



Πανεπιστήμιο Κρήτης
Σχολή Θετικών και Τεχνολογικών Επιστημών
Τμήμα Χημείας
Ακαδημαϊκό έτος 2023-2024

Προσδιορισμός επιπέδων Μαγγανίου σε
Ελληνικά Προϊόντα και στο Περιβάλλον με την
χρήση Φασματομετρίας Μάζας Επαγωγικά
Συζευγμένου Πλάσματος
(ICP-MS)

Δημήτρης Τσαγκαράκης (ΑΜ 2828)

Διπλωματική Εργασία

Επιβλέπων Καθηγητής: Σπυρίδων Α. Περγαντής

Ηράκλειο, 2024

Ευχαριστίες

Προτού ξεκινήσω με την ανάλυση του θέματος της διπλωματικής μου εργασίας, θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου προς όσους συνέβαλαν στην επιτυχή ολοκλήρωσή της. Καταρχάς, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή μου, κ. Σπύρο Α. Περγαντή, για την εξαιρετική συνεργασία, την πολύτιμη καθοδήγηση και τις γνώσεις που μου παρείχε. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τα μέλη του εργαστηρίου, για το συνεργατικό και ευχάριστο κλίμα που επικρατούσε στο εργαστήριο, καθώς και για την άψογη συνεργασία μας. Ιδιαίτερη ευγνωμοσύνη οφείλω στην διδακτορική φοιτήτρια και υπεύθυνη μου, Τζορτζίνα Πανάγου, για την εξαιρετική προθυμία της και τον πολύτιμο χρόνο που αφιέρωσε στην εκπαίδευσή μου, Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω το ΕΛΚΕΘΕ για την πραγματοποίηση των δειγματοληψιών και την παραχώρηση των δειγμάτων ψαριών προς ανάλυση καθώς και την μεταδιδακτορική ερευνήτρια του ΕΛΚΕΘΕ, Ιωάννα Καλαντζή για την θαυμάσια συνεργασία μας.

Περιεχόμενα

1. ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	4
2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	5
2.1. Το Μαγγάνιο στα τρόφιμα.....	5
2.2. Βασικές αρχές Φασματομετρία Μάζας.....	6
2.3. Βασική Οργανολογία.....	7
2.3.1) Σύστημα εισαγωγής δείγματος.....	8
2.3.2) Πηγή ιοντισμού.....	9
2.3.3) Αναλυτής Μάζας.....	11
2.3.4) Ανιχνευτής ιόντων.....	12
3. ΣΚΟΠΟΣ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ.....	13
4. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	14
4.1. Προσδιορισμός Μαγγανίου στα δείγματα ψαριών.....	14
4.2. Προσδιορισμός Μαγγανίου στα δείγματα ροφημάτων και αφεψημάτων.....	17
5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ.....	18
6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	30
7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	30

1.ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το μαγγάνιο (Mn) είναι ένα ζωτικής σημασίας ιχνοστοιχείο που διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο σε διάφορες διεργασίες απαραίτητες για την ανθρώπινη υγεία. Ως συμπράγοντας για πολυάριθμα ένζυμα, το μαγγάνιο είναι ζωτικής σημασίας για τον μεταβολισμό των υδατανθράκων, των αμινοξέων και της χοληστερόλης¹. Είναι επίσης απαραίτητο για το σχηματισμό των οστών², την παραγωγή ενέργειας³, τη λειτουργία του ανοσοποιητικού και του νευρικού συστήματος⁴, ενώ πρόσφατες έρευνες έχουν δείξει ότι η πρόσληψη μαγγανίου συνδέεται με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης διαβήτη τύπου 2⁵. Η ανεπάρκεια μαγγανίου, αν και σπάνια, μπορεί να οδηγήσει σε σκελετικές ανωμαλίες, μειωμένη ανοχή στη γλυκόζη, νευρολογικά ζητήματα και αναπαραγωγικά προβλήματα. Αντίθετα, η υπερβολική έκθεση σε μαγγάνιο μπορεί να οδηγήσει σε τοξικότητα, επηρεάζοντας ιδιαίτερα το νευρικό σύστημα και οδηγώντας σε συμπτώματα που μοιάζουν με τη νόσο του Πάρκινσον⁶. Το μαγγάνιο είναι επομένως απαραίτητο για τη διατήρηση της μεταβολικής ομοιόστασης και της συνολικής υγείας, αναδεικνύοντας τη σημασία των ισορροπημένων επιπέδων μαγγανίου στη διατροφή.

Η παρούσα πτυχιακή εργασία επικεντρώνεται στην ανάλυση της περιεκτικότητας μαγγανίου σε διάφορα δείγματα τροφίμων, συγκεκριμένα σε ψάρια και η επίδραση που έχουν περιβαλλοντικοί παράγοντες σε αυτή, αλλά και σε αφεψήματα και ροφήματα που καταναλώνονται τακτικά από Έλληνες καταναλωτές, χρησιμοποιώντας τη Φασματομετρία Μάζας Επαγωγικά Συζευγμένου Πλάσματος (ICP-MS). Η τεχνική ICP-MS προσφέρει υψηλή ευαισθησία και ακρίβεια, καθιστώντας την ιδανική για την ανίχνευση και ποσοτική ανάλυση ιχνοστοιχείων σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι περιβαλλοντικοί παράγοντες δεν επηρέασαν σημαντικά τις συγκεντρώσεις μαγγανίου για τα είδη ψαριών σαφρίδια, γόπες και φρίσσες. Λαμβάνοντας υπόψη τις συγκεντρώσεις και από τις 3 ημερομηνίες δειγματοληψίας για κάθε είδος ψαριού μπορούμε να καταλήξουμε σε τιμή συγκεντρώσεων για τα σαφρίδια ίση με $273,4 \pm 61 \mu\text{g Mn/ Kg(WW)}$, για τις γόπες $314,5 \pm 78 \mu\text{g Mn/ Kg(WW)}$ και για τις φρίσσες $1609 \pm 306 \mu\text{g Mn/ Kg(WW)}$. Επίσης, η κατανάλωση τους μπορεί να καλύψει από 1,5% έως και το 16% της απαιτούμενης ημερήσιας πρόσληψης σε μαγγάνιο ανάλογα με το είδος ψαριού. Για τα ροφήματα που αναλύθηκαν, παρατηρήθηκαν μεγάλες αποκλίσεις μεταξύ των πειραματικών και των βιβλιογραφικών τιμών.

Παρά τις αποκλίσεις αυτές, βρέθηκε ότι η κατανάλωση των ροφημάτων προσφέρει ικανοποιητικές ποσότητες μαγγανίου, που φτάνουν μέχρι και το 35% της απαιτούμενης ημερήσιας πρόσληψης.

2.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

2.1.Το Μαγγάνιο στα τρόφιμα

Το μαγγάνιο στα τρόφιμα υπάρχει κυρίως με τη μορφή ιόντων μαγγανίου (Mn^{2+}), οι οποίες είναι οι βιοδιαθέσιμες μορφές που ο οργανισμός μας μπορεί να απορροφήσει και να χρησιμοποιήσει. Μπορεί επίσης να αποτελεί μέρος οργανικών συμπλόκων σε μήτρες τροφίμων, ενισχύοντας τη βιοδιαθεσιμότητά του. Στα συμπληρώματα διατροφής, το μαγγάνιο υπάρχει σε πολλές διαφορετικές μορφές, συμπεριλαμβανομένων των χηλικών αμινοξέων (π.χ. γλυκινικό μαγγάνιο, θειικό μαγγάνιο, κιτρικό μαγγάνιο και ασπαρτικό μαγγάνιο). Δεν υπάρχουν διαθέσιμα δεδομένα σχετικά με τη σχετική βιοδιαθεσιμότητα των διαφόρων μορφών συμπληρωματικού μαγγανίου.

Η απορρόφηση του μαγγανίου από τη διατροφή μπορεί να ποικίλλει ανάλογα με την παρουσία άλλων συστατικών της διατροφής. Για παράδειγμα, υψηλά επίπεδα ασβεστίου, φωσφόρου και σιδήρου μπορούν να εμποδίσουν την απορρόφηση του μαγγανίου⁷. Αντίθετα, μια διατροφή πλούσια σε φυτικά οξέα, τα οποία βρίσκονται στα δημητριακά ολικής αλέσεως, μπορεί να ενισχύσει την απορρόφηση του μαγγανίου λόγω της ικανότητάς τους να σχηματίζουν διαλυτά σύμπλοκα με το μαγγάνιο⁸.

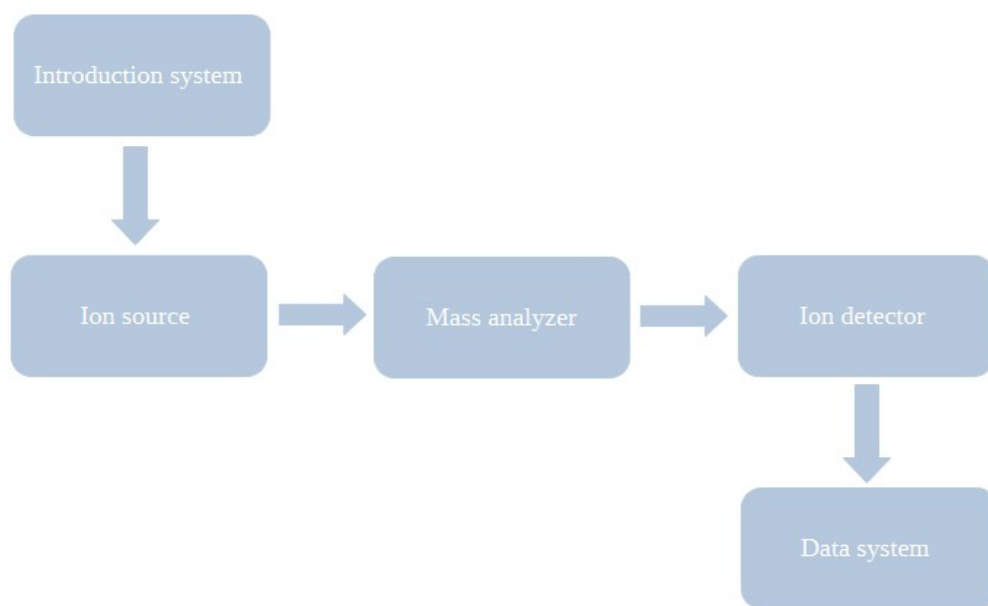
Το μαγγάνιο περιέχεται σε μεγάλη ποικιλία τροφίμων, όπως τα δημητριακά ολικής αλέσεως, τα οστρακοειδή, οι ξηροί καρποί, τα όσπρια, το ρύζι, τα φυλλώδη λαχανικά, ο καφές, το τσάι και πολλά μπαχαρικά⁹. Το πόσιμο νερό περιέχει επίσης μικρές ποσότητες μαγγανίου σε συγκεντρώσεις από 1 έως 100 $\mu\text{g/L}$ ¹⁰.

