

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ & ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ**

**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΑΣ & ΕΓΚΛΗΜΑΤΟΛΟΓΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ
ΤΟΜΕΑΣ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑΣ, ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**



ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΚΑΙ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΗΣ ΕΠΙΒΑΡΥΝΣΗΣ
ΜΗΤΕΡΑΣ-ΝΕΟΓΝΟΥ ΣΕ ΟΥΣΙΕΣ ΜΕ ΠΙΘΑΝΗ
ΕΝΔΟΚΡΙΝΙΚΗ ΔΡΑΣΗ**

ΤΣΑΓΓΑΡΙΔΟΥ ΣΤΕΦΑΝΗ

ΥΠΕΥΘΥΝΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

ΑΠΟΣΤΟΛΟΣ Κ. ΡΙΖΟΣ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

ΕΜΜΑΝΟΥΗΛ ΤΖΑΤΖΑΡΑΚΗΣ

ΗΡΑΚΛΕΙΟ, ΚΡΗΤΗ 2021

**UNIVERSITY OF CRETE
SCHOOL OF SCIENCES AND ENGINEERING
DEPARTMENT OF CHEMISTRY**

**LABORATORY OF TOXICOLOGY AND FORENSIC SCIENCES
SCHOOL OF MEDICINE**



GRADUATION THESIS

**INVESTIGATING AND CORRELATING THE MATERNAL-
NEONATAL BURDEN ON SUBSTANCES WITH POSSIBLE
ENDOCRINE ACTIVITY**

TSANGARIDOU STEFANI

SUPERVISOR:

APOSTOLOS K. RIZOS

ADVISOR

MANOLIS N. TZATZARAKIS

HERAKLION, CRETE 2021

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω το Πανεπιστήμιο Κρήτης και ειδικότερα τον κύριο Απόστολο Ρίζο, καθηγητή του τμήματος Χημείας και υπεύθυνο καθηγητή μου, μέσω του οποίου είχα την ευκαιρία να εργαστώ στο πλαίσιο της πτυχιακής μου εργασίας στο Εργαστήριο Τοξικολογίας και Εγκληματολογικής Χημείας του τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Κρήτης.

Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή κύριο Αριστείδη Τσατσάκη, Διευθυντή του Εργαστηρίου Τοξικολογίας και Εγκληματολογικής Χημείας, για την παραχώρηση των χώρων των εργαστηρίων του για τη διεξαγωγή των πειραμάτων μου.

Πάνω από όλα, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Μανώλη Τζατζαράκη, επιβλέπων Καθηγητή, για τις συμβουλές του και τον πολύτιμο χρόνο που αφιέρωσε κατά την διεκπεραίωση των πειραμάτων. Μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στην υποψήφια διδάκτορα Βασιλική Καρζή, η οποία με υπομονή με καθοδήγησε καθ' όλη την διάρκεια της παρούσας μελέτης.

Τέλος, θέλω να ευχαριστήσω την οικογένεια και τους φίλους μου για την υποστήριξη τους.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι ενδοκρινικοί διαταράκτες είναι ουσίες που συναντώνται σε κάθε περιβάλλον στον σύγχρονο κόσμο. Ως ενδοκρινικοί διαταράκτες χαρακτηρίζονται οι εξωγενείς ενώσεις ή μίγματα ενώσεων που μπορούν να προκαλέσουν δυσμενείς επιδράσεις στην υγεία ενός οργανισμού ή στους απογόνους του εξαιτίας μεταβολών που προκαλούν στην ενδοκρινική λειτουργία. Οι ενώσεις αυτές μπορούν να επηρεάσουν τη σύνθεση, έκκριση, μεταφορά, προσκόλληση, δράση, απενεργοποίηση ή εξάλειψη των φυσικών ορμονών στο σώμα. Τα παιδιά και ιδιαίτερα τα νεογέννητα είναι πιο ευαίσθητα στις συγκεκριμένες ουσίες σε σύγκριση με τους ενήλικες. Οι μεταβολικές οδοί είναι ατελείς, ειδικά τους πρώτους μήνες της ζωής. Η ικανότητα του νεογέννητου να μεταβολίζει, να αποτοξινώνει και να αποβάλλει τις ανεπιθύμητες ουσίες είναι διαφορετική από αυτή των ενηλίκων με αποτέλεσμα τα νεογνά να είναι πιο επιρρεπή σε προβλήματα υγείας.

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας ήταν αρχικά η μελέτη και η συσχέτιση των επιπέδων των DDTs, των Parabens, του Triclosan (TCS) και των Bisphenols A και S που ανευρίσκονται τόσο στην τρίχα της μητέρας όσο και του νεογνού. Στη συνέχεια, μελετήθηκαν οι μεταβολές της επιβάρυνσης στα παιδιά ηλικίας 6-12 μηνών.

Συλλέχθηκαν 39 δείγματα τρίχας από μητέρες και 44 από νεογνά. Η δειγματοληψία σε ορισμένα από τα νεογνά λήφθηκε σε δύο φάσεις. Η πρώτη δειγματοληψία λήφθηκε κατά την γέννηση τους, ενώ η δεύτερη έγινε την περίοδο μεταξύ του 6^{ου} και 12^{ου} μήνα της ζωής τους (12 παιδιά). Η τρίχα καταγράφηκε βάση του μήκους, του βάρους και του χρώματος της.

Η επεξεργασία των δειγμάτων έγινε με στερεή-υγρή εκχύλιση με μεθανόλη και η ανάλυση πραγματοποιήθηκε με σύστημα υγρής χρωματογραφίας (liquid chromatography, LC) συζευγμένο με φασματόμετρο μάζας (mass spectrometry, MS) για την περίπτωση των parabens, bisphenols και TCS ουσιών ενώ για τις οργανοχλωριωμένες ουσίες (DDTs, HCB) χρησιμοποιήθηκε σύστημα αέριας χρωματογραφίας (gas chromatography, GC) συζευγμένο με φασματόμετρο μάζας (mass spectrometry, MS).

Η μελέτη των δειγμάτων τριχών κατέδειξε πως μεγαλύτερο ποσοστό θετικότητας παρουσίασαν οι ενώσεις MenPB, ProPB, TCS και ppDDE με ποσοστό 90-100% ενώ το χαμηλότερο το είχαν τα op DDD και ppDDD + op DDT με ποσοστό 0-30%. Οι συγκεντρώσεις των λιπόφιλων ουσιών (TCS, DDE, DDD, DDT, HCB) στα δείγματα τρίχας να είναι αρκετά αυξημένες στα νεογέννητα σε σύγκριση με τα δείγματα μητέρων και παιδιών. Παράλληλα, οι συγκεντρώσεις των parabens βρέθηκαν ιδιαίτερα αυξημένες στα δείγματα τρίχας μητέρων ενώ οι συγκεντρώσεις των bisphenols ήταν μεγαλύτερες στα δείγματα των παιδιών ηλικίας 6-12 μηνών.

ABSTRACT

Endocrine disruptors are substances that can be found everywhere in our daily life making almost impossible the avoidance of contacting with them. Endocrine disruptors are exogenous compounds or mixtures of compounds that can cause adverse effects on the health of an organism or its progeny. These effects are due to changes that are caused in endocrine function. Children, especially new-borns, are more sensitive to these substances than adults because metabolic pathways are incomplete during the first months of life. New-borns' system metabolizes, detoxifies and eliminates unwanted substances in a different way than adults do, resulting in being more vulnerable to health problems.

Current study aimed to evaluate the levels of DDTs, Parabens, Triclosan (TCS) and Bisphenols A, S in both maternal and neonatal hair and examine whether there are any correlations between them. In addition, the changes in the children's' burden aged 6-12 months were also evaluated.

Hair samples were collected from 39 mothers and 44 newborns. Two samples were collected from some of the newborns. The first sampling was obtained immediately after the birth and the second sampling was obtained between the 6th to 12th months of age (12 children). The hair samples were recorded in accordance with their length, weight and colour.

Solid-liquid extraction with methanol was used for samples processing. For the analysis of parabens, bisphenols and TCS liquid chromatography (LC) coupled with mass spectrometry (MS) were utilized. As for organochlorinated substances (DDTs, HCB), a gas chromatography (GC) coupled with mass spectrometry (MS) were used.

Hair sample analysis revealed that MenPB, ProPB, TCS and ppDDE had higher positivity rates 90-100%, than op DDD and ppDDD + op DDT which had lower rates with 0-30%. The burden was evident since the concentrations of lipophilic compounds (TCS, DDE, DDD, DDT, HCB) were increased in newborns samples compared to the samples obtained from the mothers and children. At the same time, parabens concentration levels in mothers' samples were higher while those of bisphenols were higher in children's samples 6th to 12th months of age.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1-29
1.1. Ενδοκρινικοί Διαρράκτες	1
1.2. Παραβένια (Parabens, PBs).	2-5
1.2.1. Σύνθεση και ιδιότητες.	2-3
1.2.2. Πηγές έκθεσης.	3-4
1.2.3. Επιπτώσεις στην υγεία.	4-5
1.2.3.1. Επιπτώσεις στην υγεία του ανθρώπου.	4
1.2.3.2. Επιπτώσεις στην υγεία μητέρας – νεογνού.	5
1.3. Δισφαινόλες (Bisphenols, BPs).	5-9
1.3.1. Σύνθεση και ιδιότητες.	5-6
1.3.1.1. Δισφαινόλη Α (Bisphenol A, BPA).	5
1.3.1.2 Δισφαινόλη S (Bisphenol F, BPF).	6
1.3.2. Πηγές έκθεσης.	7-8
1.3.3. Επιπτώσεις στην υγεία.	8-9
1.3.3.1 Επιπτώσεις στην υγεία του ανθρώπου.	8
1.3.3.2. Επιπτώσεις στην υγεία μητέρας- νεογνού.	9
1.4. Τριχλωριωμένα διπυρηνικά αρωματικά (Τρικλοζάνη).	9-13
1.4.1. Σύνθεση και ιδιότητες.	9-11
1.4.1.1. Τρικλοζάνη (Triclosan, TCS).	9-10
1.4.2. Πηγές έκθεσης.	11-12
1.4.3. Επιπτώσεις στην υγεία.	12-13
1.4.3.1. Επιπτώσεις στην υγεία του ανθρώπου.	12
1.4.3.2. Επιπτώσεις στην υγεία μητέρας- νεογνού.	12-13
1.5. Διχλωρο-διφαινυλο-τριχλωροαιθάνια (dichloro-diphenyl-trichloroethanes, DDTs).	13-21
1.5.1. Σύνθεση και ιδιότητες.	13-17
1.5.1.1. π, π'-Διχλωρο-διφαινυλο-τριχλωροαιθάνιο (p,p'-Dichloro-diphenyl-trichloroethane, DDT).	13-16
1.5.1.2. Διχλωρο-διφαινυλο-διχλωροαιθάνιο(Dichloro-diphenyl-dichloroethane, DDD).	16-17
1.5.1.3.Διχλωρο-διφαινυλο-διχλωροαιθυλένιο (Dichloro-diphenyl-dichloroethylene, DDE).	17
1.5.2. Πηγές έκθεσης.	17-18
1.5.3. Επιπτώσεις στην υγεία.	19-21
1.5.3.1. Επιπτώσεις στην υγεία του ανθρώπου.	19
1.5.3.2. Επιπτώσεις στην υγεία μητέρας- νεογνού.	20-21
1.6. Εξαχλωροβενζόλιο (Hexachlorobenzene, HCB).	21-24
1.6.1. Σύνθεσ και ιδιότητες.	21-22
1.6.2. Πηγές έκθεσης.	22
1.6.3. Επιπτώσεις στην υγεία.	22-24
1.6.3.1. Επιπτώσεις στην υγεία του ανθρώπου.	22-23
1.6.3.2. Επιπτώσεις στην υγεία μητέρας- νεογνού.	23-24
1.7. Τρίχα.	24-25
1.8. Οργανολογία.	26-29

1.8.1. Υγρή Χρωματογραφία.	26-27
1.8.2. Αέρια Χρωματογραφία.	27-28
1.8.3. Φασματομετρία μάζας.	28-29
2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.	30-34
2.1. Σχεδιασμός και υλοποίηση πειράματος.	30-31
2.1.1. Ομάδα μελέτης.	30
2.2. Οργανολογία.	30-31
2.2.1. Υγρή Χρωματογραφία – Φασματομετρία Μάζας.	30
2.2.2. Αέρια Χρωματογραφία – Φασματομετρία Μάζας.	30
2.2.3. Λοιπός εξοπλισμός.	31
2.3. Αντιδραστήρια.	31
2.4. Πειραματική διαδικασία.	32
2.4.1. Παρασκευή πρότυπων διαλυμάτων.	32
2.4.2. Επιμολυσμένα δείγματα τρίχας.	32
2.4.3. Μέθοδος επεξεργασίας δειγμάτων.	32
2.4.4. Ανάλυση δειγμάτων με LC-MS και GS-MS.	32-33
2.4.4.1. Συνθήκες λειτουργίας Υγρού Χρωματογράφου.	32
2.4.4.2. Συνθήκες λειτουργίας Αέριας Χρωματογράφου.	32
2.4.4.3. Συνθήκες λειτουργίας Φασματομέτρου Μάζας.	33
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	34-41
3.1. Γραμμικότητα.	34-38
3.1.1. Γραμμικότητα των μη οργανοχλωριωμένων ενώσεων (PBs, BPs, TCS).	34-39
3.1.2. Γραμμικότητα των οργανοχλωριωμένων ενώσεων (DDTs).	37-38
3.2. Αναλυτικοί παράμετροι.	39
3.3. Επίπεδα ενδοκρινικών διαταρακτών.	40-41
3.3.1. Επίπεδα ενδοκρινικών διαταρακτών στα δείγματα τρίχας μητερών.	40
3.3.2. Επίπεδα ενδοκρινικών διαταρακτών στα δείγματα τρίχας νεογνών.	40
3.3.3. Επίπεδα ενδοκρινικών διαταρακτών στα δείγματα τρίχας παιδιών.	40-41
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ	41-44
5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	45-50

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

MePB: Methyl paraben

Rt: Retention time

BePB: Benzylparaben

PrPB: Propyl paraben

BuPB: Butyl paraben

EtPB: Ethyl paraben

TCS: Triclosan

BPA: Bisphenol A

BPS: Bisphenol S

BPs: Bisphenols

DDD: Dichloro-diphenyl-dichloroethane

DDT: Dichloro-diphenyl-trichloroethane

DDE: Dichloro-diphenyl-dichloroethylene

HCB: Hexachlorobenzene

IS: Internal standard

IUPAC: International Union of Pure and Applied Chemistry

LC: Liquid chromatography

GC: Gas chromatography

LOD: Limit of detection

LOQ: Limit of quantification

MS: Mass spectrometer

PBs: Parabens

pHBA: para-hydroxybenzoic acid

RSD: Relative Standard Deviation

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Ενδοκρινικοί Διαταράκτες (EDCs)

Όλοι οι πολυκύτταροι οργανισμοί διαθέτουν δυο βασικά συστήματα μέσω των οποίων ελέγχουν και συντονίζουν όλες τις λειτουργίες του σώματος:

- Το νευρικό σύστημα, το οποίο εκτελεί ένα γρήγορο έλεγχο σε όλα τα σημεία του σώματος και στέλνει τα κατάλληλα ηλεκτρικά σήματα.
- Το ενδοκρινικό σύστημα το οποίο λειτουργεί με πιο αργούς ρυθμούς και βασίζεται σε χημικούς αγγελιοφόρους, τις ορμόνες, οι οποίες εκκρίνονται μέσα στο αίμα και μπορούν να φτάσουν σε όλα τα σημεία του σώματος.

Τα δυο αυτά συστήματα λειτουργούν ταυτόχρονα προκειμένου να ελέγχουν όλες τις διαδικασίες και τις λειτουργίες του σώματος.

Ενδοκρινικός διαταράκτης ορίστηκε από τον Οργανισμό Προστασίας του Περιβάλλοντος των ΗΠΑ (EPA) ως «εξωγενής παράγοντας που παρεμβαίνει στη σύνθεση, την έκκριση, τη μεταφορά, το μεταβολισμό, τη δεσμευτική δράση ή την εξάλειψη των φυσικών αιμοσφαιρικών ορμονών που υπάρχουν στο σώμα και είναι υπεύθυνοι για την ομοιόσταση, την αναπαραγωγή και την αναπτυξιακή διαδικασία (Diamanti-Kandarakis et al., 2009). Γενικά, ως ενδοκρινικός διαταράκτης ορίζεται μια ουσία η οποία αλληλοεπιδρά με το ενδοκρινικό σύστημα προκαλώντας επιπτώσεις στην υγεία ενός οργανισμού ή στους απογόνους του.

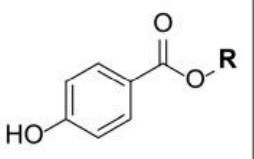



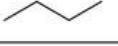


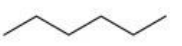
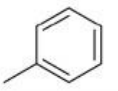

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκαν οι εξής ενώσεις:

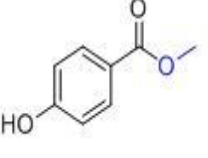
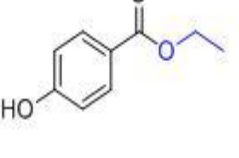
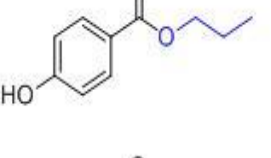
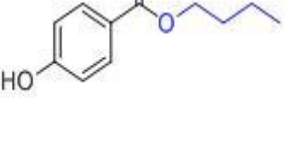
- ❖ Παραβένια (Parabens, PBs):
 - Μέθυλ-παραβένιο (Methyl paraben, MePB)
 - Αίθυλ-παραβένιο (Ethyl paraben, EtPB)
 - Προπυλ-παραβένιο (propyl paraben, ProP)
 - Βούτυλ-παραβένιο (Butyl paraben, BuPB)
 - Βένζυλ-παραβένιο (Benzyl paraben, BePB)
- ❖ Δισφαινόλες (Bisphenols, BPs)
 - Δισφαινόλη A (Bisphenol A, BPA)
 - Δισφαινόλη S (Bisphenol S, BPS)
- ❖ Τρικλοζάνη (Triclosan, TCS)
- ❖ Εξαχλωροβενζόλιο (Hexachlorobenzene, HCB)
- ❖ Διχλωροδιφαινυλτριχλωροαιθάνια (dichlorodiphenyltrichloroethanes, DDTs)
 - Διχλωρο-διφαινυλο-διχλωροαιθάνιο (Dichloro-diphenyl-dichloroethane, ορ και pp DDD)
 - Διχλωρο-διφαινυλο-διχλωροαιθυλένιο (Dichloro-diphenyl-dichloroethylene, ορ και pp DDE)
 - Διχλωρο-διφαινυλο-τριχλωροαιθάνιο (Dichloro-diphenyl-trichloroethane, ορ και pp DDT)

1.2 Παραβένια (Parabens, PBs)

1.2.1. Σύνθεση και ιδιότητες.

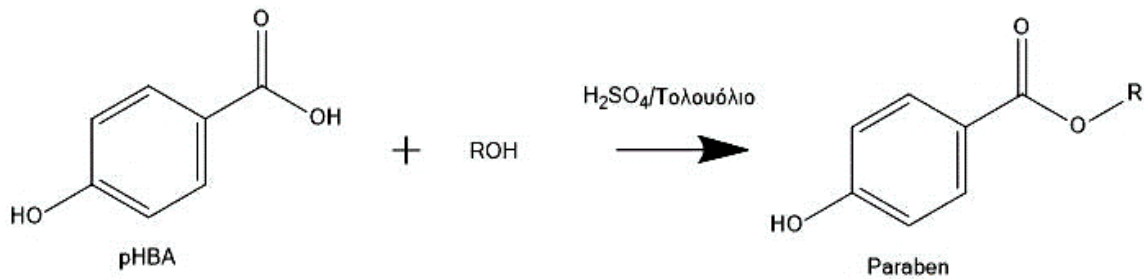
Σύμφωνα με το Cosmetic Ingredient Dictionary που εκδόθηκε από το Cosmetic, Toiletry, and Fragrance Association (CTFA), τα parabens (PBs) ή 4-υδροξυβενζοϊκού οξέος κατά IUPAC με συντακτικό τύπο $C_7H_6O_3R$, είναι εστέρες του παρα-υδροξυβενζοϊκού οξέος (para-hydroxybenzoic acid, pHBA) (Gottschalck and McEwen 2004). Τα parabens περιλαμβάνουν τα methylparaben, ethylparaben, propylparaben, butylparaben, και benzylparaben, κ.ά., όπου μεταξύ τους διαφέρουν ως προς τον υποκαταστάτη R, ο οποίος μπορεί να είναι είτε αλκαλική ομάδα είτε αρωματικός δακτύλιος (στην περίπτωση του benzylparaben).

Core Structure	
Compound	R
p-hydroxybenzoic acid	H
methylparaben	CH ₃
ethylparaben	
propylparaben	
isopropylparaben	
butylparaben	
isobutylparaben	
phenylparaben	
hexylparaben	
benzylparaben	
heptylparaben	

	methylparaben
	ethylparaben
	propylparaben
	butylparaben

Εικόνα 1.1 Χημική δομή των εστέρων του παρα-υδροξυβενζοϊκού οξέος (PBs)

Η παρασκευή τους πραγματοποιείται με εστεροποίηση του παρα-υδροξυβενζοϊκού οξέος (pHBA) με περίσσεια της αντίστοιχης αλκοόλης παρουσία ενός καταλύτη (π.χ. πυκνό θειικό οξύ) (Liao et al., 2002) (Εικόνα 1.2)



Εικόνα 1.2 Σύνθεση PBs με εστεροποίηση του p-HBA με την κατάλληλη αλκοόλη

Τα parabens είναι σταθερά στον αέρα και είναι ανθεκτικά στην υδρόλυση σε ζεστό και κρύο νερό, καθώς και σε όξινα διαλύματα. Η αντοχή τους στην υδρόλυση αυξάνεται καθώς αυξάνεται το μέγεθος της αλκυλικής πλευρικής αλυσίδας. Ο ρυθμός υδρόλυσης εξαρτάται από το pH. Πάνω από το pH 7, τα parabens υδρολύονται στην αντίστοιχη αλκοόλη και σε pHBA ενώ σε έντονα αλκαλικά διαλύματα, τα parabens υδρολύονται στο αντίστοιχο καρβοξυλικό οξύ, το οποίο κατόπιν ιονίζεται (Final Amended Report on the Safety Assessment of Methyl paraben, Ethylparaben, Propylparaben, Isopropylparaben, Butylparaben, Isobutylparaben, and Benzylparaben as used in Cosmetic Products, 2008).

