev. Toxicol.*, *44*, 535–555. https://doi.org/10.3109/10408444.2014.910754

Witorsch, R.J., Thomas, J.A. (2010). Personal care products and endocrine disruption: A critical review of the literature. *Crit. Rev. Toxicol.*, *40*, 1–30. https://doi.org/10.3109/10408444.2010.515563

Wolff, M.S., Teitelbaum, S.L., Pinney, S.M., Windham, G., Liao, L., Biro, F., Kushi, L.H., Erdmann, C., Hiatt, R.A., Rybak, M.E., Calafat, A.M. (2010). Investigation of Relationships between Urinary Biomarkers of Phytoestrogens, Phthalates, and Phenols and Pubertal Stages in Girls. *Environ. Health Perspect.*, *118*, 1039–1046. https://doi.org/10.1289/ehp.0901690

Woodruff, T.J., Zota, A.R., Schwartz, J.M. (2011). Environmental Chemicals in Pregnant Women in the United States: NHANES 2003–2004. *Environ. Health Perspect.*, *119*, 878–885. https://doi.org/10.1289/ehp.1002727

Wu, Y. (2011). *Joint FAO/WHO expert meeting to review toxicological and health aspects of bisphenol A: final report, including report of stakeholder meeting on bisphenol A*. 1-5 November 2010, Ottawa, Canada: World Health Organization. ISBN 978-92-4-156427-4.

Xie, C., Zhao, Y., Gao, L., Chen, J., Cai, D., Zhang, Y. (2015). Elevated phthalates' exposure in children with constitutional delay of growth and puberty. *Mol. Cell. Endocrinol.*, *407*, 67–73. https://doi.org/10.1016/j.mce.2015.03.006

Xie, X., Lu, C., Wu, M., Liang, J., Ying, Y., Liu, K., Huang, X., Zheng, S., Du, X., Liu, D., Wen, Z., Hao, G., Yang, G., Feng, L., Jing, C. (2020). Association between triclocarban and triclosan exposures and the risks of type 2 diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES 2013–2014). *Environ. Int.*, *136*, 105445. https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105445

Xue, J., Liu, W., Kannan, K. (2017). Bisphenols, Benzophenones, and Bisphenol A Diglycidyl Ethers in Textiles and Infant Clothing. *Environ. Sci. Technol.*, *51*, 5279–5286. https://doi.org/10.1021/acs.est.7b00701

Xue, J., Wu, Q., Sakthivel, S., Pavithran, P.V., Vasukutty, J.R., Kannan, K. (2015). Urinary levels of endocrine-disrupting chemicals, including bisphenols, bisphenol A diglycidyl ethers, benzophenones, parabens, and triclosan in obese and non-obese Indian children. *Environ. Res.*, *137*, 120–128. https://doi.org/10.1016/j.envres.2014.12.007

Yang, Y.J., Hong, Y.C., Oh, S.Y., Park, M.S., Kim, H., Leem, J.H., Ha, E.H. (2009). Bisphenol A exposure is associated with oxidative stress and inflammation in postmenopausal women. *Environ. Res.*, *109*, 797–801. https://doi.org/10.1016/j.envres.2009.04.014

Yawer, A., Sychrová, E., Labohá, P., Raška, J., Jambor, T., Babica, P., Sovadinová, I. (2020). Endocrine-disrupting chemicals rapidly affect intercellular signaling in Leydig cells. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, *404*, 115177. https://doi.org/10.1016/j.taap.2020.115177

Ye, J., Zhu, W., Liu, H., Mao, Y., Jin, F., Zhang, J. (2018). Environmental exposure to triclosan and polycystic ovary syndrome: a cross-sectional study in China. *BMJ Open*, *8*, e019707. https://doi.org/10.1136/bmjopen-2017-019707

Yu, H., Jang, W.J., Jang, J.H., Park, B., Seo, Y.H., Jeong, C.H., Lee, S. (2017). Role of hair pigmentation in drug incorporation into hair. *Forensic Sci. Int.*, *281*, 171–175. https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2017.11.004

Zhang, Y., Cao, Y., Shi, H., Jiang, X., Zhao, Y., Fang, X., Xie, C. (2015). Could exposure to phthalates speed up or delay pubertal onset and development? A 1.5-year follow-up of a school-based population. *Environ. Int.*, *83*, 41–49. https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.06.005

Zhu, W., Zhang, H., Tong, C., Xie, C., Fan, G., Zhao, S., Yu, X., Tian, Y., Zhang, J. (2016). Environmental Exposure to Triclosan and Semen Quality. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, *13*, 224. https://doi.org/10.3390/ijerph13020224

Zota, A.R., Calafat, A.M., Woodruff, T.J. (2014). Temporal Trends in Phthalate Exposures: Findings from the National Health and Nutrition Examination Survey, 2001–2010. *Environ. Health Perspect.*, *122*, 235–241. https://doi.org/10.1289/ehp.1306681

5.2 Ελληνικές Αναφορές

Αφεντούλη, Ε. (2023). *Προσδιορισμός αντικαταθλιπτικών φαρμακευτικών ενώσεων σε περιβαλλοντικά δείγματα με χρήση υγρής χρωματογραφίας φασματομετρίας μάζας* (Μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία). Ελληνικό Ανοικτό Πανεπιστήμιο, Πάτρα.

Γιουμουξούζης, Χ. (2015). *Μοντελοποίηση απόκρισης σήματος φαρμακομορίων με χρήση τεχνικής αρνητικού μοριακού ιοντισμού και ηλεκτροψεκασμό (ESI-LC-MS)* (Μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία). Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη.