Η παρούσα εργασία έχει ως σκοπό τον προσδιορισμό των επιπέδων μαγγανίου (Mn) σε τρόφιμα και πιο συγκεκριμένα σε ψάρια καθώς και σε αφειψήματα και ροφήματα που καταναλώνονται τακτικά από Έλληνες καταναλωτές. Η μέτρηση των επιπέδων αυτών έγινε με την μέθοδο της Φασματομετρίας μάζας – επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος (ICP-MS).

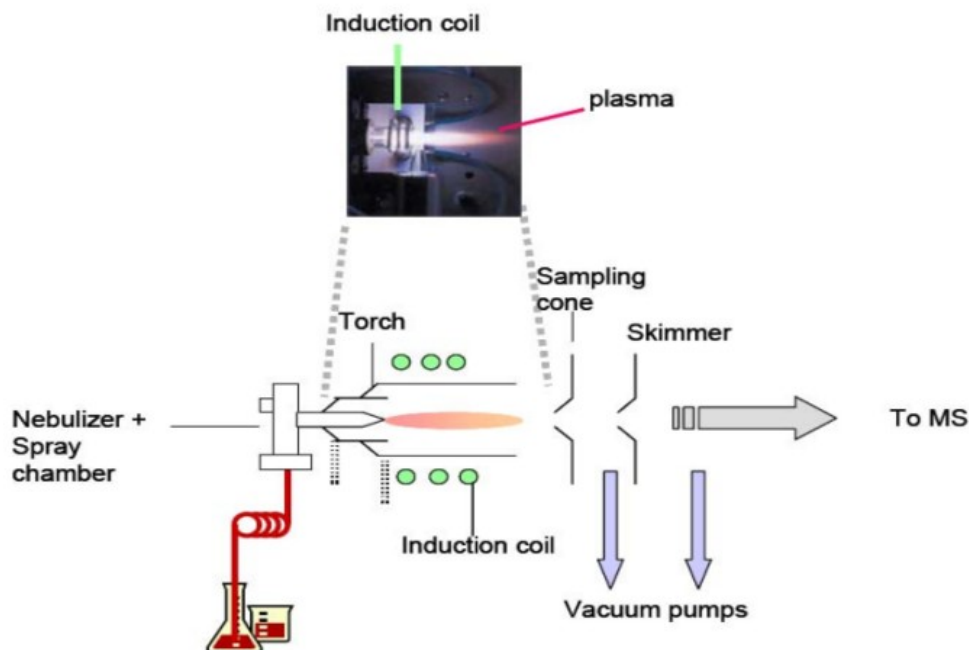
2.2. Βασικές αρχές Φασματομετρία Μάζας

Η φασματομετρία μάζας (MS) είναι μια αναλυτική τεχνική που χρησιμοποιείται για τη μέτρηση του λόγου μάζας προς φορτίο των ιόντων, m/z . Το φάσμα μάζας είναι ένα διάγραμμα που δείχνει την απόκριση του ανιχνευτή ως προς τον λόγο m/z .

Το ICP-MS λειτουργεί με τη δημιουργία θετικά φορτισμένων ατομικών ιόντων μέσω υψηλών θερμοκρασιών (5000-10000K) εντός του πλάσματος. Το δείγμα, συνήθως σε υγρή μορφή, εισάγεται στο σύστημα εισαγωγής δείγματος, σχηματίζοντας ένα αερόλυμα που εισέρχεται στη βάση του πλάσματος. Καθώς διέρχεται από τις διάφορες θερμοκρασιακές ζώνες του πυρσού πλάσματος, υφίσταται εξάτμιση, ατομοποίηση και επακόλουθο ιοντισμό. Κατά τη διάρκεια αυτής της διαδικασίας, το δείγμα μεταπίπτει από υγρό αερόλυμα σε στερεά σωματίδια και τελικά σε αέριο. Όταν φτάσει στην αναλυτική ζώνη του πλάσματος σε θερμοκρασίες γύρω στους 6000-7000K, παίρνει τη μορφή ενός διεγερμένου ατόμου (κατιόν), αποκαλύπτοντας τη στοιχειακή σύνθεση του δείγματος. Στη συνέχεια, τα ιόντα που παράγονται από το πλάσμα μεταφέρονται και ταξινομούνται με βάση τον λόγο μάζας προς φορτίο(m/z) τους χρησιμοποιώντας ένα φασματόμετρο μάζας.



Εικόνα 1: Θεμελιώδη στάδια φασματοσκοπίας μάζας



Εικόνα 2: Σχηματική αναπαράσταση του ICP-MS, η οποία αποτελείται από τρία βασικά μέρη: α) Το σύστημα εισαγωγής υγρού δείγματος, β) η πηγή ιόντων (πλάσμα αργού) και γ) ο αναλυτής μάζας¹¹

2.3. Βασική Οργανολογία

Το μοντέλο του φασματομέτρου μάζας που χρησιμοποιήθηκε είναι το NeXION 300X ICP-MS της εταιρίας PerkinElmer. Στις παρακάτω εικόνες παρουσιάζονται η εξωτερική όψη του οργάνου καθώς και τα εξωτερικά μέρη που είναι διακριτά τα οποία είναι το σύστημα εισαγωγής δείγματος με τον εκνεφωτή και η περισταλτική αντλία. Μέσω της περισταλτικής αντλίας το δείγμα μεταφέρεται είτε προς τον εκνεφωτή, είτε προς τα απόβλητα.



Εικόνα 3: Εξωτερική όψη του NeXION 350X ICP-MS¹²



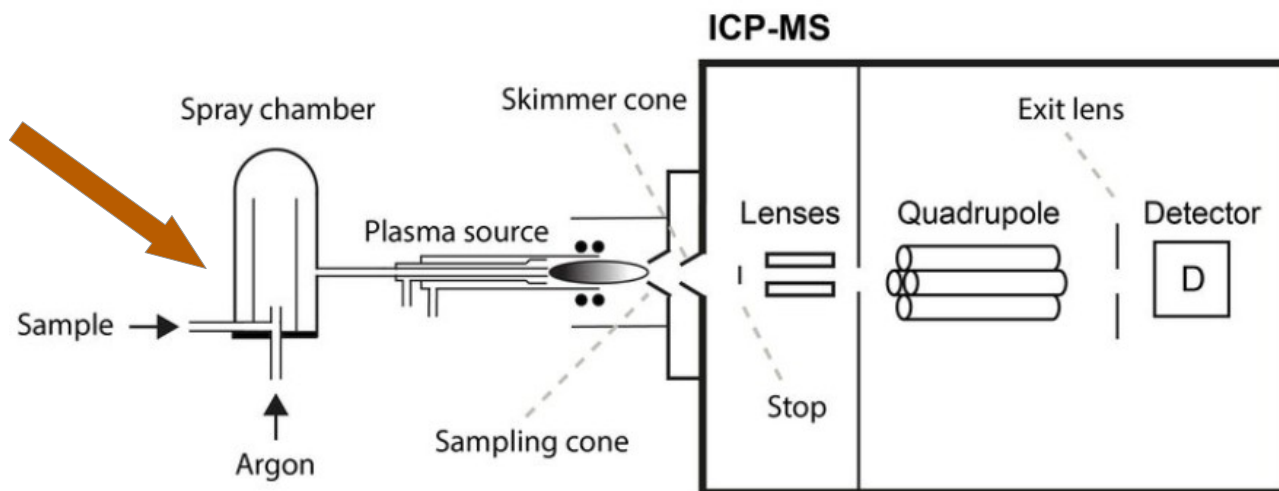
Εικόνα 4: Περισταλτική αντλία και σύστημα εισαγωγής δείγματος

Τα βασικά μέρη ενός φασματοφωτόμετρου μάζας είναι τα εξής:

- A) Σύστημα εισαγωγής δείγματος
- B) Πηγή ιόντων (πλάσμα Ar)
- Γ) Αναλυτής μάζας
- Δ) Ανιχνευτής

2.3.1) Σύστημα εισαγωγής δείγματος

Ο μηχανισμός εισαγωγής ενός υγρού δείγματος διακρίνεται σε δύο βασικά τμήματα τα οποία είναι α) η δημιουργία αερολύματος χρησιμοποιώντας εκνεφωτή και β) η επιλογή σταγονιδίων μέσω του θαλάμου εκνέφωσης. Το δείγμα αντλείται μέσω της περισταλτικής αντλίας στον εκνεφωτή και όταν το δείγμα εισάγεται στον εκνεφωτή, το υγρό διασπάται σε λεπτό αερόλυμα. Καθώς εισέρχεται το αερόλυμα στο θάλαμο εκνέφωσης, οι μεγάλες σταγόνες λόγω βαρύτητας πέφτουν και απομακρύνονται προς τα απόβλητα, ενώ τα μικρά σταγονίδια μεταφέρονται στον εισαγωγέα δείγματος και καταλήγουν στο πυρσό του πλάσματος.