Οι αντιβακτηριακές ιδιότητες των parabens είναι ευθέως ανάλογες με το μήκος της αλυσίδας της εστερικής ομάδας. Για παράδειγμα, το butyl paraben έχει 4 φορές μεγαλύτερη ικανότητα να αναστέλλει μικροβιακή ανάπτυξη από το ethyl paraben. Ωστόσο, ταυτόχρονα με την αύξηση του μήκους της αλκυλικής αλυσίδας, αυξάνεται η τιμή του συντελεστή κατανομής οκτανόλης-νερού, η οποία οδηγεί σε μείωση της υδατοδιαλυτότητας (Jewell et al., 2007). Σε συγκεντρώσεις τόσο χαμηλές όσο αυτές που χρησιμοποιούνται για , το χλώριο αντιδρά με parabens για την παραγωγή χλωριωμένων παραγώγων (Canosa et al., 2006). Παρατηρήθηκε ότι ακόμη και με λίγα λεπτά επαφής μεταξύ καλλυντικών που περιέχουν PBs (π.χ. τζελ μπάνιου) και χλωριωμένου νερού της βρύσης οδηγεί στο σχηματισμό χλωριωμένων και βρωμιωμένων υποπροϊόντων. Το φαινόμενο αυτό προκαλεί ανησυχία καθώς τα διχλωριωμένα παράγωγα είναι ιδιαίτερος σταθερά και παρουσιάζουν τοξικότητα για τους υδρόβιους οργανισμούς (Canosa et al., 2006).

Τα χαρακτηριστικά που καθορίζουν την υψηλή χρησιμότητα των parabens περιλαμβάνουν (Biedzka et al., 2014) :

- ευρύ φάσμα δραστηριότητας ενάντια σε ζύμες, καλούπια και βακτήρια
- χημική σταθερότητα (σε ευρύ φάσμα θερμοκρασίας και pH που κυμαίνεται από 4.5 έως 7.5)
- αδράνεια
- χαμηλό ποσοστό συστηματικής τοξικότητας,
- επαρκή διαλυτότητα στο νερό
- σχετικά ασφαλής χρήση
- χαμηλό κόστος παραγωγής,
- καμία αισθητή οσμή ή γεύση
- δεν προκαλεί αλλαγές στη συνοχή ή τον χρωματισμό των προϊόντων

1.2.2. Πηγές έκθεσης

Τα Parabens χρησιμοποιούνται σε φαρμακευτικά προϊόντα καθώς και σε προϊόντα καλλωπισμού και διατροφής από το 1930. Προϊόντα που περιέχουν Parabens είναι το σαπούνι χεριών, η κρέμα σώματος, το σαμπουάν, το κοντίσιονερ μαλλιών, η λοσιόν προσώπου και τα καθαριστικά προσώπου, τα προϊόντα μακιγιάζ, τα προϊόντα περιποίησης μαλλιών (λακ, τζελ, αφρός), οι οδοντόκρεμες και τα αντηλιακά (Yazar et al., 2011). Οι Liao και Kannan ανακάλυψαν την ύπαρξη PBs σε κάποια είδη χαρτιού, όπως υγρά μαντηλάκια, χαρτονομίσματα, εισιτήρια, επαγγελματικές κάρτες, χάρτινα δοχεία τροφίμων, φυλλάδια και εφημερίδες (Liao and Kannan, 2014). Ανησυχητικό είναι το γεγονός της ύπαρξης των ενώσεων αυτών και σε μωρομάντηλα, καθώς τα μωρά και τα μικρά παιδιά αποτελούν ευπαθή ομάδα του πληθυσμού. Σε προϊόντα προσωπικής φροντίδας που εξετάστηκαν στις Η.Π.Α. βρέθηκε περιεκτικότητα methylparaben μέχρι και 1.0% w/w με τα lipstick να περιέχουν την μεγαλύτερη ποσότητα από 0.15 έως 1.0% w/w (Cosmetic Ingredient Expert Panel.,2008). Τα υπόλοιπα Parabens χρησιμοποιούνται σε μικρότερη ποσότητα σε άλλα προϊόντα προσωπικής φροντίδας. Τα methylparaben και propylparaben είναι τα πιο συνηθισμένα είδη Parabens σε φαρμακευτικά προϊόντα φτάνοντας μέχρι και 20% w/w περιεκτικότητα. Και οι δυο αυτές ενώσεις χρησιμοποιούνται επίσης σε τρόφιμα, όπως η μαρμελάδα, τα ζελέ (μέχρι 0.1%) κ.α (Wang et al., 2006)

1.2.3 Επιπτώσεις στην υγεία

1.2.3.1 Επιπτώσεις στην υγεία του ανθρώπου

Η κύρια ανησυχία σχετικά με τα parabens στα καλλυντικά είναι η δυνατότητα ορισμένων από αυτών να ενεργούν μιμούμενα τις ορμόνες στο σώμα, ιδιαίτερα όπως τα οιστρογόνα, στο θηλυκό αναπαραγωγικό σύστημα. Στις γυναίκες, τα οιστρογόνα ρυθμίζουν κυρίως τη σεξουαλική ανάπτυξη των αναπαραγωγικών ιστών και την ανάπτυξη δευτερογενών σεξουαλικών χαρακτηριστικών κατά την εφηβεία (Holst et al., 2004). Τα PBs (MePB, EtPB, PrPB και BuPB) έχουν την ικανότητά να προσδένονται στον υποδοχέα, συγκεκριμένα στον υποδοχέα α της 17β-οιστραδιόλης, ωστόσο η πιθανότητα πρόσδεσής τους είναι 10000–100000 φορές μικρότερη από εκείνη της 17β-οιστραδιόλης (Darbre et al., 2002). Παρόμοια συμπεριφορά παρουσίασε και το BePB όσον αφορά στην ικανότητά του να μιμείται τη δράση της 17β-οιστραδιόλη αλλά σε συγκεντρώσεις 1000–10000 μεγαλύτερες από εκείνη της 17β-οιστραδιόλη (Darbre et al., 2003). Η μίμηση της δράσης των οιστρογόνων από τα PBs οδηγεί στον πολλαπλασιασμό των κύτταρων και στην περίπτωση των γυναικών συνεπάγεται αυξημένος κίνδυνος καρκίνου του μαστού. Το γεγονός ότι τα parabens έχουν πιο αδύναμη δράση από τα οιστρογόνα δεν σημαίνει ότι είναι ασφαλή για την υγεία. Έτσι οι επιστήμονες επικεντρώθηκαν στις επιδράσεις των parabens συνδυαστικά με τον αυξητικό παράγοντα ερεγουλίνη, που έχει επίσης σχετιστεί με τον καρκίνο του μαστού. Σε εργαστηριακές συνθήκες μελέτησαν πόσο καλά τα κύτταρα αναπτύσσονταν όταν εκτέθηκαν σε parabens και ερεγουλίνη, συγκριτικά με το πόσα κύτταρα αναπτύχθηκαν όταν εκτέθηκαν μόνο σε parabens. Με την προσθήκη του αυξητικού παράγοντα, τα επίπεδα των Parabens μειώνονταν κατά 100 φορές και τα καρκινικά κύτταρα συνέχιζαν να πολλαπλασιάζονται ταχύτερα, από εκείνα που δεν είχαν εκτεθεί στην ερεγουλίνη. Με απλά λόγια, όταν προστέθηκε ο αυξητικός παράγοντας τα parabens έγιναν 100 φορές πιο ικανά να προκαλέσουν την καρκινική κυτταρική ανάπτυξη, συγκριτικά με τα καρκινικά κύτταρα του μαστού που είχαν εκτεθεί μόνο σε parabens. Με αυτή την αυξημένη δράση, τα parabens μπορεί να έχουν επίδραση και σε ένα επίπεδο που μπορεί να παρατηρηθεί στον άνθρωπο σε πραγματικές συνθήκες (Environmental Health Perspectives,2021).

Έχει επίσης αποδειχθεί ότι τα PBs επηρεάζουν και τη διαφοροποίηση των λιποκυττάρων, επάγοντας (αυξάνοντας την πιθανότητα εμφάνισης) την εμφάνιση παχυσαρκίας. Συγκεκριμένα, έχει βρεθεί ότι προάγουν τη συσσώρευση των λιπιδίων, τη λιπογένεση σε κύτταρα ποντικών και επηρεάζουν τη λιπώδη μετατροπή των ανθρώπινων πολυδυναμικών στρωματικών κυττάρων (human adipose-derived multipotent stromal cells (hADSC)) που προέρχονται από το λιπώδη ιστό (Hu et al., 2013). Οι επιδράσεις αυτές επιτυγχάνονται μέσω του υποδοχέα των γλυκοκορτικοειδών και/ή με τους υποδοχείς που ενεργοποιούνται από τον πολλαπλασιαστή των υπεροξεισωμάτων (PPARγ). Όπως και στις προηγούμενες επιδράσεις τους, η δραστηριότητα των PBs, όσον αφορά τη λιπογένεση, αυξάνεται με την αύξηση του μήκους και των διακλαδώσεων της αλκυλικής αλυσίδας.

1.2.3.2 Επιπτώσεις στην υγεία μητέρας – νεογνού

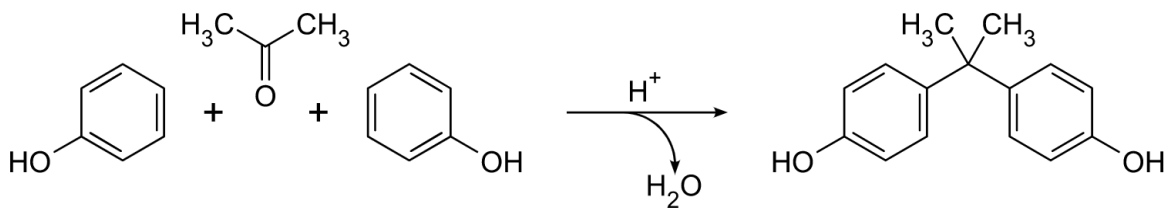
Η σωματική, η κοινωνική και η πνευματική ανάπτυξη των παιδιών από τη σύλλησή τους μέχρι το τέλος της εφηβείας, απαιτεί ένα περιβάλλον προστατευμένο και προστατευτικό για την υγεία τους. Ένας αυξανόμενος αριθμός παιδικών ασθενειών, αλλά και ασθενειών που εμφανίζονται αργότερα στην ενήλικη ζωή, όπως αλλεργίες, άσθμα, παχυσαρκία, σακχαρώδης διαβήτης και καρδιαγγειακές παθήσεις έχει συσχετισθεί με περιβαλλοντικές εκθέσεις κατά την εγκυμοσύνη και την πρώτη βρεφική ηλικία. Τα Parabens μπορούν να επηρεάσουν όλα τα στάδια της σύλληψης. Μελέτες σε ανθρώπους και ζώα δείχνουν ότι ενδέχεται να προκαλούν μειωμένη γονιμότητα. Έρευνα σε έγκυες γυναίκες έδειξε ότι εκείνες που είχαν υψηλότερα επίπεδα PBs είχαν περισσότερες πιθανότητες να έχουν πρόωρο τοκετό ενώ ταυτόχρονα τα νεογνά είχαν χαμηλότερο βάρος και μειωμένο μήκος σώματος κατά τη γέννηση (Geer et al., 2017). Παράλληλα, μελέτες σε αρουραίους έδειξαν πως η έκθεση εγκύων σε BpPB ήταν επιβλαβής για το αναπαραγωγικό σύστημα των αρσενικών απογόνων. Αυτοί οι απόγονοι είχαν υψηλότερα επίπεδα οιστρογόνων (L. Zhang et al., 2014). Κάποιες άλλες μελέτες σε ζώα, έδειξαν ότι η παρατεταμένη έκθεση της μητέρας σε parabens προκάλεσε αλλοιώσεις στην δομή και τη λειτουργία των όρχεων των αρσενικών απογόνων, δημιουργώντας πρόβλημα στο σπέρμα τους κατά την ενηλικίωση τους (Guerra et al., 2017).

1.3 Δισφαινόλες (Bisphenols, BPs)

1.3.1. Σύνθεση και ιδιότητες.

1.3.1.1 Δισφαινόλη Α (Bisphenol A, BPA)

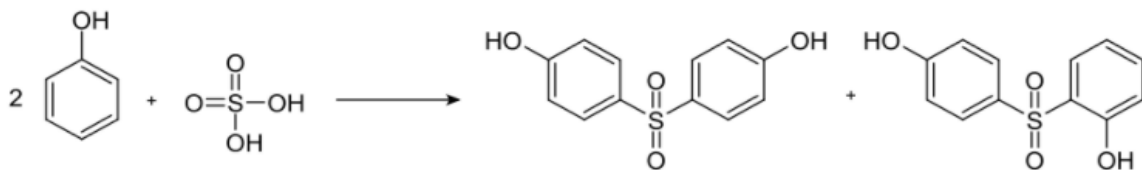
Η δισφαινόλη Α ($C_{15}H_{16}O_2$), η οποία έχει ονομασία κατά IUPAC 4,4'- (προπάνιο-2,2-διυλ) διφαινόλη είναι ένα λευκό στερεό σε μορφή κρυστάλλων, νιφάδων ή σκόνης με μοριακό βάρος 228.3, τάση ατμών $<3.96 \times 10^{-7}$ mm Hg και σταθερά Henry 1.0×10^{-10} atm m³ mol⁻¹. Η διαλυτότητά της στο νερό είναι 120-300 mg L⁻¹, έχει χαμηλή πτητικότητα ($H < 1.0 \times 10^{-7}$ atm m³ mol⁻¹) και η παρουσία της στο περιβάλλον είναι παροδική λόγω της γρήγορης αποδόμησής της σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων και σε υδάτινους αποδέκτες (χρόνος ημιζωής: 2.5 με 4 ημέρες). Σύμφωνα με βιβλιογραφικές αναφορές η BPA έχει μεγαλύτερη διαλυτότητα σε αλκαλικά pH εξαιτίας των σταθερών διάστασης, pKa 9.6 με 10.2. Το σημείο τήξης είναι 150-155 °C ενώ το σημείο βρασμού 220 °C (4 mm Hg) (Staples' et al., 1998). Η BPA, είναι σημαντικό αρχικό υλικό για την παραγωγή εποξικών ρητινών και πολυανθρακικών. Συντίθεται με συμπύκνωση οξέος ακετόνης και φαινόλης καταλυόμενη από οξύ (Prokop et al., 2004).



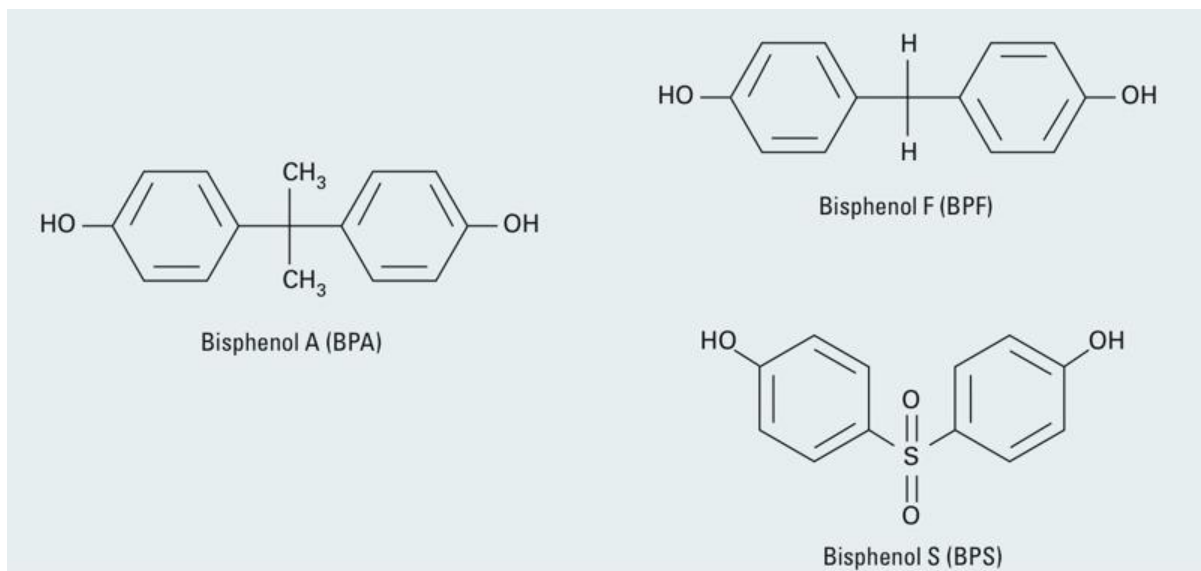
Εικόνα 1.3 Σύνθεση Δισφαινόλης Α

1.3.1.2 Δισφαινόλη S (Bisphenol S, BPS)

Η Δισφαινόλη S (BPS) είναι μια οργανική ένωση με τον χημικό τύπο $(\text{HO-C}_6\text{H}_4)_2\text{SO}_2$ και ονομασία κατά IUPAC 4,4'-Σουλφονυλοδιφαινόλη . Έχει δύο λειτουργικές ομάδες φαινόλης και στις δύο πλευρές μιας ομάδας σουλφονυλίου . Χρησιμοποιείται συνήθως για τη σκλήρυνση ταχέως στεγνώματος εποξειδικών ρητινών συγκολλητικών. Η BPS συντίθεται με την αντίδραση δύο φαινολών με θειικό οξύ. Αυτή η αντίδραση μπορεί επίσης να παράγει 2,4'-σουλφονυλοδιφαινόλη, μια κοινή ισομερική επιπλοκή σε αντιδράσεις ηλεκτροφιλικής αρωματικής υποκατάστασης.



Εικόνα 1.4 Σύνθεση Δισφαινόλης S



Εικόνα 1.5 Χημικές δομές της δισφαινόλης Α, της διφαινόλης S και της διφαινόλης F

1.3.2. Πηγές έκθεσης

Η πρώτη σύνθεση της BPA πραγματοποιήθηκε το 1891. Η BPA έλαβε ιδιαίτερη προσοχή από τους ιατρικούς επιστήμονες λόγω των οιστρογονικών ιδιοτήτων της, αν και δεν είχε χρησιμοποιηθεί ως φάρμακο (Vogel, 2009). Αργότερα, οι χημικοί ανακάλυψαν ότι ο συνδυασμός της BPA με άλλες ενώσεις - συμπεριλαμβανομένου του φωσγενίου, που χρησιμοποιήθηκε κατά τη διάρκεια του Παγκοσμίου Πολέμου ως τοξικό αέριο - ήταν δυνατό να δημιουργήσει ένα διαφανές, ανθεκτικό σε θρυμματισμό πολυανθρακικό πλαστικό (Health Organization Regional Office for Europe, 2015). Η χρήση αυτών των πλαστικών γίνεται σε συσκευασίες ποτών και τροφίμων, για παράδειγμα στην εσωτερική επένδυση μεταλλικών κονσερβών φαγητού, στα καπάκια μπουκαλιών και σε αγωγούς ύδρευσης. Κάποιες άλλες χρήσεις περιλαμβάνουν προσθετικά σε θερμαντικό χαρτί, χρώματα σε σκόνες, καθώς και ως αντιοξειδωτικά σε πλαστικά. Η Ευρωπαϊκή Ένωση κατέχει το 30% περίπου της παγκόσμιας παραγωγής BPA. Στις κονσέρβες που περιέχουν τις υψηλότερες συγκεντρώσεις σε BPA, έχει παρατηρηθεί ότι η συγκέντρωση στο περιεχόμενο της κονσέρβας ανέρχεται σε 80 µg/kg. Οι πειραματικές αυτές τιμές βρίσκονται κάτω από το όριο της Ευρωπαϊκής Ένωσης, που είναι 3 mg/kg για τις συγκεντρώσεις της BPA σε κονσέρβες φαγητού. Η ευρεία αυτή χρήση, έχει ως αποτέλεσμα να βρίσκεται τόσο στα ανεπεξέργαστα απόβλητα, όσο και στα επεξεργασμένα απόβλητα και την επεξεργασμένη ύλη, διαφεύγοντας έτσι στο περιβάλλον. Η BPS χρησιμοποιείται συνήθως σε εποξειδικές κόλλες, σε επικαλύψεις και σε χαρτιά θερμικής απόδειξης, και ως πρόσθετο σε χρώματα (Da Chen et al., 2016). Χρησιμοποιείται κατά κύριο λόγο για την αντικατάσταση της BPA σε θερμικό χαρτί, αφού η χρήση της BPA υπόκειται σε περιορισμό από το 2016 στην ΕΕ λόγω των επικίνδυνων ιδιοτήτων της. Ωστόσο ο ECHA σημειώνει ότι η αντικατάσταση της BPA από την BPS είναι ανησυχητική δεδομένου ότι η επιτροπή αξιολόγησης κινδύνου του ECHA, στη γνωμοδότησή της για την BPA, ανέφερε ότι η BPS "πιστεύεται ότι έχει πολλές από τις δυσμενείς επιπτώσεις στην υγεία όπως η BPA".

1.3.3 Επιπτώσεις στην υγεία

1.3.3.1 Επιπτώσεις στην υγεία του ανθρώπου

Όσον αφορά τις τοξικολογικές επιδράσεις των δισφαινόλων στους ανθρώπους μέσω της κατάποσης, οι πιθανοί κίνδυνοι για την υγεία έχουν ως επί το πλείστον συναχθεί από μελέτες σε αρουραίους και ποντίκια. Η πρώτη απόδειξη της οιστρογονικότητας της δισφαινόλης Α προήλθε από πειράματα που διεξήχθησαν σε αρουραίους στη δεκαετία του 1930, αλλά μόλις το 1997 αναφέρθηκαν για πρώτη φορά οι δυσμενείς επιδράσεις της έκθεσης εργαστηριακών ζώων σε BPA (Health Organization Regional Office for Europe, 2015). Η BPA είναι ένας ενδοκρινικός διαταράκτης, ο οποίος μπορεί να μιμείται τις ορμόνες του σώματος. Μετά την είσοδό του στο ανθρώπινο σώμα, η BPA μπορεί να διαταράξει την φυσιολογική κυτταρική λειτουργία ενεργώντας ως ανταγωνιστής οιστρογόνου (Wozniak et al. 2005), καθώς επίσης και ένας ανταγωνιστής ανδρογόνων (Lee et al. 2003), που μπορεί να επηρεάσει την υγεία. Υπάρχουν πολλές μελέτες για τις επιδράσεις των χαμηλών δόσεων BPA στην ανάπτυξη των γυναικείων και ανδρικών αναπαραγωγικών οργάνων σε αρουραίους και ποντίκια. Τα ευρήματα περιλαμβάνουν χρωμοσωμικές ανωμαλίες στα ωοκύτταρα στις γυναίκες και μακροπρόθεσμες επιδράσεις στα βοηθητικά αναπαραγωγικά όργανα που δεν παρατηρούνται μέχρι τα μέσα της ζωής, όπως τα ινομύματα της μήτρας και οι κύστες των ωοθηκών (Newbold et al., 2007) Στην περίπτωση των ανδρών, έχει αποδειχθεί ότι μειώνουν τη δραστικότητα των σπερματοζωαρίων.