Ευρωπαϊκή Επιτροπή (2011, Ιανουάριος 29). ΟΔΗΓΙΑ 2011/8/ΕΕ ΤΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ της 28ης Ιανουαρίου 2011 για την τροποποίηση της οδηγίας 2002/72/ΕΚ όσον αφορά τον περιορισμό της χρήσης της Bisphenol A στα πλαστικά βρεφικά μπιμπερό. *Επίσημη Εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης*. Ανακτήθηκε από https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:026:0011:0014:EL:PDF

Ευρωπαϊκή Επιτροπή (2016, Δεκέμβριος 13). ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ (ΕΕ) 2016/2235 ΤΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ της 12ης Δεκεμβρίου 2016 για την τροποποίηση του παραρτήματος XVII του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 1907/2006 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου για την καταχώριση, την αξιολόγηση, την αδειοδότηση και τους περιορισμούς των χημικών προϊόντων (REACH) όσον αφορά τη δισφαινόλη Α. *Επίσημη Εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης*. Ανακτήθηκε από https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EL/TXT/PDF/?uri=CELEX:32016R2235

Καστανιάς, Θ., Τοκμακίδης, Σ. (2012). Η δράση των φθαλικών εστέρων, ως ενδοκρινικών διαταρακτών, στην υγεία του ανθρώπου. Αρχεία Ελληνικής Ιατρικής, 29, 539-549. Ανακτήθηκε από https://www.mednet.gr/archives/2012-5/pdf/539.pdf

Μανούση, Ν. (2017). *Ανάπτυξη και επικύρωση μεθόδων για τον ταυτόχρονο προσδιορισμό φαινόλης και μ-κρεσόλης σε ιστό δέρματος χοίρου με τις τεχνικές LC-MS και GC-MS* (Μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία). Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη.

Μπαλαμπάνος, Δ. (2016). *Το προφίλ των ενδογενών στεροειδών ανδρογόνων ως διαγνωστικό εργαλείο για την λήψη συνθετικών αναβολικών στα ούρα αθλητών: το παράδειγμα της στανοζολόλης* (Πτυχιακή εργασία). Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Λάρισα.

Σαλαπασίδου, Μ. (2009). *Μελέτη της παρουσίας ενώσεων με ενδοκρινική δράση στην ατμόσφαιρα της Θεσσαλονίκης* (Μεταπτυχιακή διατριβή). Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη.

Φοίβας, Α. (2015). *Ανάπτυξη και επικύρωση μεθόδου LC-ESI-QTOF-MS/MS για τον ποσοτικό προσδιορισμό της βρινζολαμίδης σε ξηραμένες κηλίδες αίματος* (Μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία). Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα.

Χατζηιωάννου, Θ.Π., & Κουππάρης, Μ.Α. (2003). *Ενόργανη Ανάλυση*. 4η Έκδ. Αθήνα: Πανεπιστημίου Αθηνών. σ. 592.

5.3 Διαδικτυακές Πηγές

Bio, S. (2023, Σεπτέμβριος 22). *Φασματομετρία μάζας (MS) – Αρχή, Μέρη, Εργασία, Βήματα, Χρήσεις*. Ανακτήθηκε από https://microbiologynote.com/el/mass-spectrometry/

CDC | Centers for Disease Control and Prevention (2017, April 7). *Bisphenol A (BPA) Factsheet*. National Biomonitoring Program. Retrieved from https://www.cdc.gov/biomonitoring/BisphenolA_FactSheet.html

ECHA | European Chemicals Agency (2024). *Triclosan*. Retrieved from https://echa.europa.eu/el/brief-profile/-/briefprofile/100.020.167

ECHA | European Chemicals Agency (n.d.). *Phthalates*. Retrieved from https://echa.europa.eu/el/hot-topics/phthalates

ECPI | European Council for Plasticizers and Intermediates (2014). *The Plasticizers Information Centre*. Retrieved from https://www.plasticisers.org/

FDA | U.S. Food and Drug Administration (2010). *Phthalates in Cosmetics*. Retrieved from https://www.fda.gov/cosmetics/cosmetic-ingredients/phthalates-cosmetics#cos

FDA | U.S. Food and Drug Administration (2019). *5 Things to Know About Triclosan*. Retrieved from https://www.fda.gov/consumers/consumer-updates/5-things-know-about-triclosan

MN Editors. (2023, Ιούνιος 30). *Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC)*. Ανακτήθηκε από https://microbiologynote.com/el/high-performance-liquid-chromatography-hplc/

U.S. EPA | U.S. Environmental Protection Agency (2007). *Toxicity and Exposure Assessment for Children's Health (TEACH)*. Retrieved from https://archive.epa.gov/region5/teach/web/html/index.html

U.S. EPA | U.S. Environmental Protection Agency (2016). *Triclosan Facts*. Retrieved from https://archive.epa.gov/pesticides/reregistration/web/html/triclosan_fs.html

WHO & UNEP | World Health Organization, & United Nations Environment Programme (2013). *State of the Science of Endocrine Disrupting Chemicals – 2012*. Retrieved from https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/78102/WHO_HSE_PHE_IHE_2013.1_eng.pdf?sequence=1

Γινγκ, Ζ. (2022, Σεπτέμβριος 29). *Τι είναι το LC-MS*. Ανακτήθηκε από https://antiteck.com/el/τι-είναι-το-lc-ms/