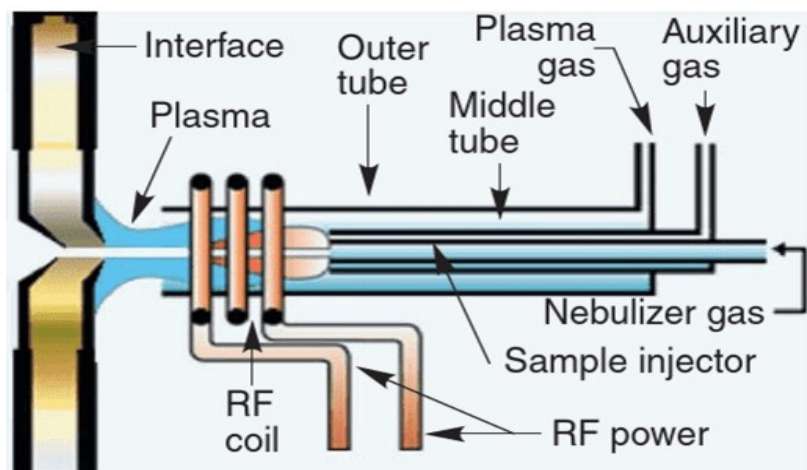
Εικόνα 5: Η περιοχή εισαγωγής δείγματος στο ICP-MS¹¹

2.3.2) Πηγή ιοντισμού

Το δείγμα στη συνέχεια, σε μορφή αερολύματος, συναντά την πηγή ιόντων. Η πηγή ιοντισμού αποτελείται από τον πυρσό πλάσματος (torch), ένα πηνίο ραδιοσυχνότητας (RF coil) και μια γεννήτρια ραδιοσυχνότητας (RF power).

Αρχικά ο θάλαμος του πλάσματος πληρώνεται με αέριο (Ar) εισερχόμενο από τον σωλήνα του αερίου πλάσματος. Το πηνίο ραδιοσυχνότητας, τροφοδοτείται από την γεννήτρια ραδιοσυχνότητας, με εναλλασσόμενο ρεύμα το οποίο δημιουργεί ισχυρό ηλεκτρομαγνητικό πεδίο στα άκρα του πυρσού. Με την ροή του αερίου αργού μέσω του πυρσού, ένας σπινθήρας υψηλής τάσης προστίθεται στο αέριο και προκαλεί την απομάκρυνση μερικών ηλεκτρονίων από τα άτομα αργού. Υπό την επίδραση του πεδίου ραδιοσυχνότητας αυτά επιταχύνονται, και συγκρούονται με άλλα άτομα αργού, τα οποία με τη σειρά τους ιοντίζονται συνεχίζοντας μία αλυσίδα αντίδρασης διασπώντας το αέριο σε άτομα αργού, ιόντα αργού και ηλεκτρόνια (επαγωγικά συζευγμένο πλάσμα). Η σύγκρουση των ουδέτερων ατόμων του στοιχείου με τα ελεύθερα ηλεκτρόνια καθώς

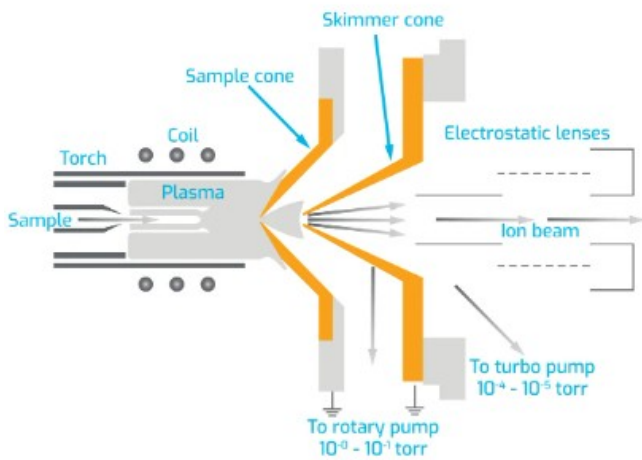
και με τα κατιόντα αργού έχει ως αποτέλεσμα την τελική μετατροπή του ουδέτερου ατόμου σε ατομικό ιόν.



Εικόνα 6: Λεπτομερής απεικόνιση του πυρσού και του σπειράματος ραδιοσυχνοτήτων¹¹

Μετά την πηγή ιοντισμού το επόμενο τμήμα του οργάνου είναι η διεπιφάνεια (interface). Ο σκοπός της διεπιφάνειας είναι η αποδοτική και με ηλεκτρική ακεραιότητα μεταφορά των ιόντων από το πλάσμα, που βρίσκεται σε ατμοσφαιρική πίεση, στον αναλυτή μαζών που βρίσκεται σε πίεση 10^{-6} Torr δηλαδή σε υψηλό κενό. Η διεπιφάνεια αποτελείται από δύο μεταλλικούς κώνους με πολύ μικρά ανοίγματα, που διατηρούνται σε πίεση 2 Torr περίπου, με την βοήθεια μίας μηχανικής αντλίας κενού. Όταν τα ιόντα δημιουργηθούν στο πλάσμα, περνούν μέσω του πρώτου κώνου, γνωστός ως sampler cone. Από εκεί ταξιδεύουν σε μικρή απόσταση στο δεύτερο κώνο γνωστό ως skimmer cone που είναι γενικά οξύτερος και έχει μικρότερο άνοιγμα. Τα ιόντα στη συνέχεια κατευθύνονται προς τους φακούς εστίασης.

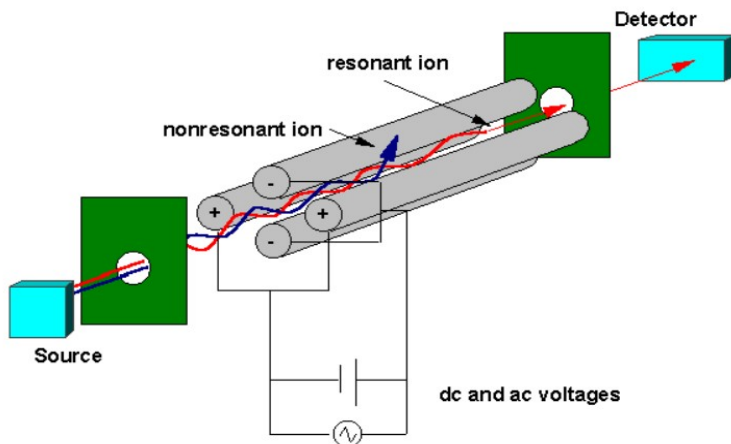
Οι φακοί εστίασης είναι κύλινδροι, μπάρες ή πλακίδια, στα οποία εφαρμόζεται δυναμικό, και έχουν ως στόχο την εστίαση της δέσμης προς τον αναλυτή μάζας. Επίσης, προστατεύουν τον ανιχνευτή απορρίπτοντας σωματίδια, ουδέτερα είδη αλλά και φωτόνια που μπορεί να εξέλθουν από το πλάσμα. Τελικά μέσω των φακών εστίασης τα ιόντα οδηγούνται στον αναλυτή μάζας του φασματομέτρου.



Εικόνα 7: Σχηματική απεικόνιση της ροής του δείγματος μέσα από την πηγή ιοντισμού στην διεπιφάνεια με τους κώνους εστίασης και στην συνέχεια στους φακούς εστίασης¹²

2.3.3) Αναλυτής Μάζας

Ο αναλυτής μάζας τοποθετείται μεταξύ των φακών εστίασης και του ανιχνευτή και σε αυτό το μέρος του οργάνου γίνεται ο διαχωρισμός των ιόντων βάσει του λόγου m/z . Στην εν λόγω πειραματική διάταξη, ως αναλυτής μάζας χρησιμοποιήθηκε το τετράπολο (quadrupole). Αποτελείται από τέσσερις παράλληλες κυλινδρικές ράβδους του ίδιου μήκους και διαμέτρου, οι οποίες δρουν σαν ηλεκτρόδια. Ανά δύο οι ράβδοι συνδέονται μεταξύ τους, σχηματίζοντας διαγώνια ζεύγη. Τοποθετώντας ένα πεδίο συνεχούς ρεύματος (DC) στο ένα ζεύγος και ένα πεδίο ραδιοσυχνότητας (RF) στο αντίθετο ζεύγος, ιόντα της επιλεγμένης μάζας, επιτρέπεται να περάσουν διαμέσου των ράβδων στον ανιχνευτή, ενώ άλλα ιόντα απορρίπτονται από το τετράπολο. Τα ιόντα που εισέρχονται στο τετράπολο, επιταχύνονται αρχικά με ένα δυναμικό, και στη συνέχεια αλληλεπιδρούν με το ηλεκτρικό πεδίο που δημιουργείται γύρω από τις ράβδους και εκτρέπονται από την πορεία τους. Ανάλογα με τις τιμές της συνεχούς και εναλλασσόμενης τάσης τα ιόντα με συγκεκριμένη τιμή m/z θα φτάσουν στον ανιχνευτή, ενώ τα υπόλοιπα, θα προσκρούσουν στις ράβδους και θα εξέλθουν από το τετράπολο.

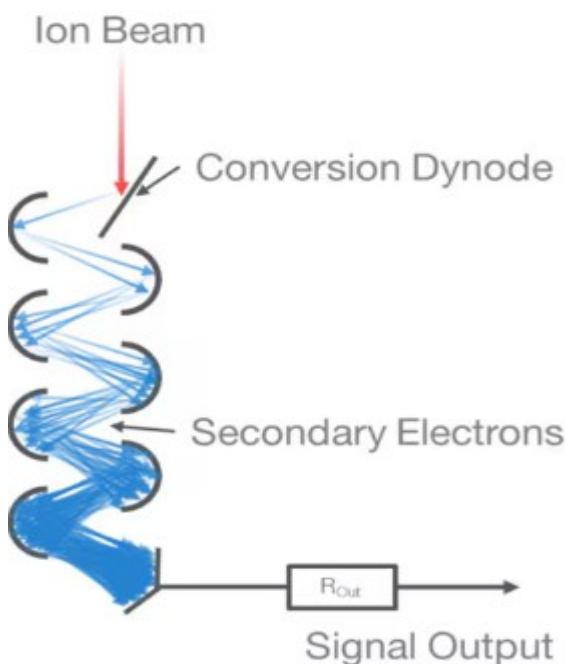


Εικόνα 8: Σχηματική απεικόνιση του τετραπόλου¹¹

2.3.4) Ανιχνευτής ιόντων

Το είδος του ανιχνευτή που χρησιμοποιείται στα περισσότερα όργανα ICP-MS είναι ο ηλεκτρονιοπολλαπλασιαστής διακριτών δυνόδων.