Είναι τοξικές για το ήπαρ και μπορεί να συνδέονται ακόμη και με την παχυσαρκία επηρεάζοντας τη δραστηριότητα των λιπιδίων (Health Organization Regional Office for Europe, 2015). Επιπλέον, η έκθεση σε BPA έχει συσχετιστεί με χρόνιες ασθένειες στους ανθρώπους, όπως καρδιαγγειακές παθήσεις, διαβήτη και νόσους στους στομάχι (Lang et al. 2008).

Σύμφωνα με το Πρόγραμμα Επιτήρησης, Επιδημιολογίας και Τελικών Αποτελεσμάτων από το Διεθνές Ινστιτούτο Καρκίνου, η συχνότητα εμφάνισης καρκίνου του μαστού αυξήθηκε σταθερά από το 1970 έως το 2000, που συσχετίζεται με αυξήσεις στην παραγωγή BPA (Soto et al., 2013). Το Ινστιτούτο Ιατρικής της Αμερικής (IOM) έχει δηλώσει το BPA ως πιθανό παράγοντα κινδύνου για καρκίνο του μαστού. Επιδημιολογικές μελέτες έχουν αξιολογήσει τη σχέση μεταξύ BPA και καρκίνου του μαστού. Πολλαπλές *in vivo* και *in vitro* μελέτες έχουν αναφέρει ότι η έκθεση σε BPA σε χαμηλές δόσεις μπορεί να οδηγήσει σε νεοπλασματικές βλάβες των μαστών.

1.3.3.1 Επιπτώσεις στην υγεία μητέρας- νεογνού

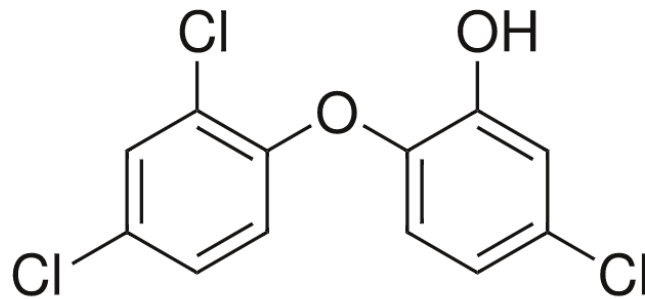
Στο εμβρυϊκό στάδιο του κύκλου ζωής του ανθρώπου, υπάρχει σοβαρή ανησυχία ότι οι δυσφαινόλες μπορεί να εισέλθουν μέσω του πλακούντα, εκθέτοντας το έμβρυο. Υποστηρίζεται ότι οι συνέπειες της τοξικότητας των «οιστρογονικών χημικών» είναι πιο σοβαρές στο αναπτυσσόμενο έμβρυο σε σύγκριση με τον ενήλικο οργανισμό (Ellahi & Rashid, 2017). Η έκθεση σε BPA κατά τη διάρκεια της κύησης μπορεί να οδηγήσει σε αυξημένη πιθανότητα αποβολής, μη φυσιολογικό χρόνο κύησης, χαμηλό βάρος του εμβρύου, αυξημένες ανωμαλίες των ανδρικών γεννητικών οργάνων και παιδική παχυσαρκία. Ιδιαίτερα ισχυροί είναι οι συσχετισμοί μεταξύ της πρώιμης έκθεσης στη BPA και της διαταραχής της νευροανάπτυξης στα παιδιά, καθώς και της αυξημένης πιθανότητας παιδικού άσθματος (Rochester, 2013). Οι επιστήμονες έχουν παρατηρήσει πως η BPA μπορεί να διαταράξει τις λειτουργίες των ορμονών του φύλου αλλά και να επηρεάσει την ανάπτυξη του εγκεφάλου. Το οιστρογόνο παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη και διαφοροποίηση ορισμένων τμημάτων αρσενικών και θηλυκών εγκεφάλων. Αρσενικοί και θηλυκοί εγκεφαλοί εκτίθενται σε διαφορετικές ποσότητες οιστρογόνων κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης και αυτό φαίνεται να διαμορφώνει ορισμένες περιοχές του εγκεφάλου διαφορετικά. Μία από αυτές τις περιοχές είναι ο υποθάλαμος, ο οποίος ελέγχει μια ποικιλία βασικών λειτουργιών, όπως η πείνα, η διάθεση και η σεξουαλική ορμή. Λόγω των οιστρογονικών και αντιανδρογονικών δραστηριοτήτων του, η BPA μπορεί να επηρεάσει τη διμορφική ανάπτυξη των νευρωνικών δικτύων αρσενικού και θηλυκού εγκεφάλου που ρυθμίζουν την ενεργοποίηση των υποθαλαμικών υποδοχέων οιστρογόνων ή ανδρογόνων, ένζυμα ενεργοποίησης τεστοστερόνης και την έκφραση της αρωματάσης (Ghosh et al., 2017). Άλλες μελέτες αναφέρουν πως οι δυσφαινόλες μπορούν να επηρεάσουν την συμπεριφορά. Ο Braun και οι συνεργάτες του ανακάλυψαν πως η έκθεση σε BPA κατά την κύηση σχετίζεται με την υπερκινητικότητα και την επιθετικότητα σε νεαρά κορίτσια, αλλά όχι σε αγόρια (Braun et al., 2009)

1.4 Τριχλωρωμένα διπυρηνικά αρωματικά (Τρικλοζάνη)

1.4.1 Σύνθεση και ιδιότητες

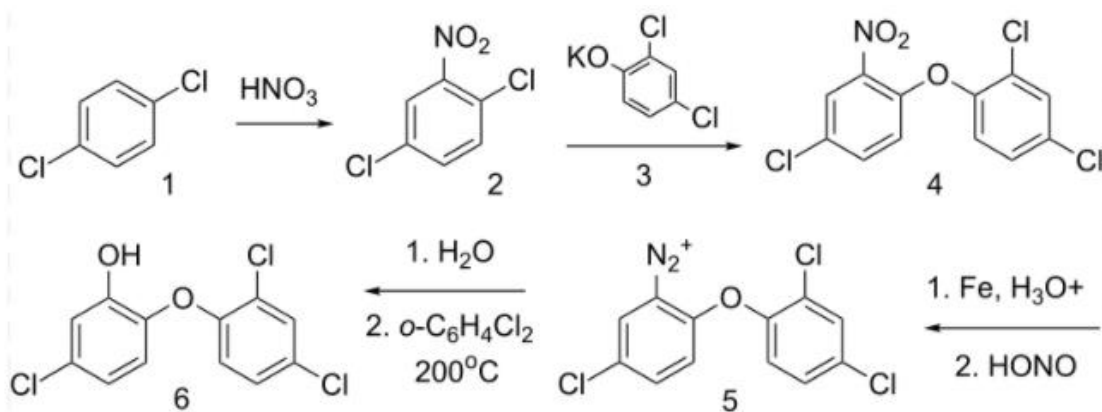
Η Τρικλοζάνη (TCS) ή η 5-χλωρο-2- (2,4-διχλωροφαινοξυ) φαινόλη κατά IUPAC, είναι ένα συνθετικό αντιμικροβιακό ευρέος φάσματος που αναπτύχθηκε στη δεκαετία του 1960. Ως πολυχλωρωμένη διφαινολική ένωση, το TCS έχει αισθητή αρωματική οσμή και είναι ασθενώς διαλυτό στο

νερό. Διαλύεται καλά σε οργανικούς διαλύτες συμπεριλαμβανομένης της αιθανόλης, του διμεθυλοσουλφοξειδίου (DMSO) και της μεθανόλης (Montville & Schaffner, 2011). Αποτελείται από δύο φαινυλικούς δακτυλίους ενωμένους με ένα άτομο οξυγόνου όπως γίνεται στην περίπτωση των αιθέρων. Ο ένας δακτύλιος έχει 2 άτομα χλωρίου σε meta θέση μεταξύ τους ενώ ο άλλος έχει ένα άτομο χλωρίου και μία υδροξυλική ομάδα σε meta θέση μεταξύ τους (Εικόνα 1.6). Το TCS είναι σταθερό σε θερμοκρασίες 150-200°C αν δεν θερμανθεί για διάστημα μεγαλύτερο των δύο ωρών. Εν τούτοις, σε χαμηλά pH ανοικοδομείται στο περιβάλλον με τη βοήθεια του φωτός σχηματίζοντας χλωριωμένα παράγωγα. Κάποια από αυτά τα παράγωγα εμφανίζουν μεγαλύτερη τοξικότητα από τη TCS αλλά έχει αποδειχθεί ότι ανοικοδομούνται, όπως και η TCS, από βακτήρια όπως τα *Pseudomonas*, *Burkholderia* και *Sphingomonas* (Field and Sierra-Alvarez, 2008a; Field and Sierra-Alvarez, 2008b).



Εικόνα 1.6 Χημική δομή της τρικλοζάνης

Σε υψηλές συγκεντρώσεις, η τρικλοζάνη δρα ως βιοκτόνο με πολλαπλούς κυτταροπλασματικούς και μεμβρανικούς στόχους (Russell, 2004). Ωστόσο, στις χαμηλότερες συγκεντρώσεις που παρατηρούνται στα εμπορικά προϊόντα, η τρικλοζάνη εμφανίζεται βακτηριοστατική και στοχεύει βακτήρια κυρίως αναστέλλοντας τη σύνθεση λιπαρών οξέων. Η τρικλοζάνη συνδέεται με το ένζυμο αναγωγή πρωτεΐνης ενυλο-ακυλίου (ENR) (βρίσκεται στα βακτήρια), αυτή η δέσμευση αυξάνει τη συγγένεια του ενζύμου για το νικοτιναμίδιο αδένινο δινουκλεοσίδιο (NAD⁺) (The WHO Guidelines on Hand Hygiene in Healthcare, 2009). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό ενός σταθερού, τριμερούς συμπλόκου ENR-NAD⁺-τρικλοζάνης, το οποίο δεν μπορεί να συμμετάσχει στη σύνθεση λιπαρών οξέων. Τα λιπαρά οξέα είναι απαραίτητα για την οικοδόμηση και αναπαραγωγή κυτταρικών μεμβρανών. Οι άνθρωποι δεν έχουν ένζυμο ENR και επομένως δεν επηρεάζονται από αυτόν τον τρόπο δράσης.



Εικόνα 1.7 Πορεία σύνθεσης τρικλοζάνης (TCS)

1.4.2. Πηγές έκθεσης

Η τρικλοζάνη (triclosan) είναι γνωστή για την αντιμικροβιακή δράση της. Η τρικλοζάνη δρα ενάντια θετικών και αρνητικών κατά Gram μικροοργανισμών ακόμη και ανθεκτικών σε άλλα αντιβιοτικά. Δρα αναστέλλοντας την ανάπτυξη των βακτηριδίων και μυκήτων, διαπερνώντας το κυτταρικό τους τοίχωμα. Η τρικλοζάνη βρίσκεται σε μια ευρεία γκάμα προϊόντων. Συγκεκριμένα συναντάται σε προϊόντα προσωπικής φροντίδας όπως οδοντόκρεμες, στοματικά διαλύματα, αποσμητικά, σαπούνια και κρέμες αλλά και σε ιατρικές συσκευές, υφάσματα, υγρά σαπούνια πιάτων, παιχνίδια, πλαστικά μαγειρικά σκεύη ακόμη και σε πιπίλες (Halden, 2014)

1.4.3. Επιπτώσεις στην υγεία.

1.4.3.1. Επιπτώσεις στην υγεία του ανθρώπου.

Τον Σεπτέμβριο του 2016, η Αμερικανική Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA) απαγόρευσε δεκαεννέα αντιμικροβιακά συστατικά, συμπεριλαμβανομένων της τρικλοζάνης, με βάση τα ανεπαρκή στοιχεία που αποδεικνύουν την ασφάλειά τους για μακροχρόνια καθημερινή χρήση και ότι μειώνουν η εξάπλωση της ασθένειας και της μόλυνσης.

Η τρικλοζάνη ταξινομείται ως ενδοκρινικός διαταράκτης. Η τρικλοζάνη έχει αποδειχθεί ότι ασκεί είτε οιστρογονική είτε αντιοιστρογονική δράση σε διαφορετικά μοντέλα συστημάτων. Αυτή η διαφορά θα μπορούσε να οφείλεται στις πολλαπλές τοξικολογικές τους ιδιότητες. Σε μία μελέτη, πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις τρικλοζάνης διεγείρουν πολλαπλασιασμό κυττάρων καρκίνου του μαστού πιθανώς μέσω απευθείας σύνδεσης με υποδοχείς οιστρογόνων. Ωστόσο, παρουσία χαμηλών συγκεντρώσεων οιστραδιόλης, ενός φυσικού ισχυρού οιστρογόνου, η τρικλοζάνη συμπεριφέρθηκε ως αντιοιστρογόνο, πιθανώς μέσω διαφορετικών μηχανισμών. Το Triclosan διαταράσσει επίσης τις λειτουργίες του πλακούντα. Σε ένα μοντέλο τρωκτικού, η τρικλοζάνη ανέστειλε την παραγωγή στεροειδών ορμονών (συμπεριλαμβανομένης της οιστραδιόλης) σε πλακούντα αρουραίου. Η τρικλοζάνη βρέθηκε επίσης να αναστέλλει ένα άλλο μεταβολικό ένζυμο οιστρογόνων, την σουλφοτρανσφεράση οιστρογόνου, τόσο στον άνθρωπο όσο και στα τρωκτικά. Από την άποψη αυτή, η τρικλοζάνη θα μπορούσε να επηρεάσει την παραγωγή οιστραδιόλης (Li et al., 2017). Άλλες μελέτες υποστηρίζουν την συσχέτιση μεταξύ έκθεσης σε τρικλοζάνη και μειωμένης ποιότητας σπέρματος και μειωμένης ορμόνης ανασταλίνης Β και ωχρινότροπων στους άνδρες (den Hond et al., 2015).

Ένα αυξανόμενο σύνολο στοιχείων υποδηλώνει ότι η χρήση αντιμικροβιακών μπορεί να συμβάλει στην ανοχή στα αντιβιοτικά (Giuliano & Rybak, 2015). Ως αποτέλεσμα, είναι όλο και πιο δύσκολο να ελεγχθούν τα βακτήρια με αντιμικροβιακά. Επιπλέον, τα αποτελέσματα αρκετών μελετών δείχνουν επίσης ότι η έκθεση σε τρικλοζάνη μπορεί να αυξήσει την ευαισθησία στα αλλεργιογόνα και να επιδεινώσει το άσθμα και τα αλλεργικά συμπτώματα σε παιδιά και ενήλικες. Το TCS θεωρείται και αλλεργιογόνο. Έχει βρεθεί ότι σχετίζεται με την ευαισθησία σε εισπνεόμενα και εποχικά αλλεργιογόνα, όχι όμως σε αλλεργιογόνες τροφές. Επίσης, σε παιδιά που ήταν ήδη ευαίσθητα σε αλλεργίες παρατηρήθηκε συσχέτιση της αλλεργικής ρινίτιδας με την έκθεση σε TCS (Bertelsen et al., 2013). Αν και το TCS βρίσκεται κυρίως σε προϊόντα που έρχονται σε επαφή με το δέρμα, δεν έχουν παρατηρηθεί έντονα φαινόμενα δερματικών ερεθισμών, με κάποιες μεμονωμένες εξαιρέσεις ανθρώπων οι οποίοι είχαν ευαισθησία στα συγκεκριμένα προϊόντα και εμφάνισαν δερματίτιδα εξ επαφής (Rodricks et al., 2010).

1.4.3.2 Επιπτώσεις στην υγεία μητέρας- νεογνού.

Κατά την έκθεση και πρόσληψη από τον άνθρωπο, η τρικλοζάνη μεταβολίζεται και απεκκρίνεται από το σώμα εντός 36-72 ωρών (Sandborgh-Englund et al., 2006) . Η τρικλοζάνη που μεταφέρεται στο αίμα μπορεί να διασχίσει τον πλακούντα, η τρικλοζάνη και οι μεταβολίτες της έχουν εντοπιστεί στο αίμα του ομφάλιου λώρου κατά τη γέννηση (Allmyr et al., 2006), αυξάνοντας τις ανησυχίες για την προγεννητική έκθεση στο αναπτυσσόμενο έμβρυο. Η τρικλοζάνη και οι μεταβολίτες της έχει επίσης ανιχνευθεί σε δείγματα μητρικού γάλακτος (Adolfsson-Erici et al., 2002). Η ικανότητα της τρικλοζάνης να μεταφέρεται στο ανθρώπινο γάλα δημιουργεί ανησυχίες σχετικά με τις επιπτώσεις που μπορούν να προκύψουν στα βρέφη.

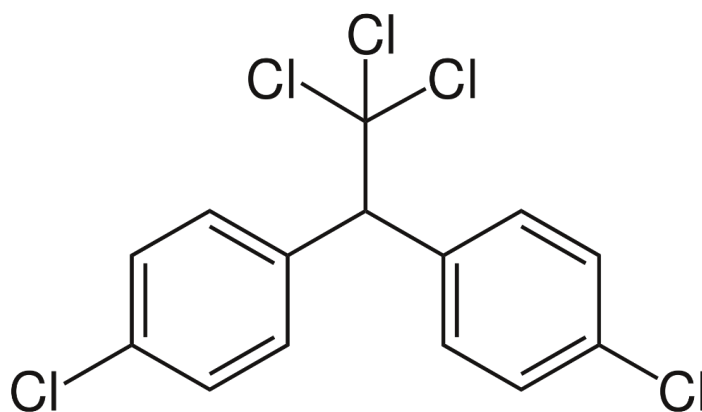
Μελέτες σε αρουραίους έχουν δείξει ότι το TCS σε δόσεις της τάξης των mg/kg σωματικού βάρους/ημέρα μπορεί να επιφέρει μείωση στην T4 του ορού του αίματος χωρίς όμως να ακολουθούν αυτή τη μείωση η T3 και η TSH. Η μοριακή δομή του TCS βρέθηκε να είναι παρόμοια με την ορμόνη του θυρεοειδούς. Η ορμόνη του θυρεοειδούς παίζει ουσιαστικό ρόλο στην ανάπτυξη, το μεταβολισμό και την ανάπτυξη του ανθρώπινου σώματος. Η δυσλειτουργία του θυρεοειδούς κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης μπορεί να έχει αρνητικές επιπτώσεις τόσο στην έγκυο όσο και στο έμβρυο. Πρόσφατα στοιχεία δείχνουν ότι ακόμη και οι πιο μέτριες μορφές δυσλειτουργίας του θυρεοειδούς της μητέρας, ιδιαίτερα κατά την πρώιμη κύηση, μπορεί να έχουν μακροχρόνια επίδραση στη γνωστική ανάπτυξη του παιδιού και τον κίνδυνο νευροαναπτυξιακών διαταραχών (Moog et al., 2017). Παρά την συσχέτιση της τρικλοζάνης με την διαταράξει του συστήματός θυρεοειδικών ορμονών στα τρωκτικά, τα μέχρι τώρα στοιχεία που αφορούν ανθρώπους δεν συσχετίζουν την έκθεση σε TCS κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης με τα επίπεδα της μητρικής θυρεοειδικής ορμόνης (Danrong Chen et al., 2021).

1.5 Διχλωρο-διφαινυλ-τριχλωροαιθάνια (dichloro-diphenyl-trichloroethanes, DDTs).

1.5.1 Σύνθεση και ιδιότητες.

1.5.1.1 π, π'-Διχλωρο-διφαινυλο-τριχλωροαιθάνιο (p,p'-Dichloro-diphenyl-trichloroethane, DDT).

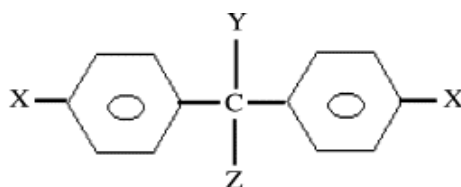
Το DDT κατά ονομασίας 1-χλωρο-4- [2,2,2-τριχλωρο-1- (4-χλωροφαινυλο) αιθυλο] βενζόλιο είναι χλωριούχος ένωση, ισχυρά τοξική. Το DDT παρασκευάστηκε το 1874 από τον Othmar Zeidler, ο οποίος δεν αναγνώρισε τις εντομοκτόνες ιδιότητές του. Η ανακάλυψη των εντομοκτόνων ιδιοτήτων του DDT και η χρήση του ως εντομοκτόνου έγινε πολύ αργότερα, κατά τη δεκαετία του 1930 από τον Paul Hermann Müller, χημικό της χημικής βιομηχανίας Geigy Pharmaceuticals στην Ελβετία κατά την έρευνά του για την καταπολέμηση των εντόμων της πατάτας και του σκώρου των ρούχων .