Όταν το ιόν εξέρχεται από τον αναλυτή μάζας, έλκεται από το υψηλό αρνητικό δυναμικό του ηλεκτρονιοπολλαπλασιαστή και όταν χτυπήσει στα ημιαγώγιμα μονωμένα τοιχώματα της πρώτης δυνόδου, ένα ή περισσότερα δευτερεύοντα ηλεκτρόνια δημιουργούνται. Αυτά τα δευτερεύοντα ηλεκτρόνια προσπίπτουν στη συνέχεια στην δεύτερη δύνοδο, όπου παράγονται επιπλέον ηλεκτρόνια και ούτω καθεξής. Το αποτέλεσμα είναι ένας διακριτός παλμός που περιέχει πολλά εκατομμύρια ηλεκτρόνια, τα οποία διαμορφώνονται από ένα ιόν όπου πρώτα χτυπά τον ανιχνευτή. Η τυπική ενίσχυση του ηλεκτρονιοπολλαπλασιαστή είναι 10^6 .



Εικόνα 9: Σχηματική αναπαράσταση ηλεκτρονιοπολλαπλασιαστή¹³

3. ΣΚΟΠΟΣ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Όσον αφορά τα κομμάτι της ανάλυσης των ψαριών, με αφορμή τις πλημμύρες στην Θεσσαλία που ξέσπασαν στις 4/9/2023 πραγματοποιήθηκε δειγματοληψία για να γίνει αποτύπωση της ποιότητας των βενθοπελαγικών ψαριών σε μέταλλα και η εκτίμηση των τυχόν επιπτώσεών τους στην ανθρώπινη υγεία από την κατανάλωση τους. Στο κομμάτι της διπλωματικής αυτής εργασίας έγινε εστίαση στα επίπεδα μαγγανίου των δειγμάτων αυτών. Τα είδη που αναλύθηκαν είναι η γόπα (*Boops boops*), η φρίσσα (*Sardinella aurita*) και τα σαφρίδια (*Trachurus mediterraneus*) τα οποία συλλέχθηκαν από 2 παράκτιες περιοχές του Παγασητικού Κόλπου (Station 1 και Station 2) και μια καθαρή περιοχή (control) στην έξοδο του Παγασητικού κόλπου σε τρεις δειγματοληπτικές αποστολές. Η πρώτη δειγματοληψία πραγματοποιήθηκε στις 21/8/2023, από την καθαρή περιοχή (control) στην έξοδο του Παγασητικού κόλπου. Οι επόμενες δειγματοληψίες πραγματοποιήθηκαν 15 και 30 μέρες μετά τις πλημμύρες, στις 20/9/2023 και στις 5/10/2023 αντίστοιχα, από τις 2 παράκτιες περιοχές του Παγασητικού Κόλπου. Η εργασία πραγματοποιήθηκε σε συνεργασία με το Ελληνικό Κέντρο Θαλάσσιων Ερευνών (ΕΛΚΕΘΕ) και την ομάδα της Δρ. Ιωάννας Καλαντζή.



Εικόνα 10: Περιοχές δειγματοληψίας

Τα αφεψήματα και ροφήματα που αναλύθηκαν στην συνέχεια είναι το πράσινο και μαύρο τσάι, το χαμομήλι, ο καφές espresso, ο καφές φίλτρου και το κρασί. Επιλέχθηκαν αυτά τα είδη εξαιτίας της υπολογίσιμης περιεκτικότητας τους σε μαγγάνιο σύμφωνα με βιβλιογραφικές πηγές και επομένως των οφελών που μπορεί να έχουν στην ανθρώπινη υγεία από την κατανάλωση τους σε κατάλληλες ποσότητες. Επιπλέον, η μελέτη αποσκοπεί στη σύγκριση των πειραματικών τιμών συγκέντρωσης μαγγανίου με τις αναφερόμενες στη βιβλιογραφία τιμές, με σκοπό την ερμηνεία και αιτιολόγηση των ενδεχόμενων αποκλίσεων που εντοπίζονται στα δείγματα ανάλυσης.

4. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Σε αυτό το μέρος της παρούσας εργασίας θα παρουσιαστεί όλη η πειραματική διαδικασία που ακολουθήθηκε στο εργαστήριο με στόχο τον συνολικό προσδιορισμό του μαγγανίου.

4.1. Προσδιορισμός Μαγγανίου στα δείγματα ψαριών

Τα βενθοπελαγικά ψάρια μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο όπου τεμαχίστηκαν και συλλέχθηκε η σάρκα από 5 άτομα από κάθε είδος και κάθε δειγματοληψία (15 άτομα συνολικά από κάθε είδος). Καταγράφηκε το συνολικό μήκος και βάρος του σώματος για κάθε δείγμα και αποθηκεύτηκαν σε συσκευασίες ziplock bags στους -20°C .

Πίνακας 1: Δεδομένα δειγματοληψίας σάρκας ψαριών (μέση τιμή \pm τυπική απόκλιση; n = αριθμός δειγμάτων).

	Είδος (κοινή ονομασία)	Είδος (επιστημονική ονομασία)	n	Ημ/νια δειγματοληψίας	Ολικό μήκος (mm)	Ολικό Βάρος (gr)	Υγρασία (%)
1	Φρίσσα	S. aurita	5	21/8/2023	171 ± 8	37 ± 4	61 ± 2

2			5	20/9/2023	167 ± 8	37 ± 4	54 ± 2
3			5	5/10/2023	191 ± 12	56 ± 12	64 ± 2
4	Γόπα	<i>B. boops</i>	5	21/8/2023	201 ± 20	87 ± 28	61 ± 1
5			5	20/9/2023	159 ± 5	41 ± 5	61 ± 2
6			5	5/10/2023	165 ± 10	46 ± 7	63 ± 2
7	Σαφρίδι	<i>T. mediterraneus</i>	5	21/8/2023	203 ± 19	71 ± 31	64 ± 4
8			5	20/9/2023	205 ± 12	76 ± 11	59 ± 1
9			5	5/10/2023	175 ± 5	50 ± 4	62 ± 2

Σε όλα τα ψάρια αφαιρέθηκε η υγρασία με χρήση λυοφιλιωτή (freeze dryer) σε θερμοκρασία έως -50°C υπό κενό για 2 ημέρες. Έπειτα αποθηκεύτηκαν σε ξηρό περιβάλλον.

Στην συνέχεια στα δείγματα πραγματοποιήθηκε όξινη χώνευση με μικροκύματα που είναι κατάλληλη για δείγματα που περιέχουν πυριτικές και οργανικές μήτρες.

Σε δοχεία από Teflon τοποθετήθηκαν $0,251 \pm 0,002$ g δείγματος και προστέθηκαν 5 ml πυκνού HNO_3 . Αρχικά, πραγματοποιήθηκε προ-χώνευση. Τα δοχεία τοποθετήθηκαν σε αμμόλουτρο για μία ώρα σε θερμοκρασία περίπου 120°C . Έπειτα προστέθηκαν 2ml H_2O_2 , τα δοχεία σφραγίσθηκαν και μεταφέρθηκαν σε κλειστό σύστημα μικροκυμάτων υψηλής πίεσης (3000, Anton Paar, Austria) όπου χωνεύτηκαν για 75min σε θερμοκρασία που κυμάνθηκε από 147°C έως 189°C . Μετά τη χώνευση τα δοχεία αφέθηκαν να ψυχθούν σε θερμοκρασία δωματίου για μερικά λεπτά και έγινε αραιώση των δειγμάτων με υπερκάθαρο νερό σε ογκομετρικές φιάλες των 50ml. Τα δείγματα αποθηκεύτηκαν σε φιαλίδια πολυπροπυλενίου στους 4°C .



Εικόνα 13: Εξωτερική όψη κλειστού συστήματος μικροκυμάτων¹⁴



Εικόνα 14: Δοχεία Teflon στα οποία πραγματοποιήθηκαν οι όξινες χωνεύσεις¹⁵

Σε κάθε δείγμα και πρότυπο αναφοράς προστέθηκε εσωτερικό πρότυπο που περιείχε Ίνδιο (In) και Βισμούθιο (Bi) σε συγκεντρώσεις 10 ppb. Το όργανο βαθμονομήθηκε χρησιμοποιώντας καμπύλη αναφοράς έξι σημείων που προετοιμάστηκε με αραιώση πιστοποιημένων πρωτογενών προτύπων διαλυμάτων σε 2% διάλυμα HNO_3 υψηλής καθαρότητας. Μετά από κάθε 10 δείγματα αναλυόταν ένα πρότυπο. Οι συγκεντρώσεις των μετάλλων και των στοιχείων εκφράστηκαν σε υγρό βάρος. Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν για τη χώνευση, τα τυφλά δείγματα και τα πρότυπα της καμπύλης βαθμονόμησης ήταν αναλυτικού βαθμού. Όλα τα εργαστηριακά σκεύη που χρησιμοποιήθηκαν είχαν προηγουμένως παραμείνει σε 10% HNO_3 για 48 ώρες.

Ένα τυφλό δείγμα και ένα δείγμα που περιείχε ένα διεθνές πιστοποιημένο υλικό αναφοράς (Certified Reference Material- CRM) χωνεύονταν μαζί με κάθε 6 δείγματα για τον έλεγχο της ποιότητας των δεδομένων. Τα CRMs που χρησιμοποιήθηκαν ήταν το DORM-4 (πρωτεΐνη ψαριού), το LUTS-1 (ηπατοπάγκρεας αστακού) πιστοποιημένα από το Εθνικό Συμβούλιο Έρευνας του Καναδά (National Research Council of Canada).