Εικόνα 1.10 Χημική Δομή DDT (1-χλωρο-4- [2,2,2-τριχλωρο-1- (4-χλωροφαινυλο) αιθυλο] βενζόλιο)

Από τα οργανοχλωριωμένα παρασιτοκτόνα, τα περισσότερα (με επικεφαλής το DDT) μοιράζονται αρκετές ιδιότητες-χαρακτηριστικά που πρέπει να αναφερθούν (Δελτίο Ελληνικής Μικροβιολογικής εταιρείας) :

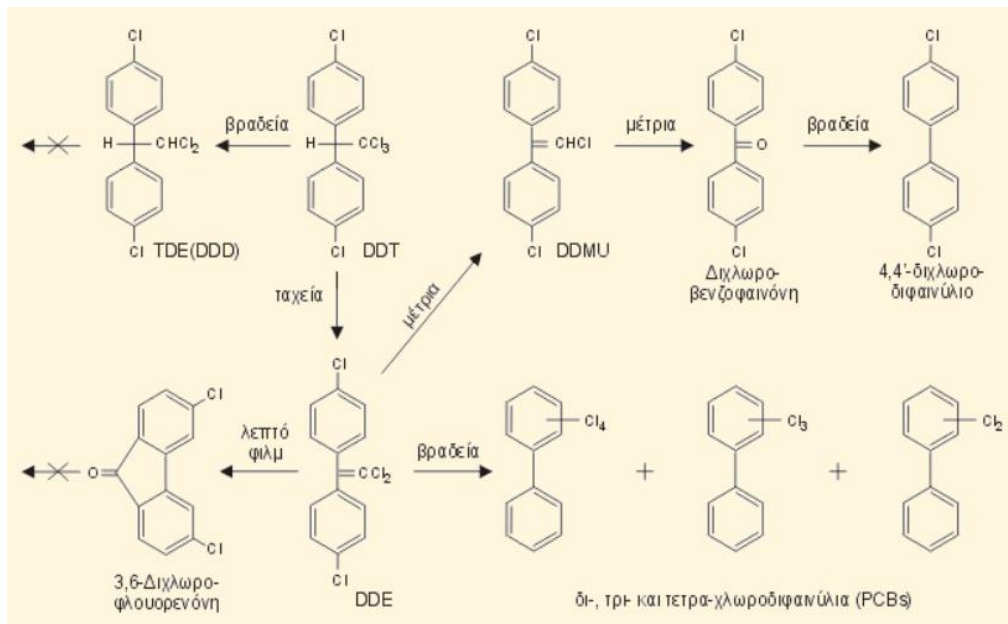
- I. Όπως αναφέρθηκε, η χρήση τους ξεκίνησε περί το 1930, κυρίως για την καταπολέμηση αρθροπόδων, βλαπτικών για την ανθρώπινη υγεία και τη φυτική παραγωγή (ανωφελείς κώνωπες, φθειρές, ακρίδες, μυρμηγκία).
- II. Μετά την εφαρμογή τους (κυρίως με ψεκασμό), δημιουργείται αερόλυμα (αεροζόλ), αλλά και εναπόθεση στα ζώα, τα φυτά ή τα υλικά-στόχους, με τελικούς αποδέκτες το έδαφος, τα γλυκά και τα αλμυρά ύδατα και, για μεγάλα διαστήματα, την ατμόσφαιρα (από τον αρχικό ψεκασμό ή λόγω επανόδου στην αέρια φάση μετά από ανάδευση ή θέρμανση / εξάτμιση υδάτων ή χώματος).
- III. Η διάσπασή τους στη φύση γίνεται με τη βοήθεια της υψηλής θερμοκρασίας (εικόνα 1.12), του υπεριώδους φωτός και ορισμένων μικροοργανισμών, καθώς και σε μεγαλοοργανισμούς που τα προσλαμβάνουν, είναι όμως χαρακτηριστικά βραδεία (έως αρκετές 10ετίες για ορισμένα). Αυτή η ιδιότητα, σε συνδυασμό με την κυκλική εναλλαγή άψυχων αποδεκτών (γλυκό νερό, θάλασσα, έδαφος, αέρας, με δυνατότητα μακράς ακτίνας διασποράς), αλλά και με την πρόσληψή τους -κυρίως μέσω της τροφής- από ποικίλους έμβιους οργανισμούς, στο λιπώδη ιστό των οποίων (ως λιποδιαλυτές ουσίες) συγκεντρώνονται, οδηγεί τελικά στην ευρύτατη παγκόσμια γεωγραφική κατανομή τους και στη βιοσυσσώρευση (συλλογή και «συμπύκνωση» στο σωματικό λίπος) και βιομεγέθυνση (αύξηση της συγκέντρωσής τους στους οργανισμούς που βρίσκονται υψηλότερα στην τροφική αλυσίδα, συμπεριλαμβανομένου του ανθρώπου) αυτών. Έτσι, αποτελούν «εκλεκτά» μέλη της ομάδας των επίμονων (ή Ανθεκτικών) Οργανικών Ρύπων (Persistent Organic Pollutants – POPs).



Name of Pesticide	X	Y	Z
DDT	Cl	H	CCl ₃
DDE	Cl	-	CCl ₂
DDD	Cl	H	CHCl ₂
DFDT	F	H	CCl ₃
Dicofol	Cl	OH	CCl ₃
Chlorobenzilate	Cl	OH	COOC ₂ H ₅
Bulan	Cl	H	CH(NO ₂)C ₂ H ₅
Prolan	Cl	H	CH(NO ₂)CH ₃
Dimite	Cl	OH	CH ₃
Perthane	C ₂ H ₅	H	CHCl ₂
Methoxychlor	OCH ₃	H	CCl ₃
Deutro DDT	Cl	D	CCl ₃

Εικόνα 1.11 Η χημική δομή του DDT και των ανάλογών του

Το DDT δρα στο νευρικό σύστημα και παράγει τοξικές επιδράσεις στους νευρικούς ιστούς και στα ενζυματικά συστήματα. Προφανώς ασκεί την τοξικότητά του συνδέοντας τη νευρική μεμβράνη και παρεμβαίνει στη μετάδοση των νευρικών παλμών, πιθανώς διαταράσσοντας την ισορροπία ιόντων νατρίου ή καλίου διαμέσου της νευρικής μεμβράνης. Επηρεάζει επίσης τις λειτουργίες που συνδέονται με τη μεμβράνη, όπως η οξειδωτική φωσφορυλίωση στα μιτοχόνδρια και η αντίδραση Hill στους χλωροπλάστες. Έχει ειδική δραστηριότητα στην αξονική μεμβράνη. Το DDT σχηματίζει ένα σύμπλοκο με τη διεπαφή λιποπρωτεΐνης της μεμβράνης. Ο Holan (1974) εξήγησε την εντομοκτόνο δράση ορισμένων αναλογών διαρυλαλογονικοκυκλοπροπανίου DDT, με βάση την ικανότητά τους να προσδένονται στη διεπαφή λιποπρωτεϊνών της αξονικής μεμβράνης. Όλα τα ενεργά μόρια θεωρούνται σφήνες, η βάση των οποίων αντιπροσωπεύεται ως DDT από τους δύο υποκατεστημένους φαινυλ δακτυλίους που πρέπει να περιέχουν ομάδες δότες ηλεκτρονίων. Η βάση της σφήνας σχηματίζει ένα σύμπλοκο με την πρωτεΐνη της αξονικής μεμβράνης. Η κορυφή της σφήνας περιλαμβάνει την ομάδα τριχλωρομεθυλίου. Το μέγεθος της κορυφής είναι κρίσιμο επειδή πρέπει να χωράει στον πόρο στο τμήμα λιπιδίων της μεμβράνης και για τη δραστηριότητα το μέγεθος της κορυφής πρέπει να αντιστοιχεί σε αυτό ενός ενυδατωμένου ιόντος νατρίου. Η σύνδεση δύο σημείων της σφήνας στη μεμβράνη κλειδώνει το μόριο στη θέση του, η οποία αυξάνει τη διαπερατότητα της νευρικής μεμβράνης στα ιόντα νατρίου, διαταράσσοντας την ιοντική βάση της φυσιολογικής μετάδοσης αξονικού νεύρου (Kaushik & Kaushik, 2007).

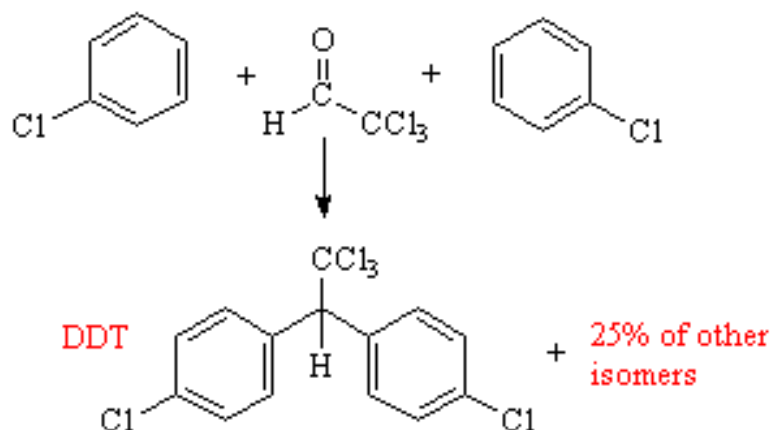


Εικόνα 1.12 Προϊόντα διάσπασης του DDT υπό την επίδραση ηλιακού φωτός.

Κατά την παρασκευή του DDT, παράγονται ανάλογα με τη θέση των ατόμων χλωρίου στα φαινύλια, τρία κυρίως ισομερή

- I. το pp ισομερές (πάρα-πάρα ισομερές),
- II. το op ισομερές (όρθο-πάρα ισομερές)
- III. το oo ισομερές (όρθο-όρθο ισομερές)

Εκτός από το χημικώς καθαρό DDT που χρησιμοποιείται μονάχα για επιστημονικούς σκοπούς, υπάρχουν και άλλες δύο ποιότητες DDT. Το καθαρό (Purified) που τήκεται στους 103°C και το τεχνικά καθαρό (Technical) που τήκεται στους 88°C και αποσυντίθεται στους 110°C. Το τεχνικά καθαρό DDT, από τα παραπάνω τρία ισομερή του DDT, περιέχει, σε πολύ μεγαλύτερη ποσότητα (63-77%) το pp ισομερές (χημικά καθαρό), το οποίο είναι κατά πολύ δραστικότερο και τοξικότερο των δύο άλλων, γι' αυτό και συνιστά το κύριο δραστικό στοιχείο για την παρασκευή των σκευασμάτων DDT (γεωργικών και οικιακών). Το χημικά καθαρό pp ισομερές DDT έχει τη μορφή άχρωμων βελονοειδών κρυστάλλων με σημείο τήξεως τους 108.5-109°C. Είναι σταθερή ένωση αλλά σε αλκαλικό περιβάλλον υδρολύεται απελευθερώνοντας HCl, που είναι διαβρωτικό. Επίσης η παρουσία σιδήρου (Fe) στα σκευάσματα DDT όπως και η επίδραση UV ακτινών (υπεριωδών) προκαλεί την διάσπασή του.



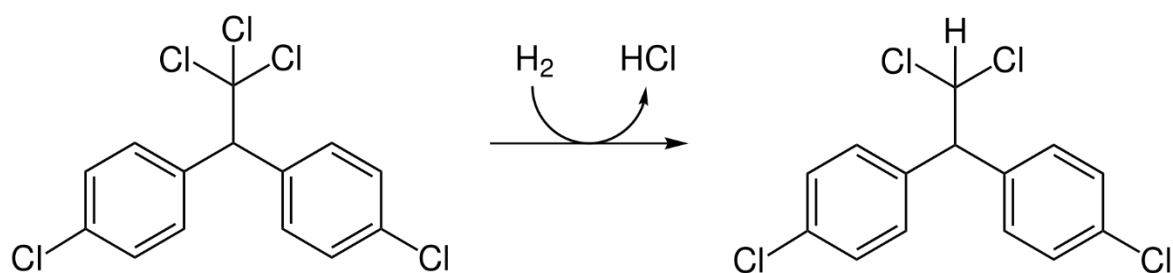
Εικόνα 1.13 Συνθετική πορεία του DDT

1.5.1.2 Διχλωροδιφαινυλοδιχλωροαιθάνιο (Dichlorodiphenyldichloroethane, DDD).

Το διχλωροδιφαινυλοδιχλωροαιθάνιο είναι ένας χλωριωμένος υδρογονάνθρακας που χρησιμοποιείται ως εντομοκτόνο. Το DDD είναι μεταβολίτης του DDT, περιέχει ένα άτομο χλωρίου λιγότερο από το DDT. Η ονομασία του προέρχεται από τα αρχικά γράμματα της χημικής ένωσης δίχλωρο-διφαινυλο-δίχλωρο αιθάνιο ενώ κατά IUPAC ονομάζεται 1-χλωρο-4-[2,2-διχλωρο-1-(4-χλωροφαινυλο) αιθυλο] βενζόλιο. Όπως συμβαίνει και με το DDT, το παρά-παρα ίσομερές του DDD, είναι κατά πολύ δραστικότερο και τοξικότερο των δύο άλλων ισομερών του. Το χημικά καθαρό π-π-ισομερές του DDD είναι στερεό κρυσταλλικό, άχρωμο και άοσμο, με σημείο τήξης τους 109-110°C. Παρουσιάζει μεγάλη διαλυτότητα στην ακετόνη και στη μεθυλική και αιθυλική κετόνη, μικρότερη όμως στους άλλους οργανικούς διαλύτες. Είναι αδιάλυτο στο νερό, όπως και το DDT. Είναι σταθερότερο από το DDT στην επίδραση των αλκαλίων και της υπεριώδους ακτινοβολίας .

Το DDD είναι στην ταξινόμηση « Ομάδα Β2 », που σημαίνει ότι είναι πιθανό καρκινογόνο για τον άνθρωπο . Αυτό βασίζεται σε αυξημένη συχνότητα εμφάνισης όγκων των πνευμόνων σε αρσενικά και θηλυκά ποντίκια , όγκους ήπατος σε αρσενικούς ποντικούς και όγκους θυρεοειδούς σε αρσενικούς αρουραίους .

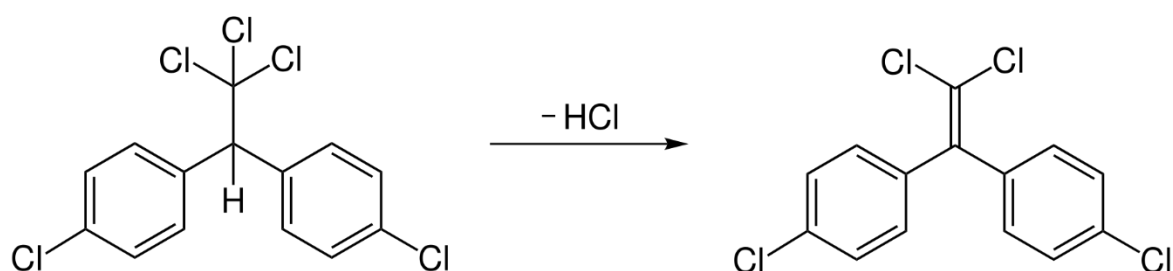
Το DDD δεν είναι πλέον εγγεγραμμένο για γεωργική χρήση στις Ηνωμένες Πολιτείες , αλλά ο γενικός πληθυσμός εξακολουθεί να εκτίθεται σε αυτόν λόγω του μεγάλου χρόνου επιμονής του. Η κύρια πηγή έκθεσης είναι η λήψη τροφής από το στόμα.



Εικόνα 1.14 Συνθετική πορεία DDD- Αναγωγική αποχλωρίωση του DDT για σχηματισμό DDD

1.5.1.3 Διχλωρο-διφαινυλο-διχλωροαιθυλένιο (Dichloro-diphenyl-dichloroethylene, DDE).

Το διχλωρο-διφαινυλο-διχλωροαιθυλένιο (DDE) , γνωστό κατά IUPAC ως 1,1-διχλωρο-2,2-δισ (4-χλωροφαινυλο) αιθένιο είναι μια χημική ένωση που σχηματίζεται από την απώλεια υδροχλωρίου (αφυδραλογόνωση) από το DDT (Εικόνα 1.15). Λόγω της μαζικής επικράτησης του DDT στην κοινωνία και τη γεωργία κατά τα μέσα του 20ου αιώνα, τα DDT και DDE εξακολουθούν να εμφανίζονται ευρέως σε δείγματα ζωικών ιστών (Walker et al., 2021). Το DDE είναι ιδιαίτερα επικίνδυνο επειδή είναι λιποδιαλυτό όπως και άλλα οργανοχλωρίδια . Έτσι, η απέκκριση του από το σώμα είναι πολύ αργή και οι συγκεντρώσεις τείνουν να αυξάνονται καθ 'όλη τη διάρκεια της ζωής. Έχει εκτιμηθεί ότι εάν η έκθεση σταματήσει εντελώς, θα χρειαστούν 10-20 χρόνια για να εξαφανιστεί το DDT από ένα άτομο, αλλά το DDE θα μπορούσε ενδεχομένως να παραμείνει καθ 'όλη τη διάρκεια ζωής (Bornman et al., 2010).



Εικόνα 1.15 Συνθετική πορεία DDE- Αποικοδόμηση του DDT για σχηματισμό DDE με αφυδραλογόνωση

1.5.2 Πηγές έκθεσης

Το DDT αρχικά έγινε γνωστό κατά τη χρήση του από αμερικανικά στρατεύματα το 1942-43 σε ελώδεις περιοχές της Ευρώπης και της Ασίας. Η πιο σημαντική επιτυχία της χρήσης του DDT υπήρξε η καταπολέμηση της επιδημίας του τύφου στην Νάπολη τον Ιανουάριο του 1944. Ένα εκατομμύριο κατοίκων ραντίσθηκε με το εντομοκτόνο και η επιδημία εξαφανίσθηκε. Ήταν η πρώτη φορά που μια παρασιτική ασθένεια σταμάτησε σε τόσο σύντομο διάστημα με την εφαρμογή χημικών εντομοκτόνων. Η φήμη του DDT επεκτάθηκε και με τη χρήση του για την καταπολέμηση της ελονοσίας στις μάχες του Νότιου Ειρηνικού, χωρίς να προκαλεί συμπτώματα στα στρατεύματα που ραντίζονταν με την άσπρη σκόνη. Μετά το 1945 το DDT άρχισε να χρησιμοποιείται συστηματικά στην καταπολέμηση των κουνουπιών και άλλων εντόμων στην Ευρώπη, στην Ινδία, τη σημερινή Σρι Λάνκα και την Νότιο Αμερική. Το 1955 η Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας (ΠΟΥ) άρχισε να χρησιμοποιεί το DDT ευρύτατα για την καταπολέμηση της ελονοσίας σε όλο τον κόσμο λόγω της αποτελεσματικότητας και της εύκολης και φθηνής εφαρμογής του.

Το 2001 προωθήθηκε η Διεθνής Σύμβαση για την απαγόρευση της χρήσης 12 μη βιοδιασπάσιμων πολυχλωριωμένων ενώσεων (ή επίμονων οργανικών ρύπων, γνωστών ως "Dirty Dozen") (Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants, POPs). Μεταξύ των ουσιών αυτών είναι και το DDT. Διάφορες οργανώσεις για την καταπολέμηση παρασιτικών ασθενειών και ιδιαίτερα της ελονοσίας αντιστάθηκαν στην ολοκληρωτική απαγόρευση του DDT και ζήτησαν την εξαίρεση για ψεκασμούς σε εσωτερικό σπιτιών και σε περιοχές με υψηλά ποσοστά επιδημίας ελονοσίας. Πολλές περιβαλλοντικές

οργανώσεις (όπως η Greenpeace) αρνήθηκαν τις εξαιρέσεις με τη αιτιολογία ότι, έστω και μειωμένη χρήση του, θα μπορούσε να αποτελέσει κακό προηγούμενο, ενώ άλλες όπως η Environmental Defense (πρωτοστάτησε στην κατάργηση του DDT στις ΗΠΑ) και το Sierra Club, υποστήριξαν την εξειδικευμένη χρήση του DDT σε εσωτερικά σπιτιών και σε περιοχές με επιδημίες. Τη θέση των διεθνών οργανισμών για την εξαίρεση του DDT υποστήριξαν η Malaria Foundation International και η Roll Back Malaria (RBM) που ξεκίνησε η ΠΟΥ το 1998 (υποστηριζόμενη από τις UNICEF, World Bank και United Nations Development Programme). Την εκστρατεία υπεστήριξαν 400 γνωστά ονόματα (συμπεριλαμβανομένων πολλών τιμημένων με βραβείο Νόμπελ), γνωστοί γιατροί από όλο τον κόσμο και το έγκυρο ιατρικό περιοδικό Lancet με κύρια άρθρα. Τελικά το Σεπτέμβριο του 2006 η ΠΟΥ, μετά από εμπειρισταμένη μελέτη για τα υπέρ και κατά της χρήσης του DDT, κατέληξε στην απόφαση να επιτρέψει τη χρήση DDT σε ραντίσματα εσωτερικών σπιτιών και κοινόχρηστων χώρων σε χώρες που μαστίζονται από την ελονοσία, όπως και εναντίον σμηνών κουνουπιών που εμφανίζονται ορισμένες εποχές.

Βάση μιας έρευνας στην Ελλάδα, η οποία πραγματοποιήθηκε από το Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων έχει παρατηρηθεί πως παρά την απαγόρευση των DDTs, τα νερά ορισμένων λιμνών και ποταμών της Ελλάδας παραμένουν μολυσμένα. Η ύπαρξη των εντομοκτόνων γενιάς DDT σε ποταμούς και λίμνες της Βόρειας Ελλάδας εξηγείται, εν μέρει, από την μεγάλη ανθεκτικότητά τους, αλλά και από την διασυννοριακή ρύπανση από γειτονικές χώρες (Konstantinou et al., 2006).

Οι κύριες πηγές έκθεσης σε DDT, DDE, DDT σήμερα είναι (ATSDR Division of Toxicology & Human Sciences, 2002) :

- Από μολυσμένη τροφή, όπως λαχανικά, λιπαρά κρέατα, ψάρια και πουλερικά (αλλά τα επίπεδα συγκέντρωσης είναι χαμηλά)
- Από τροφές που εισάγονται από χώρες που επιτρέπουν την χρήση των DDTs
- Μέσω μολυσμένου αέρα ή πόσιμου νερού (από νερό κοντά σε χώρους με απόβλητα και χώρους υγειονομικής ταφής)
- Τα νεογνά εκθέτονται μέσω του μητρικού γάλακτος (στην περίπτωση που οι μητέρες έχουν εκτεθεί)
- Αναπνοή ή κατάποση σωματιδίων εδάφους κοντά σε χώρους αποβλήτων ή χώροι υγειονομικής ταφής που περιέχουν αυτές τις χημικές ουσίες

1.5.3 Επιπτώσεις στην υγεία.

1.5.3.1 Επιπτώσεις στην υγεία του ανθρώπου.

Οι έρευνες για την τοξικότητα του DDT στον άνθρωπο είναι αντιφατικές αφού θετικά και αρνητικά αποτελέσματα έχουν ταυτόχρονα καταγραφεί. Η χρόνια έκθεση άνω των 60 ετών σε χαμηλές δόσεις για την καταπολέμηση της ελονοσίας δεν έδειξε τοξικότητα εκτός από μερικές περιπτώσεις δηλητηρίασης από κατάποση. Αν και έχουν γίνει πειράματα σε πειραματόζωα για καρκινογόνο δράση τα αποτελέσματα δεν επιβεβαιώνονται. Το International Agency for Research on Cancer (IARC) μετά από ανασκόπηση των ερευνών σε πειραματόζωα το κατέταξε στην ομάδα 2B (πιθανό καρκινογόνο), τα πειράματα του US National Toxicology Program (NTP) έδωσαν αμφισβητούμενα αποτελέσματα, βρήκαν ότι δεν είναι μεταλλαξιογόνο. Η NOAEL (δόση με μη παρατηρούμενο αρνητικό αποτέλεσμα) για καρκινογένεση στον άνθρωπο καθορίστηκε σε 6.2 (mg/Kg)/ημέρα για τον

άνθρωπο (αρκετά υψηλή όταν δεχθούμε ότι η έκθεση σε απλά ραντίσματα ή με τη διατροφή ρυπασμένων τροφών είναι κατά πολύ μικρότερη).

Άλλες έρευνες προσπάθησαν να συσχετίσουν την παρουσία μικρών ποσοτήτων DDT και μεταβολιτών του στο λιπαρό ιστό του μαστού γυναικών και του καρκίνου του μαστού. Μία έρευνα έδειξε θετική συσχέτιση, αλλά η ομάδα των συμμετεχόντων στην έρευνα ήταν μικρή, αντίθετα με πολυάριθμες νεότερες έρευνες που ακολούθησαν και δεν βρήκαν καμία συσχέτιση. Επίσης εξετάστηκαν καρκίνοι του παγκρέατος, πολλαπλό μυέλωμα, κ.λπ. και πάλι δεν βρέθηκε θετική συσχέτιση.

Το DDT θεωρείται ως ένας ενδοκρινικός διαταράκτης (William, 1995), παρότι η δράση του είναι αρκετά χαμηλή. Το DDE δρα ως ασθενής ανταγωνιστής των υποδοχέων ανδρογόνων, αλλά όχι των οιστρογόνων (William R. Kelce, 1995). Το p, p' -DDT, το κύριο συστατικό του DDT, έχει μικρή ή καθόλου ανδρογόνο ή οιστρογονική δραστηριότητα (Cohn et al., 2007), ενώ το δευτερεύον συστατικό o, p' -DDT έχει ασθενή οιστρογονική δραστηριότητα.

Το DDT είναι εντομοκτόνο επειδή αναστέλλει την επαναπόλωση των νευρώνων (επάνοδος στο δυναμικό ηρεμίας). Οι εκδηλώσεις δηλητηρίασης DDT στον άνθρωπο προκύπτουν από τον ίδιο μηχανισμό. Τα συμπτώματα της δηλητηρίασης περιλαμβάνουν περιφερική και γλωσσική παραισθησία, φόβο, υπερευαισθησία σε ερεθίσματα, ευερεθιστότητα, ζάλη, ίλιγγος, τρόμο και σπασμούς (Longnecker et al., 1997). Υψηλές ποσότητες DDT μπορούν να προκαλέσουν επίσης, τοπική νέκρωση των κυττάρων του συκωτιού.

Σε γενικές γραμμές, η τοξικότητα του DDT στον άνθρωπο δεν είναι τόσο υψηλή και η καρκινογόνος και η ενδοκρινική του δράση σε τόσο επικίνδυνο επίπεδο που να δικαιολογεί την απαγόρευση του. Η απαγόρευση ήταν αποτέλεσμα κυρίως των προβλημάτων περιβαλλοντικής τοξικότητας που εντοπίστηκε και της μακροχρόνιας βιοσυσσώρευσης και βιομεγέθυνσης σε λιπαρούς ιστούς των οργανισμών. Η τοξικότητα στον άνθρωπο βρίσκεται στα επίπεδα πολλών επιτρεπόμενων χημικών ενώσεων και εξαιρετικά χαμηλότερη για παράδειγμα από τον καπνό του τσιγάρου και το βενζόλιο που προστίθεται στα καύσιμα.

1.5.3.2 Επιπτώσεις στην υγεία μητέρας- νεογνού.

Αρκετές έρευνες έχουν διαπιστώσει πως το DDT και οι μεταβολίτες εξαιτίας της χημικής τους σταθερότητας, μπορεί να μεταφέρεται από τη μία γενιά στην άλλη, μέσω του πλακούντα της μητέρας και του θηλασμού (Chang et al., 2010). Κατά τη διάρκεια της παραγωγής μητρικού γάλακτος, το ανθρώπινο σώμα χρησιμοποιεί λιπίδια από τον λιπώδη ιστό και, στη συνέχεια, τα συσσωρευμένα POP από τον λιπώδη ιστό μπορούν να μεταναστεύσουν στο μητρικό γάλα. Επομένως, ενώ παράλληλα παρέχει τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά για τη σωστή ανάπτυξη του βρέφους, το ανθρώπινο γάλα αποτελεί επίσης πηγή λιπόφιλων περιβαλλοντικών ρύπων (Vall et al., 2014).

Ερευνητές υποστήριξαν πως τα υψηλότερα επίπεδα p, p' -DDE στο μητρικό γάλα συσχετίζονται με την μικρότερη διάρκεια γαλουχίας (Gladen & Rogan, 1995.). Μητέρες με υψηλότερα επίπεδα 1,1-διχλωρο-2,2-δισ (p -χλωροφαινυλ) αιθυλενίου (DDE) (το κύριο προϊόν αποικοδόμησης του 1,1,1-τριχλωρο-2,2-δισ (4-χλωροφαινυλ) αιθανίου (DDT)) σταμάτησαν να θηλάζουν τα παιδιά τους νωρίτερα από εκείνα με χαμηλότερα επίπεδα έκθεσης σε προηγούμενες μελέτες (Gladen and Rogan 1995 ; Karmaus et al. 2005 ; Rogan et al. 1987). Ωστόσο, μεταγενέστερες έρευνες βρήκαν πως η σχέση αυτή εμφανίζεται μόνο σε γυναίκες που είχαν θηλάσει και στο παρελθόν, γεγονός που

πιθανώς αντικατοπτρίζει έναν μη αιτιώδη μηχανισμό. Εάν η συσχέτιση μεταξύ της DDT και της διάρκειας του θηλασμού ήταν αιτιώδης, θα έπρεπε επίσης να υπάρχει μεταξύ των γυναικών που δεν είχαν θηλάσει ποτέ (Cupul-Uicab et al., 2008).

Μεταξύ των κύριων τοξικών επιδράσεων που σχετίζονται με την DDT και ορισμένους από τους μεταβολίτες της, είναι οι μεταβολές στην αναπαραγωγή και την ανάπτυξη του εμβρύου. Οι πρώτες τοξικές επιδράσεις του DDT αναφέρθηκαν σε ζώα και άμεσα σε σχέση με την αναπαραγωγή ορισμένων ειδών. Στις αρχές της δεκαετίας του '60, η Raquel Carson στο βιβλίο της *The Silent Spring* επέστησε την προσοχή στη μείωση του αριθμού των πουλιών, ως συνέπεια της ευθραυστότητας των αυγών. Στη συνέχεια, ακολούθησαν άλλες αναφορές σχετικά με τη θηλυκοποίηση αρσενικών σαυρών στη λίμνη Αροκκα στη Φλόριντα 44, πρόωρες γεννήσεις σε 45 κουνέλια και 46 θαλάσσια λιοντάρια που εκτέθηκαν σε αυτήν την ένωση. Αρκετές μελέτες στους ανθρώπους, έχουν συσχετίσει την έκθεση σε DDE με δυσμενείς επιπτώσεις στη λειτουργία των όρχεων (μείωση του αριθμού των σπερματοζωαρίων, του όγκου του σπέρματος και της κινητικότητας του σπέρματος, καθώς και αύξηση του ποσοστού των αλλαγμένων μορφών). Όσο αφορά το γυναικείο αναπαραγωγικό σύστημα, παρά τις υποψίες πως τα DDTs προκαλούν αρνητικές επιπτώσεις στον τοκετό (αποβολές, πρόωρη κύηση), τα δεδομένα μέχρι στιγμής δεν επιβεβαιώνουν αυτή τη συσχέτιση.

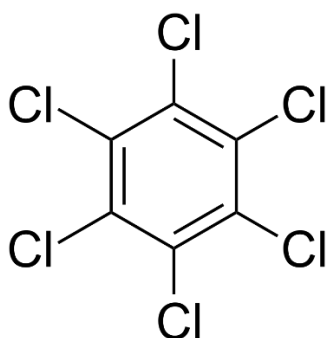
Δεν υπάρχουν μελέτες σχετικά με τις επιπτώσεις στην υγεία των παιδιών εκτεθειμένοι σε DDT, DDE ή DDD. Μπορούμε να υποθέσουμε ότι τα παιδιά που έχουν εκτεθεί σε μεγάλες ποσότητες DDT θα έχουν παρόμοιες επιπτώσεις στην υγεία με αυτές που παρατηρούνται σε ενήλικες. Ωστόσο, δεν γνωρίζουμε εάν τα παιδιά διαφέρουν από τους ενήλικες στην ευαισθησία τους σε αυτές τις ουσίες. Μελέτες σε αρουραίους έδειξαν ότι το DDT και το DDE μπορούν να μιμηθούν την δράση των φυσικών ορμονών και με αυτόν τον τρόπο επηρεάσουν την ανάπτυξη του αναπαραγωγικού και νευρικού συστήματος. Η εφηβεία καθυστέρησε σε αρσενικούς αρουραίους που έλαβαν υψηλές ποσότητες DDE ως ανήλικοι. Αυτό θα μπορούσε πιθανώς να συμβεί στους ανθρώπους. Μια μελέτη σε ποντίκια έδειξε ότι η έκθεση σε DDT κατά τη διάρκεια των πρώτων εβδομάδων της ζωής τους μπορεί να προκαλέσουν νευρο-συμπεριφορικά προβλήματα αργότερα στη ζωή. Εν τούτοις, δεν έχει διαπιστωθεί ακόμη αν τα DDTs δρουν αντίστοιχα στους ανθρώπους (ATSDR Division of Toxicology & Human Sciences, 2002).

1.6 Εξαχλωροβενζόλιο (Hexachlorobenzene, HCB).

1.6.1 Σύνθεση και ιδιότητες.

Hexachlorobenzene, ή perchlorobenzene, είναι μια οργανοχλωριωμένη ένωση με μοριακό τύπο C_6Cl_6 . Είναι ένα μυκητοκτόνο που χρησιμοποιούνταν παλαιότερα ως επεξεργασία σπόρων, ειδικά στο σιτάρι. Το HCB είναι ένα λευκό κρυσταλλικό στερεό που έχει αμελητέα διαλυτότητα στο νερό (0.0000002 M). Είναι πιο διαλυτό σε αλογονωμένους διαλύτες όπως το χλωροφόρμιο (περίπου 0.03 M), λιγότερο διαλυτό σε εστέρες και υδρογονάνθρακες (περίπου 0.020 M), και ακόμη λιγότερο διαλυτό σε αλκοόλες βραχείας αλυσίδας (0.002-0.006 M). Είναι αρκετά πτητικό και μπορεί κατά συνέπεια να μετακινείται εύκολα μέσω της ατμόσφαιρας. Είναι πολύ ανθεκτικό στη βιοδιάσπαση, έχοντας έναν υψηλό συντελεστής Kow που κυμαίνεται από 3.03-6.42, που του επιτρέπει την μεγάλη

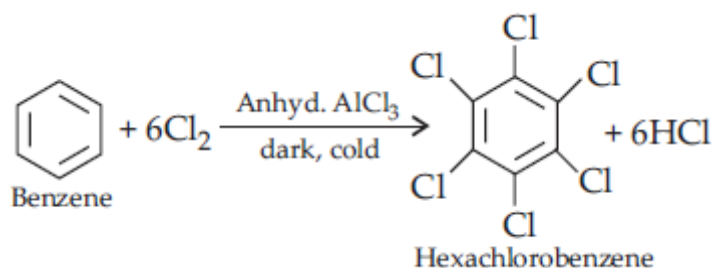
συσσώρευση του στο ζωικό λίπος. Το εξαχλωροβενζόλιο διαμορφώνεται κατά τη διάρκεια της αντικατάστασης της υγρής φάσης του χλωρίου και του βενζολίου, με έναν καταλύτη οξειδίων του σιδήρου, σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες από 150°C.



Εικόνα 1.16 Χημική δομή Εξαχλωροβενζολίου

Το εξαχλωροβενζόλιο απορροφάται ελαφρώς στο γαστρεντερικό σωλήνα αλλά διανέμεται εύκολα στο σώμα, κατά προτίμηση στους λιπαρούς ιστούς. Περνά επίσης εύκολα από τον πλακούντα. Το εξαχλωροβενζόλιο συμπυκνώνεται στο γάλα. Μεταβολίζεται από μικροσωμικά ένζυμα στο ήπαρ, στα νεφρά, στους πνεύμονες και στο έντερο. Το εξαχλωροβενζόλιο μεταβολίζεται αργά από το ήπαρ σε πενταχλωροφαινόλη, πενταχλωροβενζόλιο, τετραχλωροβενζόλιο και μερικές μη αναγνωρισμένες ενώσεις. Στους ανθρώπους, το εξαχλωροβενζόλιο απεκκρίνεται κυρίως στα ούρα ως μεταβολίτες του, πενταχλωροφαινόλη και πενταχλωροθειοφαινόλη. Σε ζώα, το εξαχλωροβενζόλιο που απορροφάται από το στόμα απεκκρίνεται, ως επί το πλείστον αμετάβλητο, στα κόπρανα (Starek-Świechowicz et al., 2017)

Το εξαχλωροβενζόλιο, σύμφωνα με την συνθήκη της Στοκχόλμης, απαγορεύεται σε όλα τα συμβαλλόμενα μέρη με εξαίρεση την παραγωγή του στα κράτη που έχουν εναρμονιστεί στο μητρώο ειδικών εξαιρέσεων ενώ η χρήση του επιτρέπεται μόνο στα παραπάνω κράτη ως ενδιάμεσο προϊόν για άλλες ενώσεις και ως οργανικός διαλύτης για την παραγωγή άλλων φυτοφαρμάκων (Ritter et al., 1995a).



Εικόνα 1.17 Σύνθεση εξαχλωροβενζολίου – Το βενζόλιο αντιδρά με περίσσεια χλωρίου παρουσία άνυδρου $AlCl_3$

1.6.2. Πηγές έκθεσης.

Το HCB χρησιμοποιήθηκε έως το 1965 (ΗΠΑ) ως παρασιτοκτόνο – μυκητοκτόνο (σιτάρι, κριθάρι, βρόμη, σίκαλη) και ως απολυμαντικό σε σαπούνια. Παράλληλα χρησιμοποιήθηκε στην κατασκευή βεγγαλικών, πυρομαχικών και συνθετικού ελαστικού (Δελτίο Ελληνικής Μικροβιολογικής Εταιρείας Τόμος 52, Τεύχος 6, 2007). Επί του παρόντος, δεν υπάρχουν εμπορικές χρήσεις για το εξαχλωροβενζόλιο. Ωστόσο, μπορεί να σχηματίζεται ως ένα παραπροϊόν κατά την παρασκευή διαλυτών, φυτοφαρμάκων, καθώς και άλλων ενώσεων που περιέχουν χλώριο. Μικρές ποσότητες μπορούν επίσης να παραχθούν κατά τις διεργασίες καύσεως, όπως η καύση των αποβλήτων. Μπορεί να βρεθεί στον αέρα (ημιζωή 0.63 – 6.28 έτη), στο έδαφος (ημιζωή 3 – 6 έτη), σε φυτά, σε επιφανειακά ύδατα (ημιζωή 5.3 – 11.4 έτη), στο ίζημα γλυκών νερών (ημιζωή 2.7 – 5.7 έτη) και σε τρόφιμα (CDC-ATSDR). Η έκθεση του ανθρώπου γίνεται κυρίως με τις τροφές (λαχανικά, ψάρια, οστρακοειδή, γαλακτοκομικά), το πόσιμο νερό, τον αέρα και σε ιδιαίτερο κίνδυνο βρίσκονται οι εργαζόμενοι στα σχετικά εργοστάσια και οι κάτοικοι των γύρω περιοχών. Νεογέννητα εκτίθενται λόγω της μεταφοράς HCB μέσω του πλακούντα και με το θηλασμό λόγω της λιποφιλίας του (Reed L et al, 2007).

1.6.3. Επιπτώσεις στην υγεία.

1.6.3.1. Επιπτώσεις στην υγεία του ανθρώπου.

Συνοπτικά, το HCB (σε υψηλές συγκεντρώσεις) έχει κατηγορηθεί πως μπορεί να προκαλέσει :

- Δερματικά εξανθήματα
- Νευρικό σύστημα (πχ. επιληπτικές κρίσεις, υπερδιέγερση, σπασμούς)
- Εμετός και ναυτία
- Αιματολογικές επιπτώσεις
- Νευροχημικές μεταβολές στον εγκέφαλο
- Μεταβολές συμπεριφοράς σε ενήλικα ζώα και απογόνους
- Μειωμένος αριθμός ερυθρών και λευκών αιμοσφαιρίων και αιμοσφαιρίνης
- Αύξηση δραστηριοτήτων των ενζύμων
- Νέκρωση του ήπατος και εκφυλισμός
- Εμβρυοτοξικότητα
- Αναπαραγωγικό σύστημα (πχ. αλλαγές στους όρχεις και στο σπέρμα των αρρένων)
- Συσχέτιση με την ασθένεια non Hodgkin's lymphoma

Οι επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία από το HCB σε χαμηλές περιβαλλοντικές δόσεις ή σε επίπεδα βιοπαρακολούθησης από χαμηλές περιβαλλοντικές εκθέσεις είναι άγνωστες. Μελέτες χρόνιας σίτισης σε ζώα έχουν δείξει πως η έκθεση σε HCB μπορεί να προκαλέσει προβλήματα στα νεφρά, ανοσολογικές ανωμαλίες, τοξικότητες στην αναπαραγωγή και την ανάπτυξη, και καρκίνους του ήπατος και του θυρεοειδούς (ATSDR, 2002). Τα περισσότερα δεδομένα σχετικά με τις επιδράσεις του HCB στον άνθρωπο προέρχονται από δηλητηριάσεις που έλαβαν χώρα στην Τουρκία το 1955-1959. Το HCB παρεμποδίζει τη φυσιολογική σύνθεση αίμης. Συγκεκριμένα, η HCB θεωρείται πως μειώνει την δραστηριότητα της αποκαρβοξυλάσης ουροπορφυρινογόνου (UROD), οι ανωμαλίες αυτές στο αίμα είναι γνωστές ότι προκαλούν porphyria cutanea tarda (PCT) (Casadó et al., 2019; Ritter et al., 1995b). Η χρόνια στοματική έκθεση σε ανθρώπους έχει αποδειχθεί ότι προκαλεί ηπατική νόσο, δερματικές αλλοιώσεις με αποχρωματισμό, έλκος, επιδράσεις του θυρεοειδούς, επιδράσεις στα

οστά και απώλεια μαλλιών. Νευρολογικές αλλαγές έχουν αναφερθεί σε τρωκτικά που εκτίθενται σε εξαχλωροβενζόλιο (Ritter et al., 1995a).

Μελέτες σε ζώα δείχνουν ότι η κατανάλωση τροφών με εξαχλωροβενζόλιο για μήνες ή χρόνια μπορεί να προκαλέσει καρκίνο του ήπατος, των νεφρών και του θυρεοειδούς. Το Υπουργείο Υγείας και Ανθρωπίνων Υπηρεσιών (DHHS), το EPA και ο Διεθνής Οργανισμός Έρευνας για τον Καρκίνο (IARC) έχουν κατατάξει το HCB στην κατηγορία «πιθανώς καρκινογόνο» για τον άνθρωπο.

1.6.3.2. Επιπτώσεις στην υγεία μητέρας- νεογνού.

Τα βρέφη και τα μικρά παιδιά φάνηκαν να είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα στις επιδράσεις του εξαχλωροβενζολίου κατά την Τουρκική επιδημία δηλητηρίασης από σιτηρά. Τα βρέφη τα οποία θηλάζονταν από μητέρες οι οποίες είχαν εκτεθεί σε μεγάλες ποσότητες HCB μέσω της τροφής ανέπτυξαν μια δερματική διαταραχή γνωστή ως “pink sore”. Η διαταραχή αυτή, σε αρκετές περιπτώσεις ήταν θανατηφόρα. Ορισμένες μελέτες αξιολόγησαν πιθανές συσχετίσεις μεταξύ των επιπέδων HCB στον μητρικό όρο με το μέγεθος του νεογνού (βάρους και / ή μήκος), τον πρόωρο τοκετό, την αποβολή και την σεξουαλική ωρίμανση. Αν και οι περισσότερες μελέτες δεν εμφάνισαν κάποια σχέση μεταξύ των επιπέδων εξαχλωροβενζολίου στο μητρικό ορό και των αναπτυξιακών επιδράσεων, υπάρχει κάποια ένδειξη ότι το εξαχλωροβενζόλιο στο αίμα νεαρών αγοριών και κοριτσιών μπορεί να προκαλέσει αλλαγές στα επίπεδα των φυλετικών ορμονών (Atsdr, 2002).