4.2.Προσδιορισμός Μαγγανίου στα δείγματα ροφημάτων και αφεψημάτων

Οι συγκεντρώσεις των δειγμάτων σύμφωνα με βιβλιογραφικά δεδομένα κυμαίνονταν από 20 έως 56 ppb ,επομένως για την δημιουργία πρότυπης καμπύλης παρασκευάστηκαν standards Μαγγανίου με συγκεντρώσεις 10, 20, 40 και 80 ppb. Για τον προσδιορισμό των συγκεντρώσεων μαγγανίου στα δείγματα τσαγιού και χαμομηλιού, πραγματοποιήθηκε εκχύλιση χρησιμοποιώντας βραστό νερό. Συγκεκριμένα, τα δείγματα(2 gr μαύρου και πράσινου τσάι και 1,5gr χαμομηλιού) εκχυλίστηκαν σε 250 ml βραστού νερού(100°C) για 3 λεπτά. Η παρασκευή του καφέ φίλτρου έγινε με διάλυση 17gr καφέ σε 250ml βραστού νερού και ανάδευση. Τα διαλύματα φιλτραρίστηκαν για απομάκρυνση τυχόν αδιάλυτου ιζήματος. Ο καφές espresso(6gr η κάψουλα) παρασκευάστηκε σε τελικό όγκο 50ml. Τέλος, στο δείγμα κρασιού εφόσον βρισκόταν ήδη σε υγρή μορφή υπολογίστηκε η αναλογία 1ml κρασιού σε γραμμάρια έτσι ώστε ο τελικός όγκος όλων των δειγμάτων να είναι ο ίδιος . Σε όλα τα δείγματα πραγματοποιήθηκε έπειτα αραιώση σε τελικό όγκο 10ml λαμβάνοντας ανάλογες ποσότητες από κάθε δείγμα έτσι ώστε οι συγκεντρώσεις μαγγανίου να βρίσκονται στα επιθυμητά όρια της καμπύλης βαθμονόμησης.

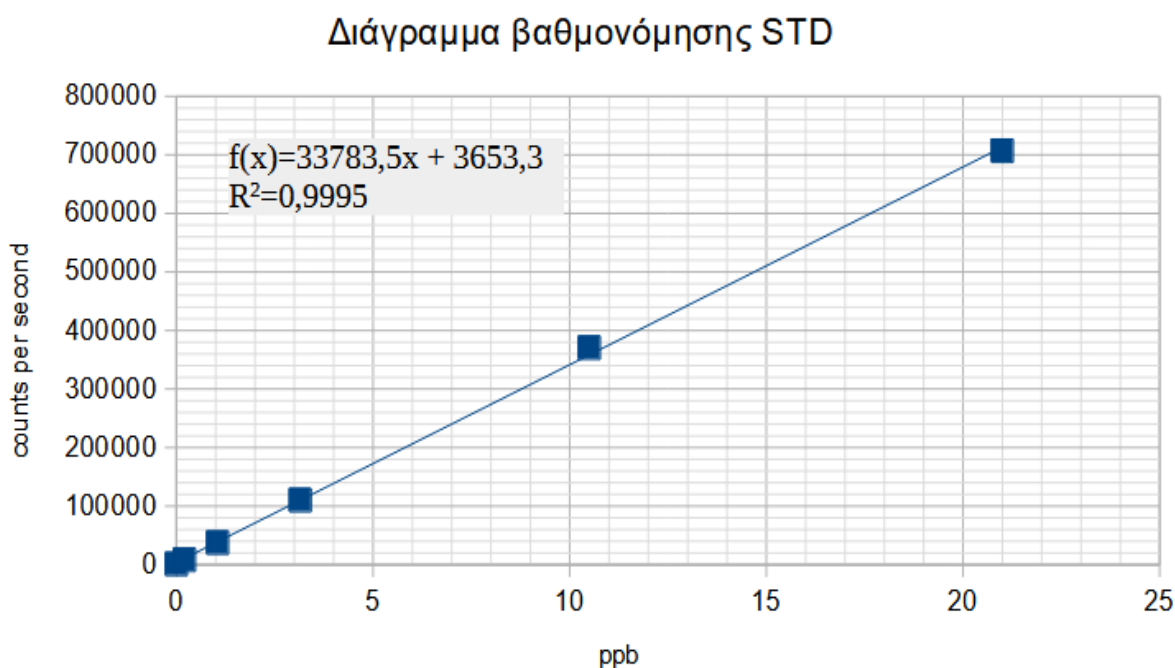
Στα δείγματα έγινε οξίνιση με προσθήκη 0,2ml HNO₃ 100% προκειμένου να προκύψει τελικό διάλυμα δείγματος σε HNO₃ 2%. Επιπλέον, οι αραιώσεις των standards που χρησιμοποιήθηκαν για την πρότυπη καμπύλη ήταν και αυτές με τη σειρά τους σε HNO₃ 2%. Ως εσωτερικό πρότυπο χρησιμοποιήθηκε το Ίνδιο (In) σε συγκέντρωση στα τελικά διαλύματα ίση με 5 ppb.

Πίνακας 2: Συγκεντρωτικός πίνακας δεδομένων υγρών δειγμάτων

	Είδος	Βιβλιογραφική τιμή συγκέντρωσης (mg Mn/100 gr)	Βάρος δείγματος (gr)	Αρχικός όγκος διαλύματος (ml)	Όγκος δείγματος που αραιώθηκε σε τελικό όγκο 10 ml (μl)
1	Χαμομήλι	11	1.5	250	500
2	Πράσινο τσάι	23	2	250	200
3	Μαύρο τσάι	25	2	250	200
4	Καφές espresso	1	6	50	100
5	Καφές φίλτρου	0,78	17	250	100
6	Ερυθρό Κρασί Ξηρό	0,16	-	-	400

5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Πριν την ανάλυση των δειγμάτων ψαριών προηγήθηκε κατασκευή καμπύλης με πρότυπα δείγματα για να διασφαλιστεί η ακρίβεια και η αξιοπιστία των μετρήσεων. Οι συγκεντρώσεις των προτύπων που χρησιμοποιήθηκαν είναι 0,21, 1,05, 3,15, 10,5 και 21 ppb μαγγανίου.



Εικόνα 15: Διάγραμμα βαθμονόμησης STD Μαγγανίου

Από την τιμή του R^2 παρατηρείται σχεδόν άριστη γραμμικότητα μεταξύ των σημείων των προτύπων επομένως ακολούθησε η ανάλυση των δειγμάτων.

Πίνακας 3: Συγκεντρωτικός πίνακας για τα δείγματα σαφριδιών όπου στην τελευταία στήλη αναγράφεται η συγκέντρωση μαγγανίου ανά κιλό υγρού βάρους του κάθε ψαριού (Wet Weight), στο βάρος δηλαδή συμπεριλαμβανομένης της υγρασίας του κάθε ψαριού. Οι συντομογραφίες EP(Edible part) και STCON(stomach content) αναφέρονται στο κομμάτι ψαριού που αναλύθηκε σε κάθε δείγμα.

Ημερομηνία	Κωδικός δείγματος	Ταυτότητα δείγματος	Μέρος ψαριού	Βάρος (gr)	Υγρασία	Mn (ppb)	μg(Mn)/kg(WW)
21/8/2023	1.2	T.mediterraneus	EP	0,2693	59,66	1,030	231,3
	1.3	T.mediterraneus	EP	0,2515	63,26	1,434	314,2
	1.4	T.mediterraneus	EP	0,2561	61,57	0,9438	212,4
	1.5	T.mediterraneus	EP	0,2537	69,28	1,100	199,8
	1.6	T.mediterraneus	EP	0,2531	65,15	0,8052	166,3
	1.7	T.mediterraneus	STCON	0,2547	32,71	87,25	34575
20/9/2023	2.2	T.mediterraneus	EP	0,2534	58,56	1,152	282,5
	2.3	T.mediterraneus	EP	0,2629	58,57	1,254	296,4
	2.4	T.mediterraneus	EP	0,2584	60,28	1,283	295,7
	2.5	T.mediterraneus	EP	0,2552	59,01	1,839	443,0
	2.6	T.mediterraneus	EP	0,2591	58,79	1,769	422,0
	2.7	T.mediterraneus	STCON	0,2686	54,62	113,6	28791
5/10/2023	3.2	T.mediterraneus	EP	0,2579	62,05	1,120	264,8
	3.3	T.mediterraneus	EP	0,2499	62,8	1,423	317,8
	3.4	T.mediterraneus	EP	0,2613	63,83	1,434	297,8
	3.5	T.mediterraneus	EP	0,2577	57,56	0,8488	209,7
	3.6	T.mediterraneus	EP	0,2588	61,72	0,6647	147,5
	3.7	T.mediterraneus	STCON	0,2641	66,89	17,94	3373

Η στήλη με τις τιμές σε ppb μαγγανίου προέκυψε από την εφαρμογή της εξίσωσης της καμπύλης βαθμονόμησης χρησιμοποιώντας τις αντίστοιχες τιμές σήματος σε counts per second για κάθε δείγμα. Οι πολύ υψηλές συγκριτικά συγκεντρώσεις στα δείγματα με sample id 1.7, 2.7 και 3.7 οφείλονται στο γεγονός ότι προέρχονται από ανάλυση στομαχικού περιεχομένου των ψαριών και όχι του βρώσιμου μέρους από κάθε ψάρι (δέρμα, σάρκα και οστά) όπως είναι στα υπόλοιπα. Στα δείγματα γοπών και φρισσών δεν πραγματοποιήθηκε ανάλυση στομαχικού περιεχομένου.

Πίνακας 4: Συγκεντρωτικός πίνακας για τα δείγματα γοπών.