Το HCB θεωρείται δυνητικά νευροτοξικό, διαταράσσοντας τη σύνθεση και τη δραστηριότητα των νευροδιαβιβαστών και την οργάνωση του αναπτυσσόμενου εγκεφάλου, κυρίως μέσω αλλαγών σε βασικές διαδικασίες κυτταρικής σηματοδότησης και ενδοκρινικές λειτουργίες (Kyriklaki et al., 2016 ; Langer, 2008 ; Jeddy et al., 2018). Η λειτουργία του θυρεοειδούς έχει καθοριστικό ρόλο στην ωρίμανση του εγκεφάλου και την ανάπτυξη σε ανθρώπους (Vivarez-Pedrerol et al., 2008 ; Chevrier et al., 2008 ; Berg et al., 2016 ; Schell and Gallo, 2010). Ορισμένες μελέτες σε νεογέννητα με συγγενή υποθυρεοειδισμό ανέφεραν συσχετισμό των επιπέδων θυρεοειδικών ορμονών (μειωμένα T3 ή T4 ή αυξημένες συγκεντρώσεις TSH) κατά τη γέννηση με τις υψηλές συγκεντρώσεις HCB στον ομφάλιου λώρου και την νευροαναπτυξιακή ανεπάρκεια (Kim et al., 2015 ; Li et al., 2014). Οι περισσότερες μελέτες εντόπισαν τουλάχιστον μία νευροαναπτυξιακή επίδραση που οφείλεται στην πρώιμη έκθεση σε HCB (Korrlick and Sagiv, 2008 ; Sala et al., 2001 ; Eskenazi et al., 2009 ; Ribas-Fitó et al., 2001 , 2003a , 2007 ; Gascon et al., 2013 ; Hardell et al., 2001 ; Chevrier et al., 2008 ; Kyriklaki et al., 2016 ; Kim et al., 2013 ; Nagayama et al., 2007). Πράγματι, μια μελέτη που πραγματοποιήθηκε από τους Kyriklaki et al. (2016) σε μια ομάδα μητέρων-παιδιών της Κρήτης (Ελλάδα) παρατήρησε ότι τα παιδιά των οποίων οι μητέρες είχαν υψηλές συγκεντρώσεις HCB στον ορό, παρουσίασαν μειωμένες βαθμολογίες στην αντιληπτική απόδοση, στην εκτελεστική λειτουργία και στην μνήμη εργασίας (Kyriklaki et al., 2016).

1.7. Τρίχα

Η τρίχα θεωρείται μη συμβατική βιολογική μήτρα σε σχέση με τις πιο συχνά αναλυόμενες βιολογικές μήτρες όπως το αίμα και τα ούρα. Οι τρίχες δίνουν τη δυνατότητα για πληροφορίες που αφορούν σχετικά μεγάλο χρονικό διάστημα, π.χ. εβδομάδες ή μήνες. Επειδή δε οι ουσίες είναι εγκλωβισμένες στο εσωτερικό της τρίχας, δεν απομακρύνονται με τις συνήθεις διαδικασίες υγιεινής και γι' αυτόν το λόγο θεωρούνται και ως ημερολόγια της έκθεσης σε αυτές. Ένα δείγμα τρίχας που θα ληφθεί μετά

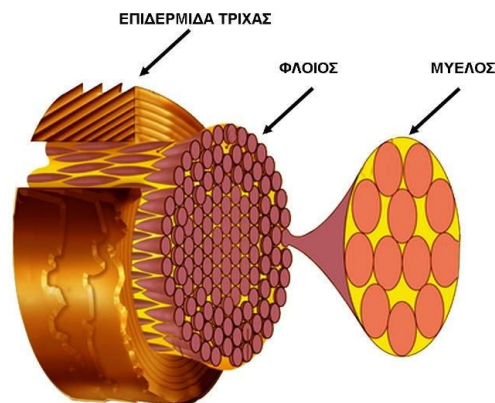
από μερικές μέρες από το πρώτο δείγμα, θα είναι σχεδόν πανομοιότυπο. Συνιστάται η πλήση τους πριν την ανάλυση, καθώς και η χρήση των λόγων αρχικής ένωσης/μεταβολίτες. Η εξέταση των δειγμάτων τρίχας είναι μια διαδικασία ρουτίνας σε μια ποικιλία εφαρμογών, ωστόσο, συνδέεται, με έναν αριθμό αβεβαιότητας . Σε περιπτώσεις χρήσης προϊόντων και διαδικασιών περιποίησης των μαλλιών όπως π.χ. βαφή, λεύκανση, περμανάντ, ίσιωμα, οι ενσωματωμένες ουσίες μπορεί να ανοικοδομηθούν ή να απομακρυνθούν.

Η συγκέντρωση της εκάστοτε ουσίας στην τρίχα εξαρτάται από:

- Τη δοσολογία της ουσίας η οποία εισήλθε στον οργανισμό (όσο μεγαλύτερη είναι η συγκέντρωση της ουσίας τόσο μεγαλύτερο είναι και το χρονικό διάστημα που θα είναι ανιχνεύσιμη στην τρίχα).
- Την απόσταση από τη ρίζα της τρίχας
- Την πολικότητα του φαρμάκου
- Τη φάση ανάπτυξης της τρίχας. Υπάρχουν τρεις φάσεις ανάπτυξης: η αναγενής φάση (περίοδος ανάπτυξης της τρίχας που διαρκεί 2 έως 6 χρόνια), η καταγενής φάση (περίοδος κατά την οποία η τρίχα αρχίζει να αλλοιώνεται/αδρανοποιείται και διαρκεί 1 έως 2 εβδομάδες) και η τελογενής φάση (περίοδος κατά την οποία απομακρύνονται οι παλιές/αδρανοποιημένες τρίχες και διαρκεί 3 έως 4 μήνες) (WebMD, 2010).
- Το ρυθμό ανάπτυξης της τρίχας που σχετίζεται με πιθανές φαρμακευτικές αγωγές, το φύλο, την ηλικία ή τις εποχιακές διακυμάνσεις.

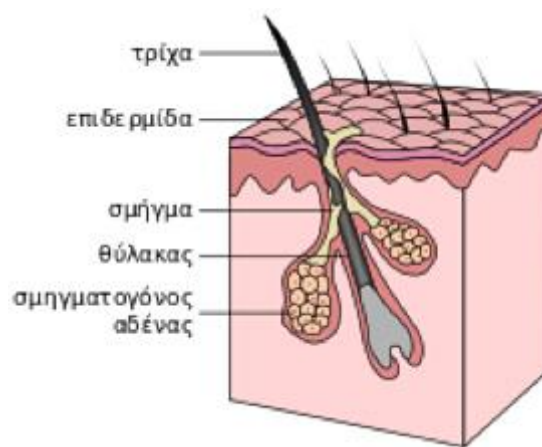
Το κύριο συστατικό της τρίχας είναι η κερατίνη η οποία είναι πρωτεΐνη. Η τρίχα αποτελείται από δύο ευδιάκριτες δομές:

1 Το Εξωτερικό ή ορατό τμήμα που ονομάζεται στέλεχος. Πρόκειται για ένα μακρύ, λεπτό κύλινδρο που καλύπτεται από κύτταρα, τα οποία είναι δεμένα μεταξύ τους και αποτελούνται από 3 στοιβάδες: τη μυελώδη, που είναι η εσωτερική στοιβάδα της τρίχας, έχει σπογγώδη πυκνότητα και αποτελείται από έναν αριθμό κυττάρων τα οποία είναι το ένα δίπλα στο άλλο σε σειρές που διαχωρίζονται από κενά αέρα, το φλοιό, που είναι η δεύτερη στοιβάδα και η οποία αποτελείται από κύτταρα που περιέχουν κερατίνη και μελανίνη, τη χρωστική που καθορίζει το χρώμα των μαλλιών και την επιδερμίδα, η οποία είναι η εξωτερική, ορατή στοιβάδα που αποτελείται από κύτταρα τα οποία μοιάζουν με λέπια και περιέχουν κερατίνη, έχει μορφή κεραμιδιών και εσωκλείει τη μυελώδη στοιβάδα και το φλοιό. Η επιδερμίδα είναι η βασική στοιβάδα του στελέχους.



Εικόνα 1.18 Σχηματική απεικόνιση του εξωτερικού τμήματος

2. Το Εσωτερικό τμήμα, που βρίσκεται σε μία κοιλότητα η οποία ονομάζεται τριχοφόρος θύλακας ή σμηγματογόνος θύλακας. Το τμήμα αυτό αποτελείται από: τη ρίζα, που είναι το τμήμα της τρίχας το οποίο είναι “βυθισμένο” στο ανώτερο τμήμα του θύλακα και το βολβό, ο οποίος είναι το κατώτερο τμήμα του τριχοφόρου θύλακα που έχει ένα διεσταλμένο ωοειδές σχήμα. Όλη η διαδικασία της ανάπτυξης που οδηγεί στη σύνθεση της δομής της τρίχας, συμβαίνει στο σημείο αυτό. Στο εσωτερικό υπάρχει, επίσης, ο επιθηλιακός ιστός ή ιστός της ρίζας ο οποίος είναι πλούσιος σε αιμοφόρα αγγεία που οξυγονώνουν, θρέφουν το βολβό και αναπαράγουν τα βλαστικά κύτταρα που ωθούν προς τα επάνω τα νέα κύτταρα της τρίχας. Ο σμηγματογόνος αδένας ο οποίος είναι τοποθετημένος δίπλα στο θύλακα, παράγει σμήγμα, μια λιπαρή ουσία που θρέφει και λιπαίνει τα λέπια, για να δώσει λάμψη και ελαστικότητα στα μαλλιά. Ο ανορθωτήρας μυς της τρίχας, ο οποίος βρίσκεται διαγώνια στο πλάι του σμηγματογόνου αδένου, έχει τη λειτουργία της εκκένωσής του, μέσω συμπίεσης.



Εικόνα 1.19 Σχηματική απεικόνιση του εσωτερικού τμήματος

1.8. Οργανολογία.

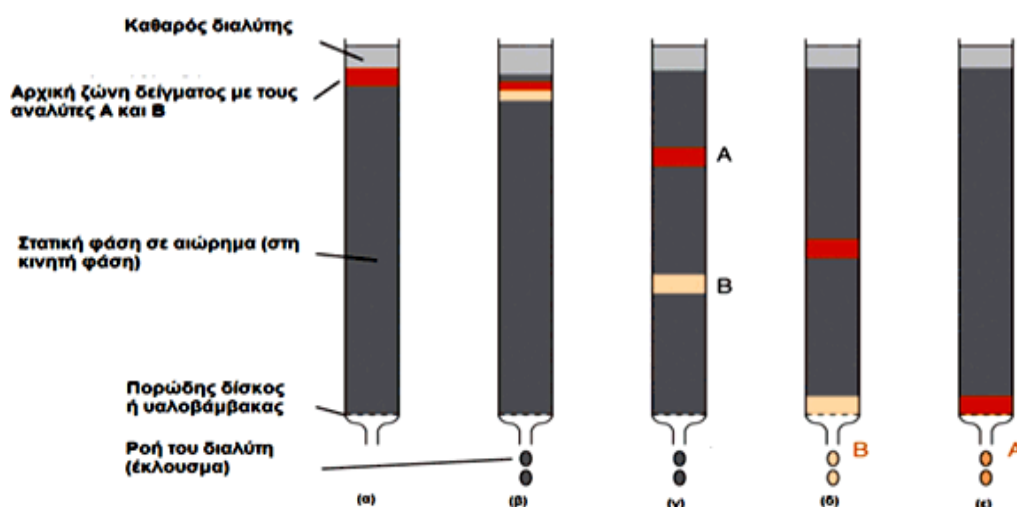
1.8.1 Υγρή Χρωματογραφία.

Πατέρας της χρωματογραφίας θεωρείται ο Ρώσος βοτανολόγος M.S. Tswett, ο οποίος δήλωσε ότι «χρωματογραφία είναι μία μέθοδος κατά την οποία τα συστατικά ενός μίγματος διαχωρίζονται μέσω μίας προσροφητικής στήλης σε ένα ρέον σύστημα» (Flanagan et al., 2007). Συγκεκριμένα, το 1903 ο Tswett εφάρμοσε τη χρωματογραφία προσρόφησης για τον διαχωρισμό φυτικών χρωστικών, χρησιμοποιώντας ως διαλύτη έναν υδρογονάνθρακα και σκόνη ενός υδατάνθρακα (ινουλίνη) ως στατική φάση (Harris, 2007).

Ουσιαστικά, η χρωματογραφία βασίζεται στην ίδια αρχή με την εκχύλιση καθώς πρόκειται για μεταφορά μίας ουσίας από μία φάση σε μία άλλη. Η μόνη διαφορά με την εκχύλιση είναι ότι στην περίπτωση της χρωματογραφίας η μία φάση παραμένει σταθερή (στατική φάση) ενώ η άλλη μετακινείται (κινητή φάση). Η κινητή φάση, δηλαδή ο διαλύτης που κινείται μέσα στη στήλη, μπορεί να είναι υγρό ή αέριο. Η στατική φάση, δηλαδή το πληρωτικό υλικό της στήλης το οποίο παραμένει σταθερό, είναι συνήθως ένα υγρό μεγάλου ιξώδους, χημικά δεσμευμένο στο εσωτερικό ενός τριχοειδούς σωλήνα ή στην επιφάνεια στερεών σωματιδίων με τα οποία έχει πληρωθεί η στήλη. Εναλλακτικά, τα στερεά σωματίδια που πληρώνουν τη στήλη αποτελούν τα ίδια τη στατική φάση.

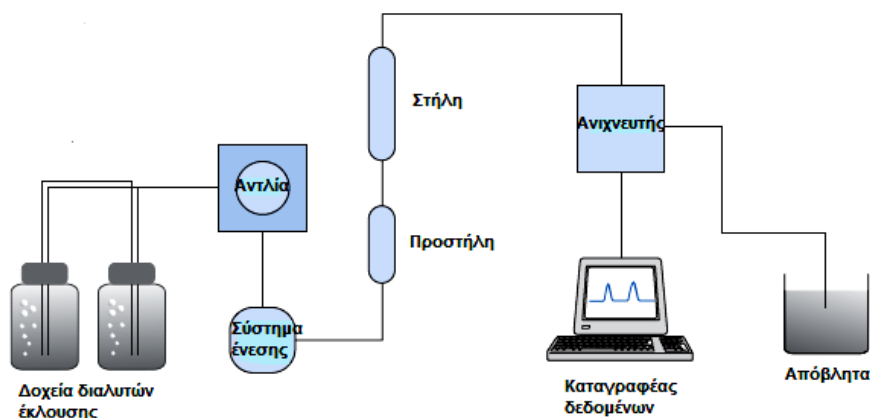
Στην Εικόνα 1.20 φαίνεται η βασική αρχή που διέπει τη χρωματογραφία: η διαλυμένη ουσία που εμφανίζει μεγαλύτερη συγγένεια προς τη χρωματογραφική στήλη παραμένει και περισσότερο στη στήλη (Harris, 2007).

Ανάλογα με τον μηχανισμό ισορροπίας η χρωματογραφία διακρίνεται σε χρωματογραφία προσρόφησης, κατανομής, ιονανταλλαγής, μοριακού αποκλεισμού και χημικής συγγένειας. Η χρωματογραφία επίσης διακρίνεται ανάλογα με την τεχνική με την οποία επιτυγχάνεται ο διαχωρισμός σε: χρωματογραφία ανάλυσης μετώπου, χρωματογραφία αντικατάστασης και χρωματογραφία έκλουσης. Σήμερα, λόγω της ευρείας εφαρμογής της, η χρωματογραφία έκλουσης είναι συνώνυμη με τον όρο χρωματογραφία. (Harris, 2007).



Εικόνα 1.20 Η αρχή της χρωματογραφίας (Harris, 2007).

Η Υγρή Χρωματογραφία (Liquid Chromatography, LC) έχει τη δυνατότητα να αναλύσει υψηλό μοριακού βάρους και/ή πολικές ενώσεις, με σχετικά χαμηλό κόστος σε σχέση με άλλες χρωματογραφικές μεθόδους (Flanagan et al., 2007). Η LC είναι ουσιαστικά μία χρωματογραφία προσρόφησης όπου η κινητή φάση είναι ένα υγρό και η στερεή φάση ένα πορώδες υλικό, συνήθως πυριτία (silica, SiO₂) (Harris, 2007). Ένα τυπικό σύστημα LC αποτελείται από το δοχείο και την υψηλής πίεσης αντλία του διαλύτη έκλουσης (ή των διαλυτών έκλουσης σε περίπτωση συστημάτων, όπως το δικό μας, όπου έχουμε βαθμιδωτή έκλουση), το σύστημα ένεσης δειγμάτων, μία προστατευτική προστήλη, μία πληρωμένη στήλη, έναν ανιχνευτή και φυσικά ένα σύστημα καταγραφής των δεδομένων (Εικόνα 1.21). Η υγροχρωματογραφία χρησιμοποιεί υψηλή πίεση για να αναγκάσει τον διαλύτη να μετακινηθεί μέσω της στήλης, να αλληλεπιδράσει με τα μόρια της στατικής φάσης αλλά και του προς ανάλυση μίγματος και να επιτευχθεί ο διαχωρισμός (Flanagan et al., 2007).

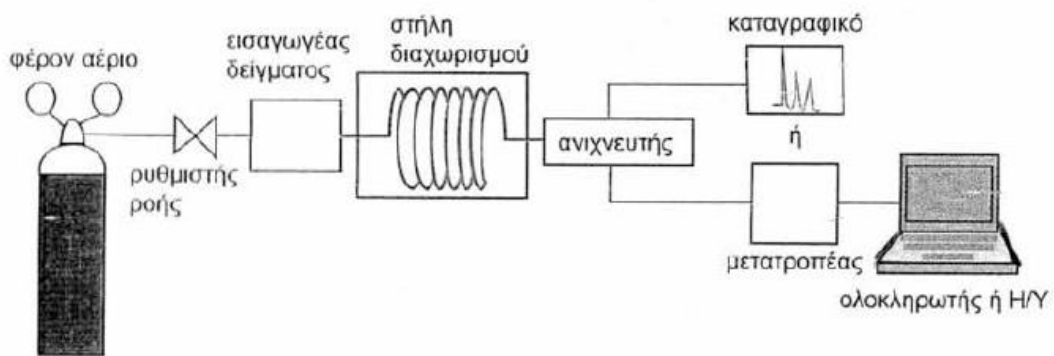


Εικόνα 1.21. Ένα τυπικό σύστημα υγρής χρωματογραφίας (Flanagan et al., 2007).

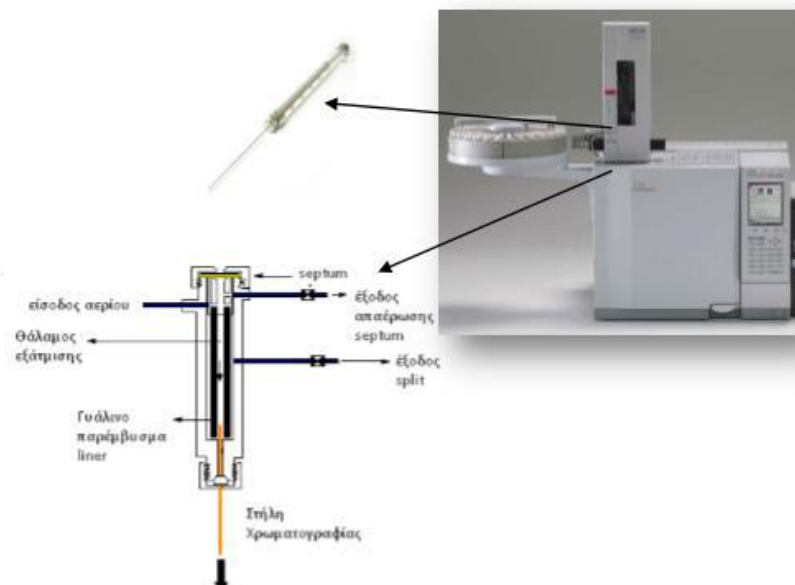
1.8.2 Αέρια Χρωματογραφία.

Η μέθοδος αυτή πρωτοεμφανίσθηκε το 1952 με τη χρησιμοποίηση μίας κινούμενης αέριας φάσης αντί της υγρής, με αξιοσημείωτα πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα. Η αρχή της μεθόδου στηρίζεται στο ότι το δείγμα εξαερώνεται και μεταφέρεται από το φέρον αέριο (κινούμενη φάση) κατά μήκος μίας στήλης που περιέχει τη λεγόμενη «στατική» φάση. Αυτή μπορεί να αποτελείται από μία ουσία στερεά με προσροφητικές ιδιότητες οπότε πραγματοποιείται αέρια χρωματογραφία σε στερεά φάση (Gas-Solid Chromatography) ή πράγμα που συμβαίνει τις περισσότερες φορές, να υπάρχει μία ουσία στερεά εντελώς ανενεργή ως βάση και πάνω της ένας λεπτός υμένας υγρής φάσης. Τότε πραγματοποιείται αέρια χρωματογραφία σε υγρή-στερεά φάση (Gas Liquid-Solid Chromatography). Η στερεά και υγρή φάση επιλέγεται ανάλογα με την ανάλυση που θέλει ο κάθε ερευνητής να επιτελέσει (Παπαδογιάννης και Σαμανίδου, 2000). Το δείγμα λοιπόν φέρεται στη στήλη αυτή από το φέρον αέριο (N_2 ή He), διαχωρίζεται στα συστατικά του τα οποία λόγω διαφορετικού μεγέθους μορίων εξέρχονται σε διαφορετικούς χρόνους και τέλος έτσι διαχωρισμένα φθάνουν στον ανιχνευτή ο οποίος τα ανιχνεύει ποσοτικά. Η καταγραφή των σημάτων του ανιχνευτή γίνεται από ηλεκτρονικούς καταγραφείς - ολοκληρωτές. Ο ποιοτικός διαχωρισμός των συστατικών του δείγματος γίνεται με βάση το χρόνο κατακράτησης (retention time) εκάστου συστατικού στη στήλη. Οι συγκεκριμένοι χρόνοι για κάθε συστατικό που αναμένεται να βρει ένας ερευνητής στο προς ανάλυση δείγμα καθορίζονται ως εξής: Διοχετεύει στη στήλη δείγμα γνωστής περιεκτικότητας σε μία σειρά από ουσίες και σημειώνει τους χρόνους κατακράτησης για κάθε συστατικό. Επίσης καταγράφει την ένταση του κάθε σήματος που είναι ανάλογη με την ποσότητα του κάθε συστατικού. Τις πληροφορίες αυτές τις τροφοδοτεί στη μνήμη του αυτόματου ηλεκτρονικού ολοκληρωτή - καταγραφέα που με βάση αυτές τις πληροφορίες επεξεργάζεται τους χρόνους και την ένταση των σημάτων από τα συστατικά των αγνώστων δειγμάτων και κάνει κατ' αυτόν τον τρόπο τον ποιοτικό και ποσοτικό διαχωρισμό.