Ημερομηνία	Κωδικός δείγματος	Ταυτότητα δείγματος	Βάρος (gr)	Υγρασία	Mn (ppb)	μg(Mn)/kg(WW)
21/8/2023	4.2	B.boops	0,2630	59,29	1,411	327,6
	4.3	B.boops	0,2619	60,79	0,9627	216,2

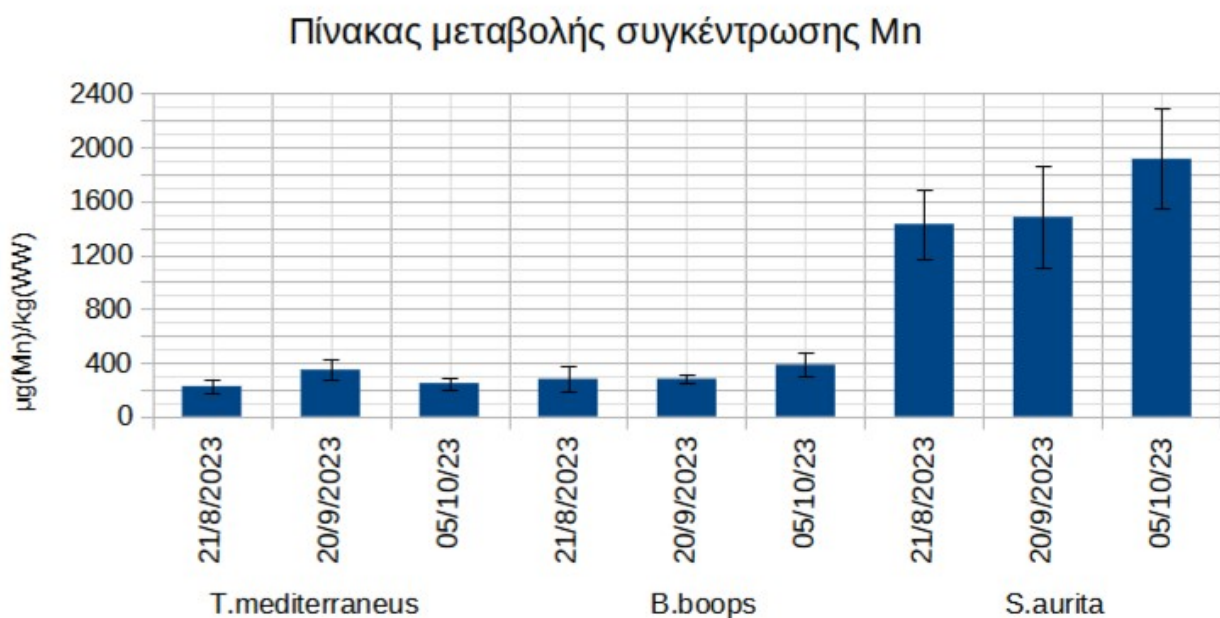
	4.4	B.boops	0,2598	59,49	0,7977	186,6
	4.5	B.boops	0,2568	62,46	1,943	426,0
	4.6	B.boops	0,2603	61,47	1,076	238,9
20/9/2023	4.7	B.boops	0,2646	62,67	1,271	269,0
	5.2	B.boops	0,2614	61,15	1,312	293,9
	5.3	B.boops	0,2488	58,88	1,308	324,3
	5.4	B.boops	0,2565	60,25	1,211	281,6
	5.5	B.boops	0,2629	62,84	1,097	232,5
5/10/2023	5.6	B.boops	0,2493	64,50	1,115	238,2
	5.7	B.boops	0,2563	60,40	0,9646	223,6
	6.2	B.boops	0,2531	62,02	2,605	586,3
	6.3	B.boops	0,2540	63,86	1,967	420,4
	6.4	B.boops	0,2675	63,19	2,194	453,0

Πίνακας 5: Συγκεντρωτικός πίνακας για τα δείγματα φρισσών.

Ημερομηνία	Κωδικός δείγματος	Ταυτότητα δείγματος	Βάρος (gr)	Υγρασία	Mn (ppb)	μg(Mn)/kg(WW)
21/8/2023	6.5	S. aurita	0,2500	58,48	5,753	1429,8
	6.6	S. aurita	0,2531	63,18	5,502	1200,6
	6.7	S. aurita	0,2599	61,68	8,454	1869,6
	7.2	S. aurita	0,2552	63,42	6,438	1384,2
	7.3	S. aurita	0,2596	58,25	5,266	1270,4
20/9/2023	7.4	S. aurita	0,2552	51,48	6,650	1896,6
	7.5	S. aurita	0,2622	54,42	4,646	1211,3
	7.6	S. aurita	0,2562	51,99	4,559	1281,4
	7.7	S. aurita	0,2547	55,80	4,393	1143,6
	8.2	S. aurita	0,2650	55,37	7,454	1883,2
	8.3	S. aurita	0,2532	62,54	8,511	1888,8

5/10/2023	8.4	S. aurita	0,2543	62,36	7,654	1699,4
	8.5	S. aurita	0,2517	67,98	9,016	1720,5
	8.6	S. aurita	0,2581	62,52	11,78	2566,8
	8.7	S. aurita	0,2640	62,69	8,038	1704,1

Στην συνέχεια υπολογίστηκε ο μέσος όρος των συγκεντρώσεων μαγγανίου μόνο για το βρώσιμο μέρος για κάθε είδος ψαριού και για κάθε ημερομηνία δειγματοληψίας καθώς και η τυπική απόκλιση. Αυτό είχε ως στόχο την προσπάθεια διαγραμματικής απεικόνισης τυχόν αποκλίσεων στις συγκεντρώσεις μαγγανίου σε σχέση με την χρονική περίοδο αλίευσης έτσι ώστε να γίνει σαφές αν οι πλημμύρες είχαν κάποια ουσιαστική επίδραση σε αυτές.



Εικόνα 16: Γραφικές παραστάσεις των συγκεντρώσεων Mn στο βρώσιμο μέρος των ψαριών που αναλύθηκαν. Επίσης δίνονται οι τυπικές αποκλίσεις των μετρήσεων.

Από το παραπάνω διάγραμμα δεν είναι σαφής η ύπαρξη σημαντικής μεταβολής των συγκεντρώσεων μαγγανίου ως προς την ημερομηνία δειγματοληψίας, επομένως πραγματοποιήθηκε στατιστική ανάλυση για περαιτέρω διερεύνηση πιθανών διαφορών.

Στατιστικά σημαντικά διαφορές βρέθηκαν μόνο για τα δείγματα σαφριδίων που αλιεύτηκαν στις 21/8/2023 και στις 20/9/2023 και η ανάλυση που πραγματοποιήθηκε για να ληφθεί αυτό το αποτέλεσμα είναι η ακόλουθη. Αρχικά πραγματοποιήθηκε το Shapiro–Wilk Test που χρησιμοποιήθηκε για να εξεταστεί αν οι συγκεντρώσεις μαγγανίου ακολουθούν κανονική κατανομή. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι δεδομένες συγκεντρώσεις μαγγανίου για κάθε ημερομηνία δειγματοληψίας ακολουθούν την υπόθεση της κανονικής κατανομής ($p > 0,05$) όπως φαίνεται και στον [Πίνακα 6](#). Έπειτα διεξάχθηκε το Levene’s test για να ελεγχθεί η ομοιογένεια των διασπορών στις συγκεντρώσεις μαγγανίου μεταξύ των τριών ημερομηνιών όπου και τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι διασπορές είναι σχεδόν ίσες ($p > 0,05$). Μετά την επιβεβαίωση της κανονικής κατανομής και της ομοιογένειας των διασπορών, εφαρμόστηκε το Tukey’s test για να εντοπιστούν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συγκεντρώσεων μαγγανίου συγκρίνοντας την διαφορά των μέσων τιμών ανά ζεύγος ημερομηνιών δειγματοληψίας. Το Tukey’s test έδειξε ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στις συγκεντρώσεις μαγγανίου μεταξύ των δύο αυτών συγκεκριμένων ημερομηνιών δειγματοληψίας που αναφέρθηκαν παραπάνω αφού η τιμή του $p < 0,05$ ([Πίνακας 7](#)). Αυτό σημαίνει ότι οι συγκεντρώσεις μαγγανίου στα σαφρίδια που αλιεύτηκαν 21/8/2023 και 20/9/2023 διαφέρουν σημαντικά, ενώ αυτά που αλιεύτηκαν στις 5/10/2023 δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντική διαφορά σε σύγκριση με τα δείγματα σαφριδίων των άλλων δύο ημερομηνιών δειγματοληψίας.

Πίνακας 6: Τιμές του Shapiro–Wilk Test καθώς και το p-value για την αξιολόγηση της κανονικότητας των συγκεντρώσεων μαγγανίου.

<u>T.mediterraneus</u>			
Ημερομηνία	21/8/2023	20/9/2023	5/10/2023
Τιμές	5	5	5
Μέσος όρος	224,807	347,935	247,506
Τυπική απόκλιση	55,293	77,781	69,295
Shapiro-Wilk	0,917	0,777	0,941
P-value του Shapiro-Wilk	0,510	0,052	0,676

Πίνακας 7: Τιμές του p από το Tukey's test που συγκρίνει τις συγκεντρώσεις μαγγανίου μεταξύ των ψαριών. Οι τιμές p υποδεικνύουν τη σημαντικότητα των διαφορών μεταξύ κάθε ζεύγους. Τιμή p-value μικρότερη από 0,05 υποδηλώνει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των αντίστοιχων ημερομηνιών.

<u>T.mediterraneus</u>		
Σύγκριση	Απόκλιση μέσου όρου	P-value Tukey
21/8/2023-20/9/2023	-123,128	0,036
21/8/2023-5/10/2023	-22,698	0,860
20/9/2023-5/10/2023	100,429	0,089

Πίνακας 8: Ποσοστιαία κάλυψη ημερήσιων αναγκών σε μαγγάνιο από την κατανάλωση των δειγμάτων ψαριών ανά ημερομηνία δειγματοληψίας στην συνιστώμενη ποσότητα ανά μερίδα(150gr).