Η διάταξη της αέριας χρωματογραφίας με όλα τα μέρη από τα οποία αποτελείται φαίνεται πιο κάτω (Εικόνα 1.22)



Εικόνα 1.22 Διάταξη Αέριας Χρωματογραφίας



Εικόνα 1.23 Αυτόματος Δειγματολήπτης

Τα πλεονεκτήματα της Αέριας χρωματογραφίας είναι (Harris, 2007):

- Υψηλή ταχύτητα
- Μεγάλη διαχωριστική ικανότητα ($N \approx 10^6$) → Αποτελεσματικός διαχωρισμός πολύπλοκων μιγμάτων
- Μεγάλη επαναληψιμότητα
- Απλή οργάνολογία
- Δυνατότητα ανάλυσης μέσω σύνθεσης πτητικών παραγώγων (derivatization) της υπό προσδιορισμό ουσίας (σε ορισμένες περιπτώσεις)

Τα μειονεκτήματα της Αέριας χρωματογραφίας είναι (Harris, 2007):

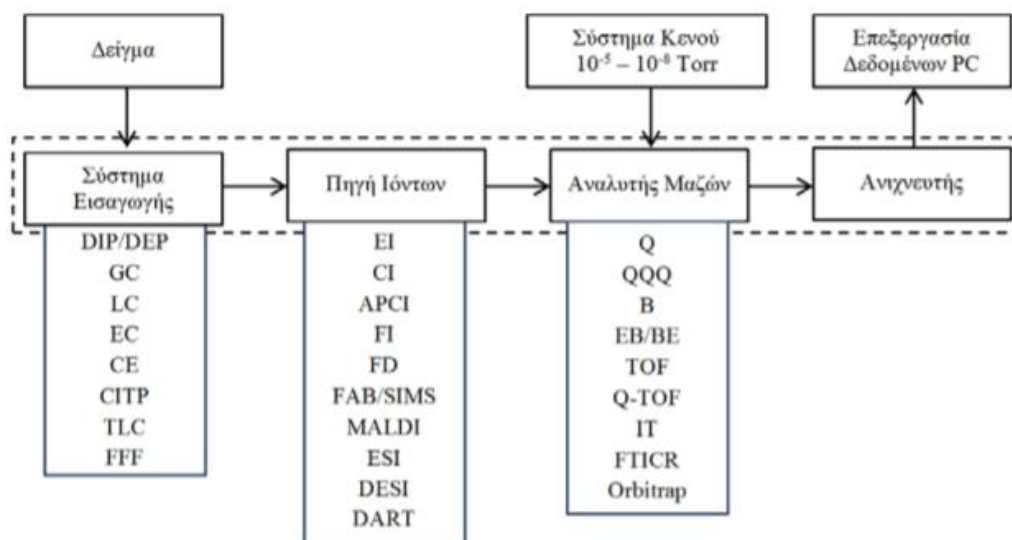
- Ακατάλληλη για θερμικά ασταθείς ενώσεις
- Η μέθοδος περιορίζεται από την πτητικότητα των ενώσεων (Απαιτούνται σημεία ζέσεως κάτω των 500°C). Η μέγιστη θερμοκρασία των στηλών περιορίζεται περίπου στους 380°C.
- Ορισμένα δείγματα μπορεί να απαιτήσουν ειδική προεργασία
- Απαιτεί σύζευξη με φασματομετρικές τεχνικές προς επιβεβαίωση της ταυτότητας των χρωματογραφικών κορυφών

1.8.3 Φασματομετρία μάζας.

Η φασματοσκοπία μαζών είναι μια ομάδα τεχνικών για τον ποιοτικό (ταυτοποίηση και προσδιορισμός δομής) και ποσοτικό προσδιορισμό χημικών ενώσεων σε διάφορα υποστρώματα. Βασίζεται στον ιονισμό των μορίων και την παραγωγή μοριακών και/ή θυγατρικών ιόντων, τον διαχωρισμό των ιόντων (συνήθως κατιόντων) σύμφωνα με τον λόγο της μάζας προς το φορτίο τους (m/z) με την βοήθεια κατάλληλης διάταξης (μαγνητικού τομέα, τετραπόλου, χρόνου πτήσης κ.τ.λ.) και τέλος την καταγραφή της σχετικής έντασης του ιονικού ρεύματος και της εύρεσης της αντιστοιχίας των μαζών των λαμβανόμενων ιόντων με την δομή της πρόδρομης ένωσης. Η αντιστοιχία αυτή προϋποθέτει την γνώση των διαδικασιών ιονισμού και επιπλέον του μηχανισμού της πιθανής θραυσματοποίησης των ιόντων. Το φάσμα που λαμβάνεται από ένα όργανο φασματοσκοπίας μαζών είναι η γραφική απεικόνιση της έντασης (αφθονίας) των ιόντων συναρτήσει του λόγου μάζας προς φορτίο αυτών (m/z). Οι κορυφές μαζών αντιστοιχούν σε συγκεκριμένο λόγο m/z , ενώ το ύψος τους (ένταση ή αφθονία) εκφράζει το σχετικό ποσοστό του ιόντος σε σχέση με τα υπόλοιπα ιόντα που παράγονται κατά τον ιονισμό. Η κορυφή με την μεγαλύτερη ένταση καλείται βασική κορυφή. Το φάσμα κανονικοποιείται σε σχέση με την ένταση της βασικής κορυφής, η οποία παρουσιάζεται με ένταση 100% και έτσι καταγράφεται το φάσμα των σχετικών εντάσεων. Με τον ιονισμό του μορίου και ανάλογα με την μέθοδο ιονισμού (ενέργεια ιονισμού) παράγεται το μοριακό ιόν [M^+] με απώλεια ενός ηλεκτρονίου και άλλα ιόντα θραύσματα, τα οποία δημιουργούνται από την διάσπαση του μοριακού ιόντος με διάφορους μηχανισμούς που είναι χαρακτηριστικοί της αναλυόμενης ένωσης και επιτρέπουν την ταυτοποίηση της. Η έκταση με την οποία λαμβάνει χώρα η θραυσματοποίηση εξαρτάται από την ποσότητα της ενέργειας που προσδίδεται στην ένωση (πηγή ιονισμού) και επίσης από την δομή της.

Τα πλεονεκτήματα της τεχνικής αυτής, όπως η μεγάλη εκλεκτικότητα, η δυνατότητα χρήσης ως ένας καθολικός ανιχνευτής (απόκριση σε όλες τις ενώσεις ανεξάρτητα της δομής τους) και η πολύ υψηλή ευαισθησία της σε συνδυασμό με την εξέλιξη της μικροηλεκτρονικής και των συστημάτων σύζευξης με την αέρια και την υγρή χρωματογραφία (συνδυάζοντας έτσι την μεγάλη διαχωριστική ικανότητα των χρωματογραφικών μεθόδων με την σημαντικότερη ικανότητα ταυτοποίησης και προσδιορισμού της ένωσης), την καθιστούν μια από τις τεχνολογίες αιχμής στην χημική ανάλυση με ικανότητα προσδιορισμού πολύ χαμηλών τάξεων συγκεντρώσεων. Έτσι, εφαρμόζεται σε μεγάλο εύρος ποιοτικών και ποσοτικών προσδιορισμών χημικών ενώσεων όλων των κατηγοριών (φυσικών συστατικών, χημικών ρύπων, βιομορίων, πολυμερών, κ.τ.λ.). Συνεπώς, βρίσκει ευρύτατη χρήση σε πολλά επιστημονικά πεδία τόσο στην βασική και εφαρμοσμένη έρευνα όσο και σε αναλύσεις

παρακολούθησης και ρουτίνας από χημικά εργαστήρια με ιδιαίτερα σημαντικές εφαρμογές στην περιβαλλοντική ανάλυση.



Εικόνα 1.24 Σχηματικό διάγραμμα των τμημάτων ενός φασματογράφου μαζών με τις συντομογραφίες των κυριότερων τεχνικών κάθε σταδίου

Τα κυριότερα είδη φασματομέτρων μάζας είναι το τετραπολικό φασματόμετρο μάζας διαπερατότητας, το φασματόμετρο μάζας χρόνου πτήσης, το τετραπολικό φασματόμετρο μάζας παγίδευσης ιόντων και το φασματόμετρο κινητικότητας ιόντος. Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκε ένα τετραπολικό φασματόμετρο μάζας. Όπως υποδηλώνει και το όνομά του, αποτελείται από τέσσερις παράλληλες ράβδους στις οποίες εφαρμόζονται συνεχές ρεύμα και εναλλασσόμενο δυναμικό ραδιοσυχνοτήτων. Το εύρος μαζών και η διακριτική ικανότητα του οργάνου εξαρτώνται από το μήκος και τη διάμετρο των ράβδων. Μεγαλύτερη διάμετρος δίνει αυξημένη ευαισθησία (μεγαλύτερο εύρος μαζών), ενώ στενότερες ή μακρύτερες ράβδοι προσδίδουν στο όργανο καλύτερη διακριτική ικανότητα. Τα ιόντα εστιάζονται και περνούν στο χώρο ανάμεσα στις ράβδους. Η κίνησή τους εξαρτάται από τα ηλεκτρικά πεδία έτσι ώστε μόνο ιόντα με συγκεκριμένο m/z να περνούν στον ανιχνευτή.

2 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1. Σχεδιασμός και υλοποίηση πειράματος.

Σκοπός της παρούσας πτυχιακής ήταν η εκτίμηση της επιβάρυνσης των βρεφών κατά τη γέννηση τους αλλά και κατά τους πρώτους μήνες ζωής τους από ξενοβιοτικά που έχουν ενοχοποιηθεί ως ενδοκρινικοί διαταράκτες (parabens, bisphenols A και S, TCS, DDts, HCB).

2.1.1. Ομάδα μελέτης.

Συλλέχθηκαν 39 δείγματα τρίχας από μητέρες, 44 από νεογνά και 12 δείγματα από επαναληπτική δειγματοληψία στα νεογνά σε ηλικία 6-12 μηνών. Η τρίχα καταγράφηκε βάση του μήκους, του βάρους και του χρώματος της.

2.2. Οργανολογία.

2.2.1. Υγρή Χρωματογραφία – Φασματομετρία Μάζας.

Το όργανο ανάλυσης που χρησιμοποιήθηκε για την μελέτη των PBs, BPs και TCS ήταν ένα σύστημα υγρής χρωματογραφίας άμεσα συζευγμένο με ένα φασματόμετρο μαζών της εταιρίας Shimadzu (μοντέλο LC-MS 2010 EV), εξοπλισμένο με αυτόματο δειγματολήπτη (Εικόνα 2.1). Επίσης, χρησιμοποιήθηκε πηγή ιονισμού APCI (χημικός ιονισμός υπό ατμοσφαιρική πίεση) και ως αναλυτής μαζών χρησιμοποιήθηκε αναλυτής με τετράπολο φίλτρου μάζας (quadropole mass filter).



Εικόνα 2.1. Σύστημα LC-MS της Shimadzu

2.2.2 Αέρια Χρωματογραφία – Φασματομετρία Μάζας.

Το όργανο ανάλυσης που χρησιμοποιήθηκε για την μελέτη των DDTs και HCB ήταν ένα σύστημα αέριας χρωματογραφίας άμεσα συζευγμένο με ένα φασματόμετρο μαζών της εταιρίας Shimadzu (μοντέλο GS-MS 2010 AOC - 20i), εξοπλισμένο με αυτόματο δειγματολήπτη (Εικόνα 2.2). Ο ιονισμός του δείγματος πραγματοποιήθηκε με πρόσκρουση ηλεκτρονίων (electron impact, EI) και ως αναλυτής μαζών χρησιμοποιήθηκε αναλυτής με τετράπολο φίλτρου μάζας (quadrupole mass filter).



Εικόνα 2.2. Σύστημα GC – MS της Shimadzu

2.2.3. Λοιπός εξοπλισμός.

Για τη ζύγιση των δειγμάτων τριχάς χρησιμοποιήθηκε ένας αναλυτικός ζυγός ακριβείας 4ου δεκαδικού ψηφίου, της εταιρείας AND (μοντέλο ER-120A), με δυνατότητα μέγιστου βάρους ζύγισης 120gr. Για την ανακίνηση των μιγμάτων χρησιμοποιήθηκε σύστημα vortex της εταιρείας Velpscientific (μοντέλο Zx3) και ανακινήτηρας (μοντέλο GFL 3025). Για την εξάτμιση-ξήρανση των δειγμάτων (απομάκρυνση του διαλύτη εκχύλισης), χρησιμοποιήθηκε σύστημα εξάτμισης υπό ροή αζώτου, της εταιρείας Techne (μοντέλο dri-block DB-3A). Ακόμη, χρησιμοποιήθηκε φυγόκεντρος της εταιρείας Hettich zentrifugen (μοντέλο Rotofix 32A) αλλά και φυγόκεντρος της εταιρίας Heraeus (μοντέλο Biofuge Primo R).

2.3. Αντιδραστήρια.

Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν ήταν τα εξής:

- Parabens (methyl paraben, ethyl paraben, propyl paraben, butyl paraben, benzyl paraben)
- triclosan
- Δισφαινόλες (BPA, BPS)
- DDTs (opDDT, opDDE, ppDDE ,opDDD, ppDDD)
- HCB
- μεθανόλη (methanol)

- ακετονιτρίλιο (acetonitrile)
- phenobarbital-d⁶
- εξάνιο (hexane)
- υδροξείδιο του νατρίου (NaOH)
- διχλωρομεθάνιο (dichloromethane)

2.4. Πειραματική διαδικασία.

2.4.1. Παρασκευή πρότυπων διαλυμάτων.

Παρασκευάστηκαν πρότυπα διαλύματα συγκεντρώσεων 0, 25, 50, 100, 250 και 500 ng/ml για τα παραβένια, δισφαινόλες και τρικλοζάνη ουσίες και συγκεντρώσεων 0, 0.25, 0.5, 1, 2 και 5 ng για τα DDTs και HCB ουσίες.

2.4.2 Επιμολυσμένα δείγματα τρίχας.

Για την παρασκευή των επιμολυσμένων δειγμάτων (spiked) χρησιμοποιήθηκαν δείγματα τρίχας τα οποία ήταν αρνητικά στις προς ανάλυση ενώσεις και εμβολιάστηκαν με διάλυμα που περιείχε PBs, BPs, TCS, TCC (0.1 ppm) σε συγκεντρώσεις 0, 5, 10, 25, 50 και 100 µg/mg. Παράλληλα εμβολιάστηκαν και με DDTs (0.1 ppm) σε συγκεντρώσεις 0, 2.5, 5, 10, 25, 50 µg/mg.

2.4.3. Μέθοδος επεξεργασίας δειγμάτων.

Αρχικά, τα δείγματα τρίχας ζυγίστηκαν στο ζυγό (ανάλογα με τη διαθεσιμότητα) και τοποθετήθηκαν σε γυάλινα σωληνάκια με καπάκι. Πριν γίνει η επεξεργασία των δειγμάτων, η τρίχα πλύθηκε δύο φορές με υπερκάθαρο νερό και δύο φορές με μεθανόλη, για να απομακρυνθεί τυχών εξωτερική επιμόλυνση. Όταν η τρίχα στέγνωσε, προστέθηκαν 2 ml μεθανόλης και ακολούθησε εκχύλιση για 2 ώρες σε υδατόλουτρο υπερήχων υπό θέρμανση. Ανά τακτά χρονικά διαστήματα γινόταν ανακίνηση των δειγμάτων με σύστημα vortex. Με το πέρας των δύο ωρών ακολούθησε ανακίνηση με σύστημα vortex και η οργανική φάση μεταφέρθηκε σε γυάλινα σωληνάκια. Έπειτα, στα σωληνάκια που περιείχαν την τρίχα προστέθηκαν ακόμα 2 ml μεθανόλης και εκχυλίστηκαν για ακόμα δύο ώρες στο υδατολούτρο υπερήχων υπό θέρμανση. Κατά το τέλος της εκχύλισης, επαναλήφθηκε η διαδικασία συλλογής της οργανικής φάσης, η οποία προστέθηκε στα σωληνάκια εξάτμισης τα οποία περιείχαν την οργανική φάση που συλλέχθηκε από την πρώτη εκχύλιση. Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε εξάτμιση μέχρι ξηρού υπό ροή αζώτου, επαναδιαλυτοποίηση του υπολείμματος της εξάτμισης σε 100 µl μεθανόλης και μεταφορά σε φιαλίδια των 2 ml (στο εσωτερικό των οποίων είχαν τοποθετηθεί inserts) για ανάλυση στο σύστημα LC-MS.

Μετά το τέλος της ανάλυσης στο LC-MS, το εναπομείναν εκχύλισμα προστέθηκε στην τρίχα μαζί με 2ml NaOH 3N και ακολούθησε διαλυτοποίηση για 1 ώρα σε υδατόλουτρο με υπερήχους. Με το πέρας της διαλυτοποίησης, προστέθηκαν 3 ml hexane : DCM (3:1). Το διάλυμα ανακινήθηκε και φυγοκεντρήθηκε. Στη συνέχεια, η οργανική φάση μεταφέρθηκε σε σωληνάκια εξάτμισης, η διαδικασία αυτή επαναλήφθηκε για ακόμη μια φορά. Η οργανική φάση εξατμίστηκε μέχρι ξηρού υπό ροή αζώτου, επαναδιαλυτοποιήθηκε το υπόλειμμα της εξάτμισης σε 100 µl εξάνιου. Το διάλυμα μεταφέρθηκε σε φιαλίδια τα οποία περιείχαν 2ml νερού, 0.4 gr NaCl και 5µl TCN (external standard, ES) (2 ppm). Ακολούθησε η ανάλυση στο σύστημα GC-MS.

2.4.4. Ανάλυση δειγμάτων με LC-MS και GS-MS.

2.4.4.1. Συνθήκες λειτουργίας Υγρού Χρωματογράφου.

Στο σύστημα της υγρής χρωματογραφίας χρησιμοποιήθηκε κολώνα Discovery C18 (25cm) της εταιρίας Supelco, η οποία λειτουργούσε σε φούρνο θερμοκρασίας 30°C. Οι διαλύτες κινητής φάσης που χρησιμοποιήθηκαν ήταν 5 mM οξικό αμμώνιο (διαλύτης Α) και ακετονιτρίλιο (διαλύτης Β). Η ροή του χρωματογράφου ήταν 0.6 ml/min και η συνολική διάρκεια του προγράμματος για κάθε δείγμα ήταν 25 λεπτά.

2.4.4.2. Συνθήκες λειτουργίας Αέριας Χρωματογράφου.

Στο σύστημα της αέριας χρωματογραφίας χρησιμοποιήθηκε στήλη SLB5m με διάμετρο 0.25μm, 30m, 025mm. Η θερμοκρασία του φούρνου ρυθμίστηκε στους 60°C για 3 λεπτά, αυξήθηκε στους 180°C (ανά 15°C) όπου παρέμεινε για 1 λεπτό, έπειτα αυξήθηκε στους 250°C (ανά 4°C) και τέλος αυξήθηκε στους 300°C (ανά 30°C) όπου παρέμεινε για 5 λεπτά. Η θερμοκρασία της πηγής ιόντων ήταν 230°C, η θερμοκρασία εισαγωγέα ήταν 300°C και η θερμοκρασία interface στους 310°C. Το φέρον αέριο ήταν ήλιο καθαρότητας 99.999% με ροή 1ml/min. Η προσρόφηση των ουσιών έγινε με head phase solid phase microextraction (HP-SPME) με χρήση μικροίνας (Fiber) type 65 μm, PDMS-DVP coating 23Ga με agitation στους 250 rpm στους 90°C.

2.4.4.3. Συνθήκες λειτουργίας Φασματομέτρου Μάζας.

Ο ιονισμός του δείγματος πραγματοποιήθηκε με πηγή χημικού ιονισμού υπό ατμοσφαιρική πίεση (APCI), σε ρύθμιση αρνητικού ιονισμού. Για τη λήψη των χρωματογραφημάτων χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος SIM (Selecting Ion Monitoring). Τα θραύσματα και οι χρόνοι κατακράτησης (Rt) που χρησιμοποιήθηκαν για την ανίχνευση παρουσιάζονται στους Πίνακες 2.2. και 2.3.

Πίνακας 2.2 Χρόνοι κατακράτησης και ιόντα των ενώσεων που ανιχνεύονται στο LC-MS

Analytes		Rt (min)	target ion	Q1 ion
BPS	BPS	13.1	249.05	285.05
methyl paraben	MenP	14.1	151.05	194
ethyl paraben	EthP	15.9	165.05	208.1
propyl paraben	ProP	17.6	179	239
BPA	BPA	19	227.15	273.2
benzyl paraben	BenP	19.05	227.1	287.15
butyl paraben	butP	19.1	193.05	236.05
Triclosane	TCS	23.2	286.95	289
IS	IS	13.25	231.05	

Πίνακας 2.3 Χρόνοι κατακράτησης και ιόντα των ενώσεων που ανιχνεύονται στο GC-MS

Analytes	Rt	target m/z	m/z	m/z
HCB	15.31	284	249	214
ES	19.73	266	194	
opDDE	22.40	246	318	176
ppDDE	23.75	246	318	176
op DDD	24.05	235	165	199
pp DDD	25.59	235	165	199
opDDT	25.59	235	165	199
pp DDT	27.16	235	165	199

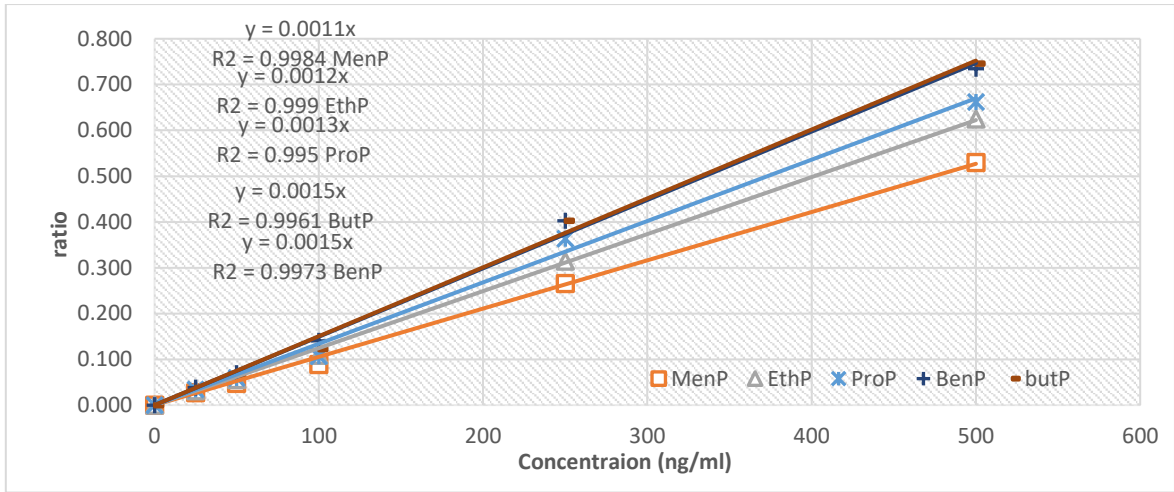
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1. Γραμμικότητα.