1	Είδος	Ημερομηνία δειγματοληψίας	Πειραματική τιμή συγκέντρωσης (mg Mn / Kg)	Κάλυψη απαιτούμενης ημερήσιας πρόσληψης για άνδρες (%)	Κάλυψη απαιτούμενης ημερήσιας πρόσληψης για γυναίκες (%)
2	Σαφρίδι	21/8/2023	0,225	1,47	1,88
		20/9/2023	0,348	2,39	3,06
		5/10/2023	0,248	1,62	2,07
3	Γόπα	21/8/2023	0,296	1,93	2,47
		20/9/2023	0,298	1,94	2,48
		5/10/2023	0,402	2,62	3,35
4	Φρίσσα	21/8/2023	1,45	9,46	12,1
		20/9/2023	1,50	9,78	12,5
		5/10/2023	1,93	12,6	16,1

Για τον υπολογισμό του ποσοστού κάλυψης της απαιτούμενης ημερήσιας πρόσληψης (Daily Value) χρησιμοποιήθηκε ο τύπος:

$$DV(\%) = \frac{\text{Ποσότητα Μαγγανίου ανά μερίδα}}{\text{απαιτούμενη ημερήσια ποσότητα πρόσληψης}} \times 100$$

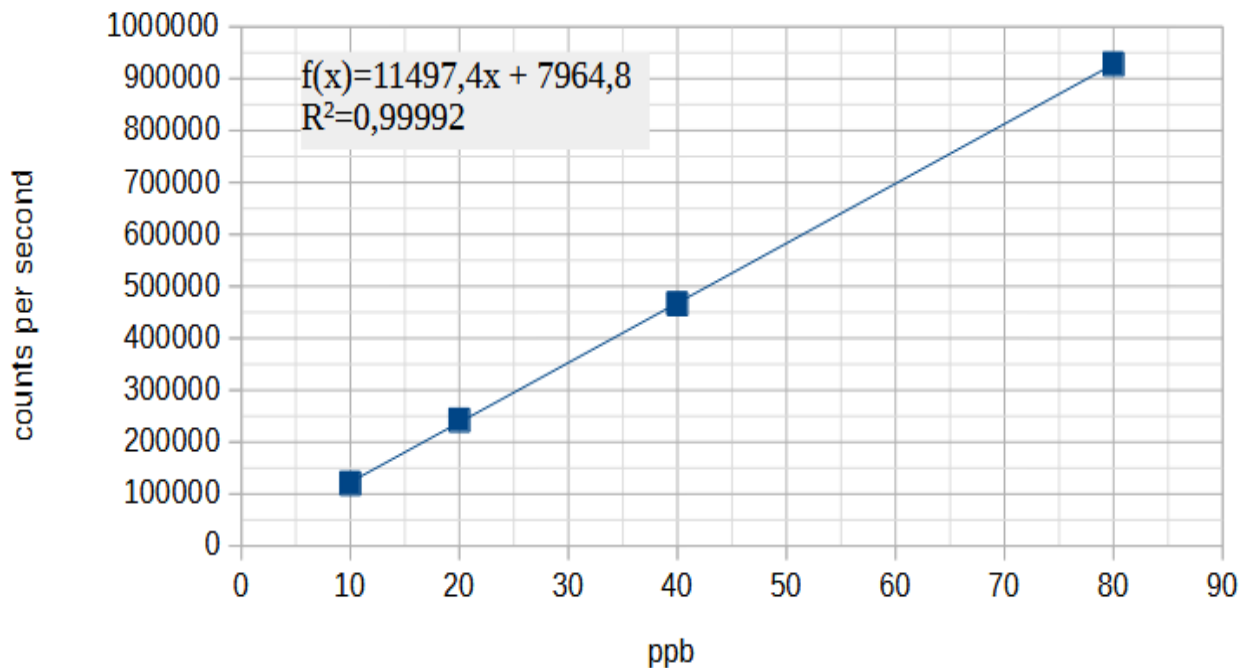
Ροφήματα και αφεψημάτα

Πίνακας 8: Επαρκή επίπεδα πρόσληψης (AI) και ανώτερα ανεκτά επίπεδα πρόσληψης (UL) για το μαγγάνιο με βάση την ηλικία σύμφωνα με το Εθνικό Ινστιτούτο Υγείας (NIH) των Ηνωμένων Πολιτειών¹⁸

Ηλικία	Συνιστώμενη Ημερήσια Ποσότητα (mg)	Ανώτερα ανεκτά επίπεδα ημερίσιας πρόσληψης (mg)
Έως 6 μηνών	0,003	Δεν έχει καθιερωθεί
7-12 μηνών	0,6	Δεν έχει καθιερωθεί
1-3 χρονών	1,2	2,0
4-8 χρονών	1,5	3,0
9-13 χρονών αγόρια	1,9	6,0
9-13 χρονών κορίτσια	1,6	6,0
14-18 χρονών αγόρια	2,2	9,0
14-18 χρονών κορίτσια	1,6	9,0
Ενήλικες άνδρες	2,3	11,0
Ενήλικες γυναίκες	1,8	11,0
Εγκύους	2,0	9,0
Γυναίκες που θηλάζουν	2,6	11,0

Σύμφωνα με την προηγούμενη ενότητα, εξετάστηκαν δείγματα ροφημάτων και αφεψημάτων, στα οποία υπάρχουν βιβλιογραφικές τιμές για το περιεχόμενο τους σε Μαγγάνιο(Mn). Οι συγκεντρώσεις των δειγμάτων κυμαίνονταν από 20 έως 56 ppb , επομένως για την δημιουργία πρότυπης καμπύλης παρασκευάστηκαν standards Μαγγανίου με συγκεντρώσεις 10, 20, 40 και 80 ppb.

Διάγραμμα βαθμονόμησης STD



Εικόνα 17: Διάγραμμα βαθμονόμησης STD Μαγγανίου

Από την τιμή του R^2 παρατηρείται σχεδόν άριστη γραμμικότητα μεταξύ των σημείων των προτύπων επομένως ακολούθησε η ανάλυση των δειγμάτων.

Πίνακας 9: Αποτελέσματα αναλύσεων υγρών δειγμάτων.

	Είδος	Πειραματική τιμή συγκέντρωσης σε ppb	Πειραματική τιμή συγκέντρωσης (mg Mn / 100g)	Βιβλιογραφική τιμή συγκέντρωσης (mg Mn/100gr) ^{16,17}	Απόκλιση πειραματικής και βιβλιογραφικής τιμής (%)
1	Χαμομήλι	6,89	2,30	11	-378,26
2	Πράσινο τσάι	26,91	16,88	23	-36,26
3	Μαύρο τσάι	50,36	31,48	25	20,63
4	Καφές espresso	2,57	0,21	1	-376,19
5	Καφές φίλτρου	5,58	0,81	0,78	3,70

6	Ερυθρό Κρασί Ξηρό	27,1	0,08	0,16	-50
---	-------------------	------	------	------	-----

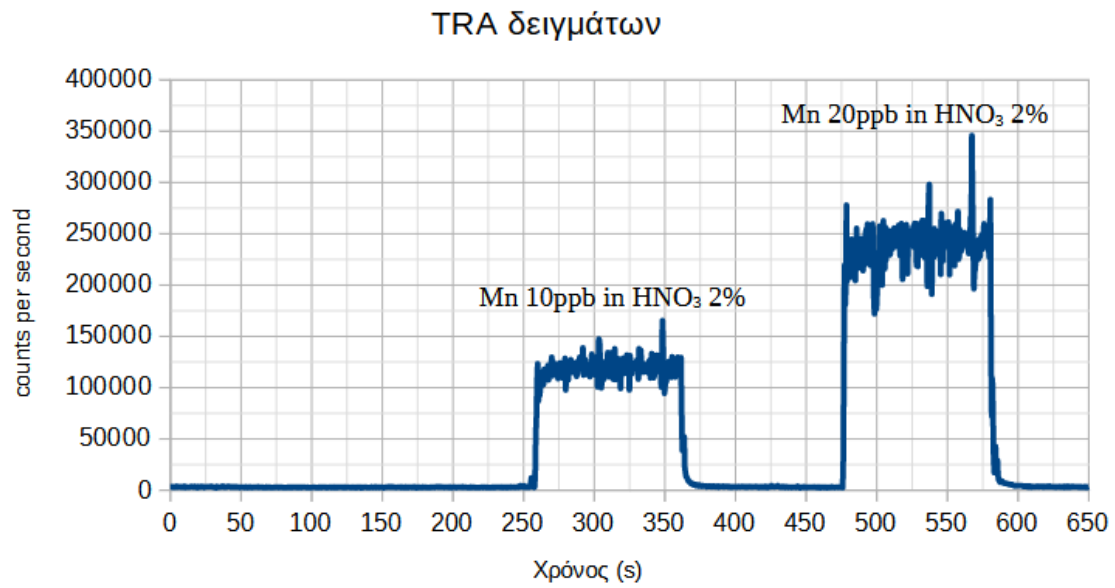
Οι τιμές συγκεντρώσεων του κάθε δείγματος μετατράπηκαν από ppb σε mg/100g ακολουθώντας μια αντίστροφη διαδικασία υπολογισμών. Αρχικά, χρησιμοποιήθηκαν τα δεδομένα της αρχικής ποσότητας δείγματος που λήφθηκε και των διαδοχικών αραιώσεων που πραγματοποιήθηκαν. Τέλος, οι συγκεντρώσεις αναπροσαρμόστηκαν για να αντανακλούν την ποσότητα ανά 100g δείγματος.

Πίνακας 10: Ποσοστιαία κάλυψη ημερήσιων αναγκών σε μαγγάνιο από την κατανάλωση των υγρών δειγμάτων στην συνιστώμενη ποσότητα.

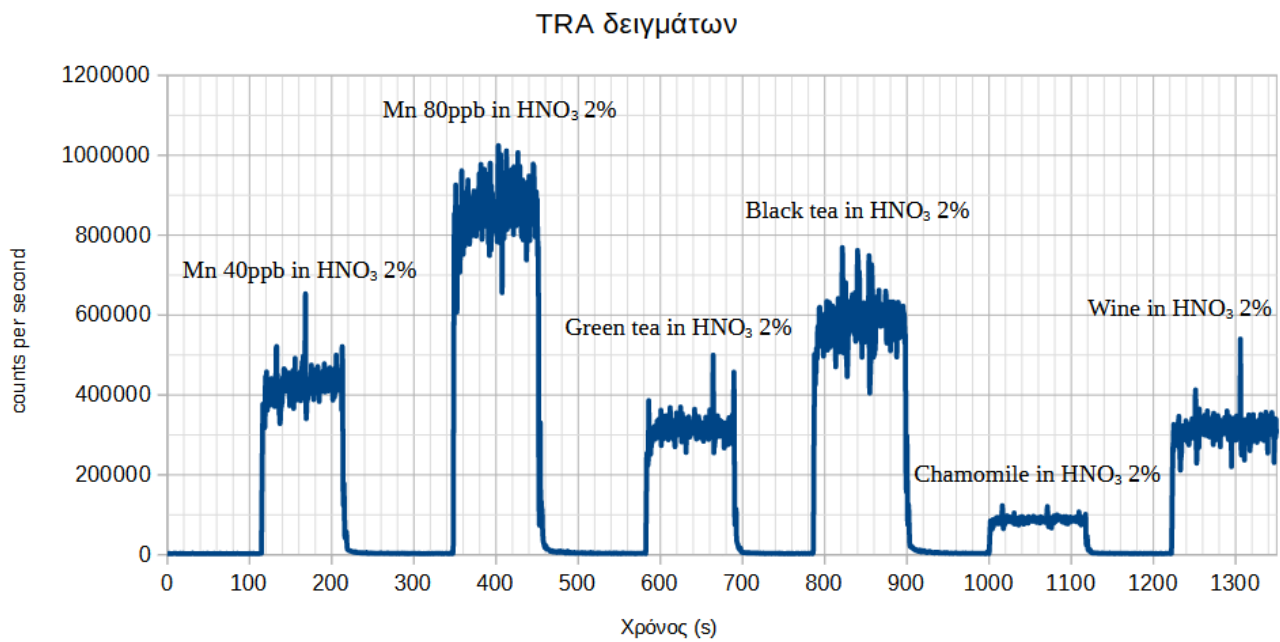
	Είδος	Πειραματική τιμή συγκέντρωσης (mg Mn / 100g)	Κάλυψη απαιτούμενης ημερήσιας πρόσληψης για άνδρες (%)	Κάλυψη απαιτούμενης ημερήσιας πρόσληψης για γυναίκες (%)
1	Χαμομήλι	2,30	1,5	1,9
2	Πράσινο τσάι	16,88	14,7	18,8
3	Μαύρο τσάι	31,48	27,4	35,0
4	Καφές espresso	0,21	0,5	0,7
5	Καφές φίλτρου	0,81	6,0	7,65
6	Ερυθρό Κρασί Ξηρό	0,08	4,6	5,9

Όπως παρατηρείται από τον [Πίνακα 9](#) υπάρχουν μεγάλες αποκλίσεις στα περισσότερα δείγματα το οποίο μπορεί να οφείλεται σε πολλούς παράγοντες. Για το κρασί η περιεκτικότητα σε μαγγάνιο επηρεάζεται έντονα από την ποικιλία σταφυλιών, την σύσταση του εδάφους και τη γεωγραφική περιοχή. Οι γεωργικές πρακτικές, συμπεριλαμβανομένης της χρήσης λιπασμάτων και φυτοφαρμάκων, μπορούν επίσης να επηρεάσουν τα επίπεδα μαγγανίου.

Για το χαμομήλι, τα είδη του τσαγιού αλλά και τα είδη καφέ η συγκέντρωση μαγγανίου μπορεί να διαφέρει σημαντικά ανάλογα με τον κατασκευαστή ή τον παραγωγό του προϊόντος. Έτσι, μεταβάλλονται παράγοντες όπως η περιοχή καλλιέργειας με αποτέλεσμα να αλλάζει και η σύσταση του εδάφους, οι γεωργικές πρακτικές και το συγκεκριμένο μέρος του φυτού που χρησιμοποιείται (φύλλα ή άνθη).

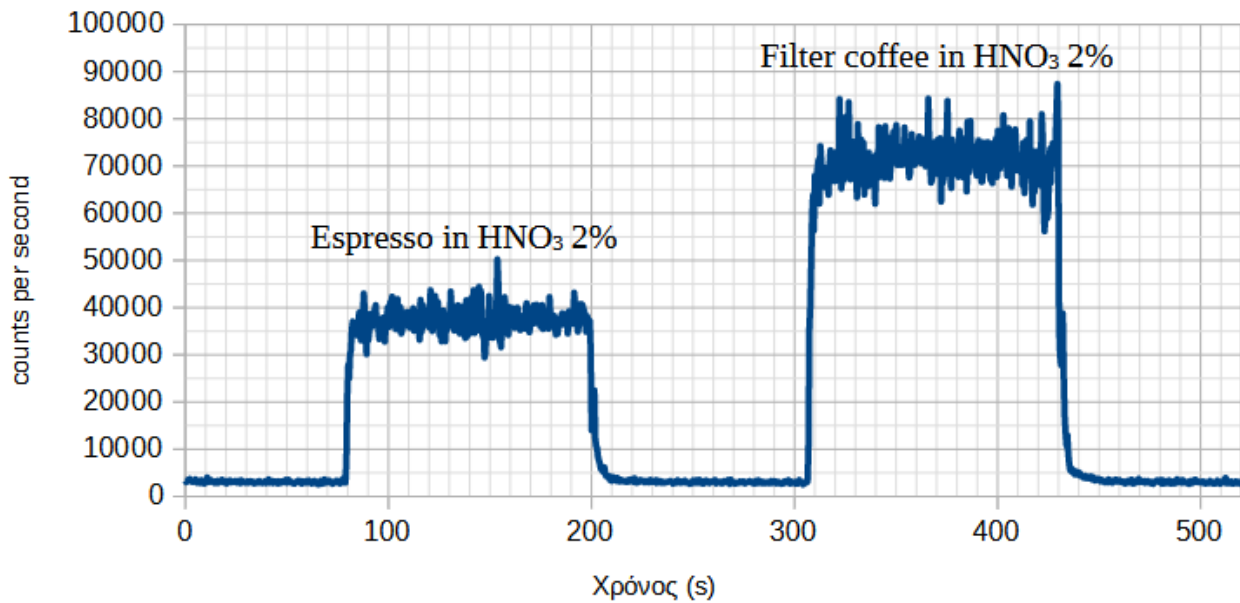


Εικόνα 18: TRA standard δειγμάτων σε HNO₃ 2%



Εικόνα 19: TRA standard και δειγμάτων σε HNO₃ 2%

TRA δειγμάτων



Εικόνα 20: TRA υπόλοιπων δειγμάτων σε HNO₃ 2%

6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Συνολικά, τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης παρέχουν χρήσιμες πληροφορίες για τα επίπεδα μαγγανίου στα τρόφιμα. Η ανάλυση των δειγμάτων σαφριδίων, γοπών και φρισσών έδειξε την ύπαρξη χαμηλών, σχετικά με την απαιτούμενη ημερήσια ποσότητα πρόσληψης, αλλά υπολογίσιμων ποσοτήτων μαγγανίου καθώς και την αδυναμία κάποιας στατιστικά σημαντικής συσχέτισης των πλημμύρων με κάποια αυξομείωση στις συγκεντρώσεις μαγγανίου τους. Ωστόσο, τονίζεται η ανάγκη για συνεχή παρακολούθηση και έρευνα στον τομέα αυτό, διασφαλίζοντας την ασφάλεια και την υγεία των καταναλωτών. Η μελέτη των υγρών δειγμάτων αποκάλυψε ότι τα ροφήματα πράσινου και μαύρου τσαγιού, καθώς και ο καφές φίλτρου, περιέχουν σημαντικές ποσότητες μαγγανίου. Αυτό σημαίνει ότι η καθημερινή κατανάλωση αυτών των ροφημάτων μπορεί να συμβάλλει στην κάλυψη των αναγκαίων ποσοτήτων μαγγανίου για τον ανθρώπινο οργανισμό.

Για την καλύτερη κάλυψη των ημερήσιων αναγκών σε μαγγάνιο, μπορεί να συνιστάται η ενσωμάτωση αυτών των τροφών και ποτών στην καθημερινή διατροφή, πάντα με γνώμονα τις συνολικές διατροφικές ανάγκες και τις προτιμήσεις του κάθε ανθρώπου.

7.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1.Sun Z, Shao Y, Yan K, Yao T, Liu L, Sun F, Wu J, Huang Y.“*The Link between Trace Metal Elements and Glucose Metabolism: Evidence from Zinc, Copper, Iron, and Manganese-Mediated Metabolic Regulation*”(2023)

2.Smith SM, Zwart SR, Block G,“*The role of manganese in bone metabolism*”(2012)

3.Keen CL, Ensunsa JL, Watson MH,.“*Nutritional aspects of manganese homeostasis*”(2014)

4.Horning KJ, Caito SW, Tipps KG, Bowman AB, Aschner M.“*Manganese Is Essential for Neuronal Health*”(2015)

5.Eshak ES, Muraki I, Imano H, Yamagishi K, Tamakoshi A, Iso H. “*Manganese intake from foods and beverages is associated with a reduced risk of type 2 diabetes*”(2021)

6.J W Finley, C D Davis.“*Manganese deficiency and toxicity: are high or low dietary amounts of manganese cause for concern?*”(1999)

7.Maas EV, Moore DP, Mason BJ.“*Influence of calcium and magnesium on manganese absorption*”(1970)

8.Hunt JR. “*Bioavailability of iron, zinc, and other trace minerals from vegetarian diets*”(2003)

9.Institute of Medicine (US) Panel on Micronutrients.“*Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc*”(2001)

- 10.Karakosta C, Baltas H, Loukou Z, Sofoniou M, Kouras A. *“Manganese in drinking water and human health”*(2016)
- 11.Tsiamourou I. *“Development and application of mass spectrometry analytical techniques for the quantitative determination of selenium and selenium species in food products”*(2008)
- 12.Kolimenou ME. *“Development of a method for the determination of various forms of Mn in drinking water using inductively coupled plasma mass spectrometry”*(2020)
- 13.Thermo Fisher Scientific, *“ICP-MS Systems and Technologies”*(Accessed 2024)
- 14.LabX. *“Anton Paar Multiwave 3000Microwave Digestion Oven”*(Accessed 2024)
- 15.Anton Paar. *“Rotor 8NXF100”*(Accessed 2024)
- 16.National Institutes of Health, Office of Dietary Supplements. *“Manganese: Fact Sheet for Health Professionals”*(2021)
- 17.Bettmer J, Heitland P, Köster HD. *“Determination of trace elements in food and beverages by ICP-MS and microwave digestion”*(1999)