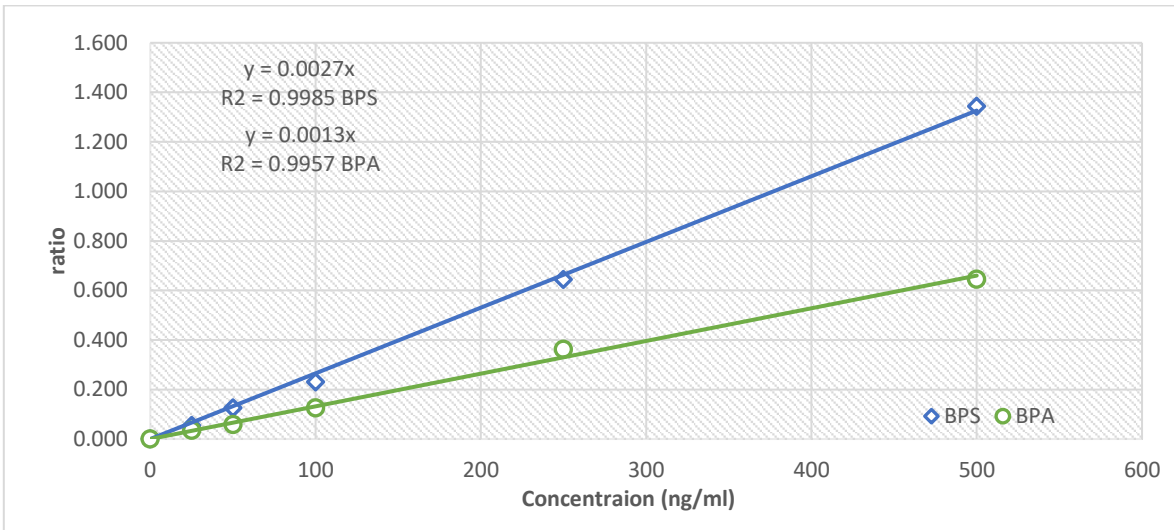
3.1.1. Γραμμικότητα των PBs, BPs, TCS.

Τα πρότυπα διαλύματα των ενώσεων που μας ενδιαφέρουν είχαν συγκεντρώσεις 0, 25, 50, 100, 250 και 500 ng/ml. Το τετράγωνο του συντελεστή συσχέτισης (R^2), που χρησιμοποιήθηκε ως μέτρο γραμμικότητας βρέθηκε 0,9984 για το MePB, 0.999 για το EtPB, 0.995 για το ProP, 0.9973 για το BePB, 0.9961 για το BuPB, 0.9985 για το BPS, 0.9957 για το BPA και 0.9937 για το TCS.

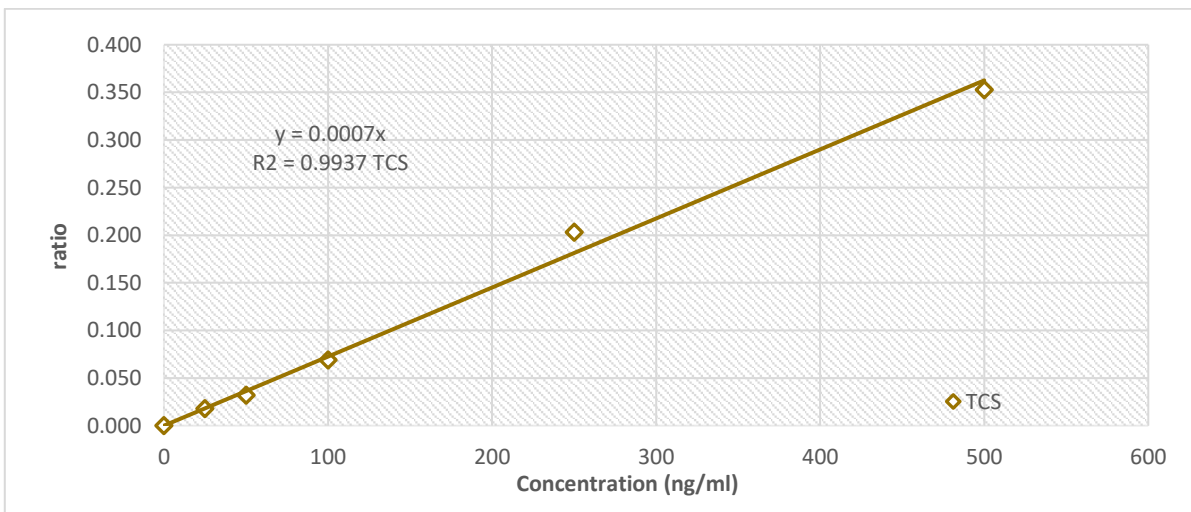
Τα επιμολυσμένα διαλύματα τρίχας είχαν συγκεντρώσεις 0, 5, 10, 25, 50 και 100 pg/mg. Το τετράγωνο του συντελεστή συσχέτισης βρέθηκε 0.9994 για το MePB, 0.9992 για το EtPB, 0.9973 για το ProP, 0.9985 για το BePB, 0.9983 για το BuPB, 0.999 για το BPS, 0.9987 για το BPA και 0.9986 για το TCS.



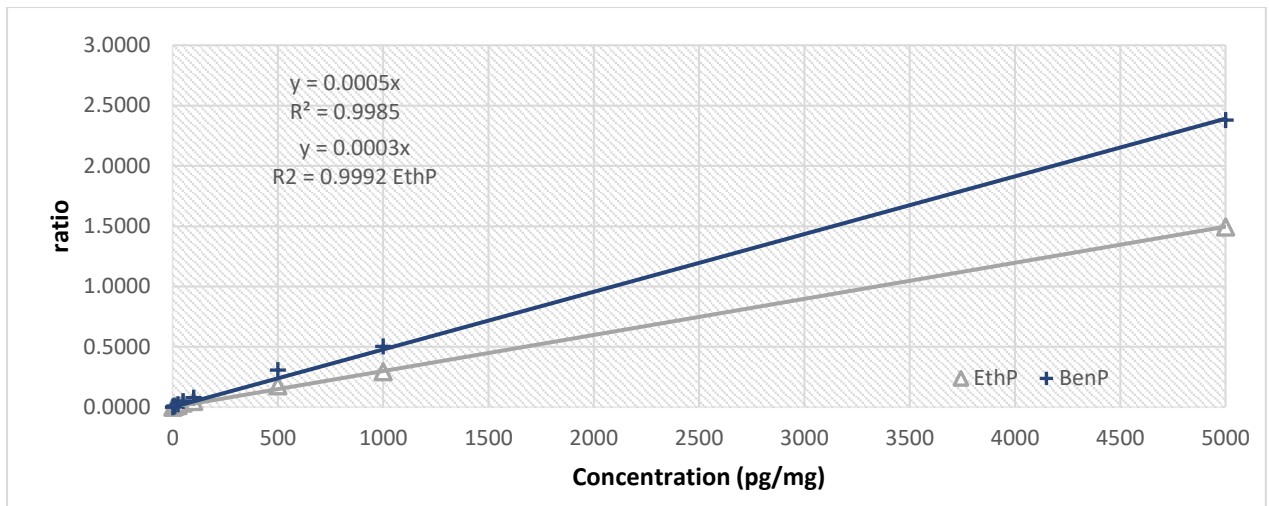
Διάγραμμα 3.1 Καμπύλες πρότυπων διαλυμάτων για τα parabens



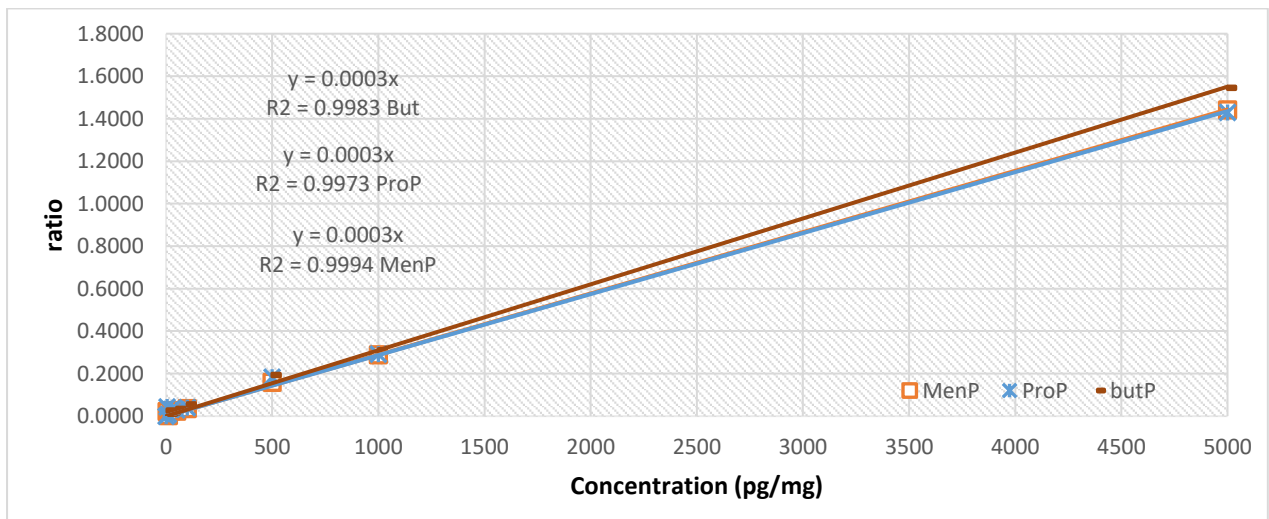
Διαγράμματα 3.2 Καμπύλες πρότυπων διαλυμάτων για τις δισφαινόλες



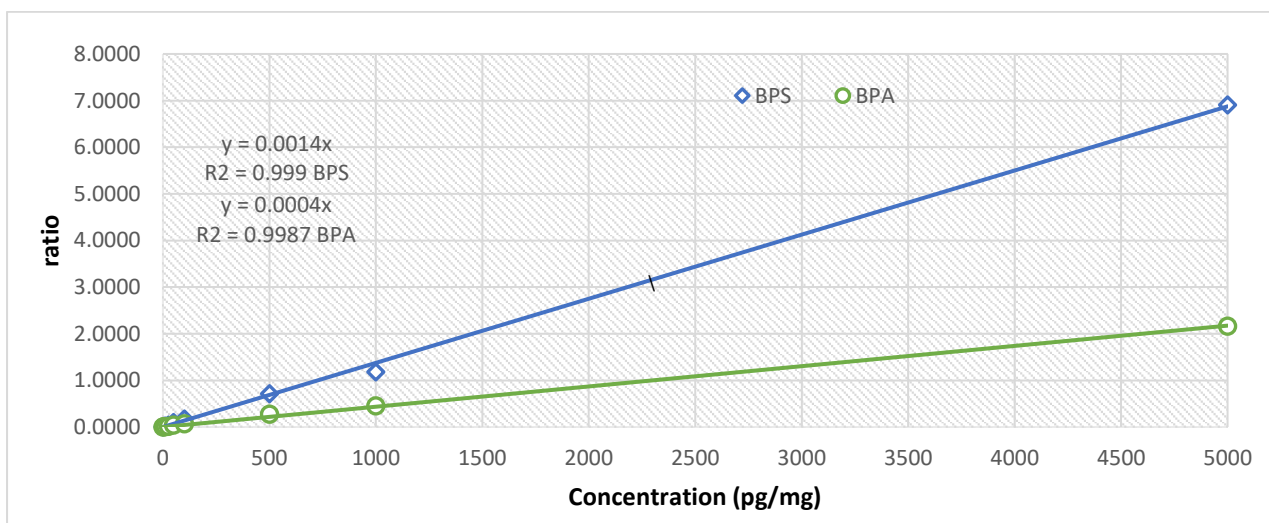
Διαγράμματα 3.3 Καμπύλες πρότυπων διαλυμάτων για την τρικλοζάνη



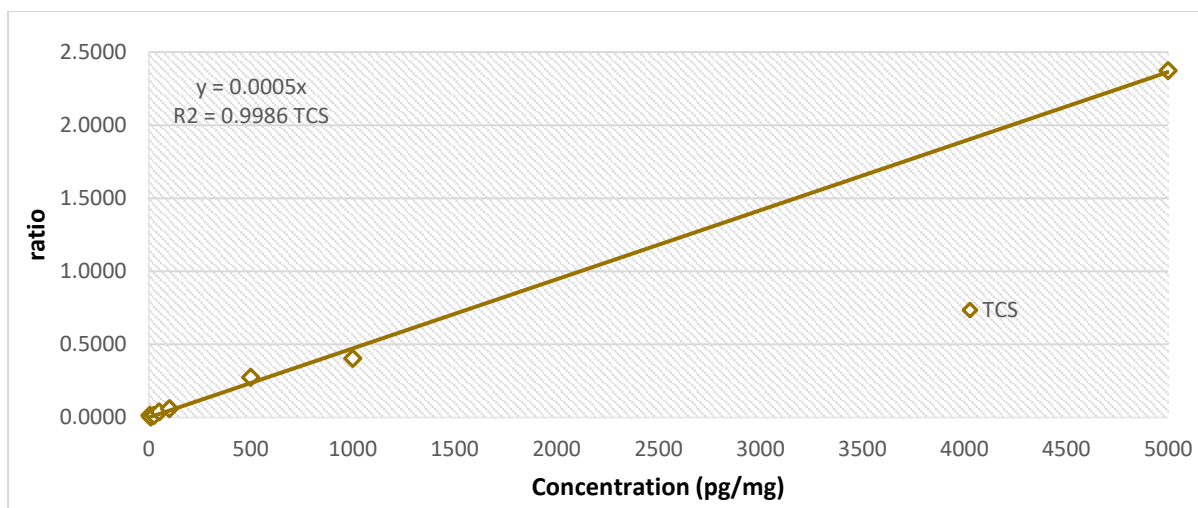
Διαγράμματα 3.4 Καμπύλες επιμολυσμένων δειγμάτων τρίχας για ethyl paraben και benzyl paraben



Διαγράμματα 3.5 Καμπύλες επιμολυσμένων δειγμάτων τρίχας για butyl paraben, propyl paraben και methyl paraben



Διαγράμματα 3.6 Καμπύλες επιμολυσμένων δειγμάτων τρίχας για δισφαινόλες

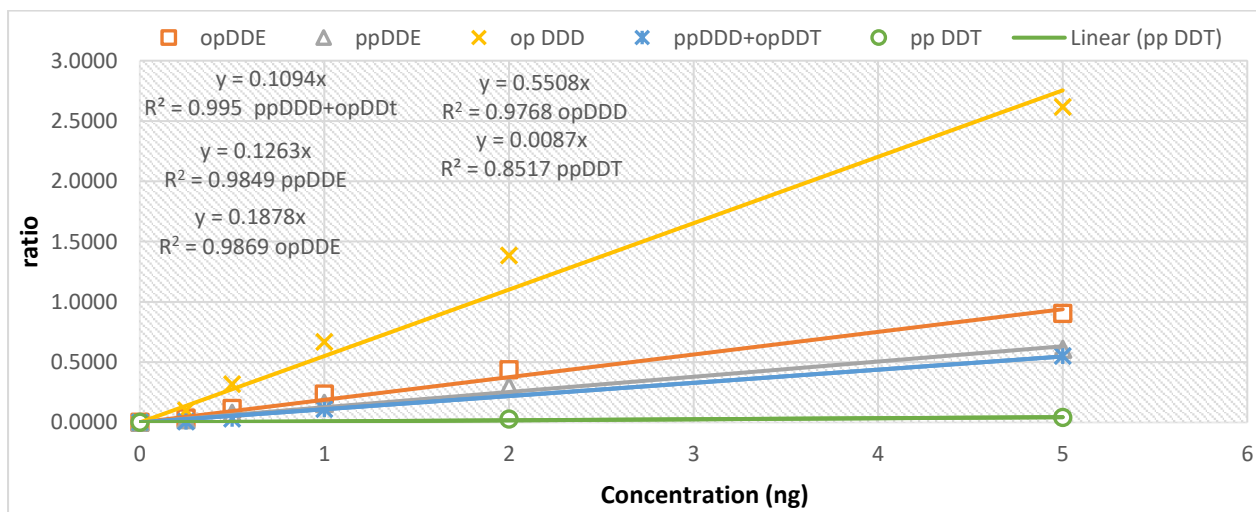


Διαγράμματα 3.7 Καμπύλες επιμολυσμένων δειγμάτων τρίχας για τρικλοζάνη

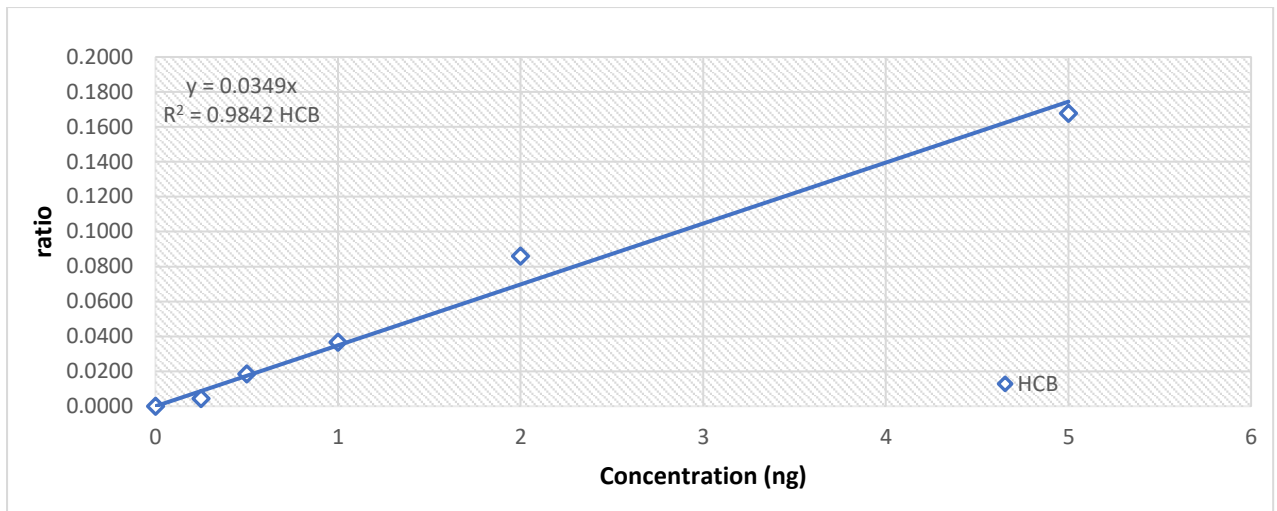
3.1.2 Γραμμικότητα των οργανοχλωριωμένων ενώσεων (DDTs).

Τα πρότυπα διαλύματα των ενώσεων που μας ενδιαφέρουν είχαν συγκεντρώσεις 0, 0.25 , 0.5 , 1 , 2 και 5 ng. Το τετράγωνο του συντελεστή συσχέτισης (R^2), που χρησιμοποιήθηκε ως μέτρο γραμμικότητας βρέθηκε 0.995 για το ppDDD+ opDDT, 0.9768 για το opDDD, 0.9849 για το ppDDE, 0.8517 για το ppDDT, 0.9869 για το opDDE και 0.9842 για το HCB.

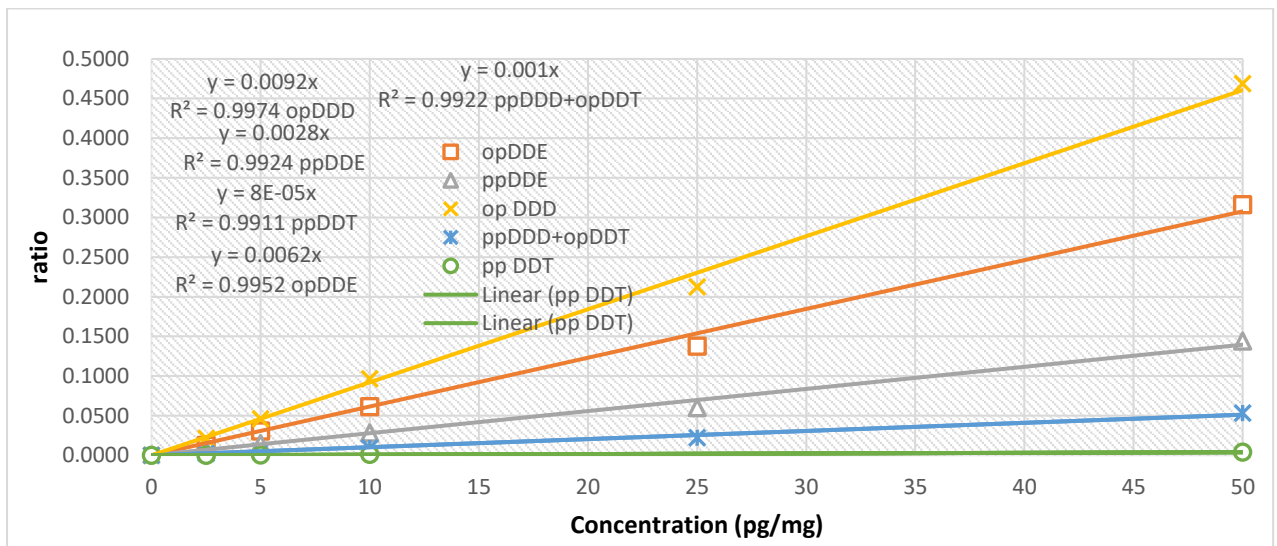
Τα επιμολυσμένα διαλύματα τρίχας είχαν συγκεντρώσεις 0, 2.5 , 5, 10, 25, 50 pg/mg. Το τετράγωνο του συντελεστή συσχέτισης βρέθηκε 0.9922 για το ppDDD+ opDDT, 0.9974 για το opDDD, 0.9924 για το ppDDE, 0.9911 για το ppDDT, 0.9952 για το opDDE και 0.9981 για το HCB.



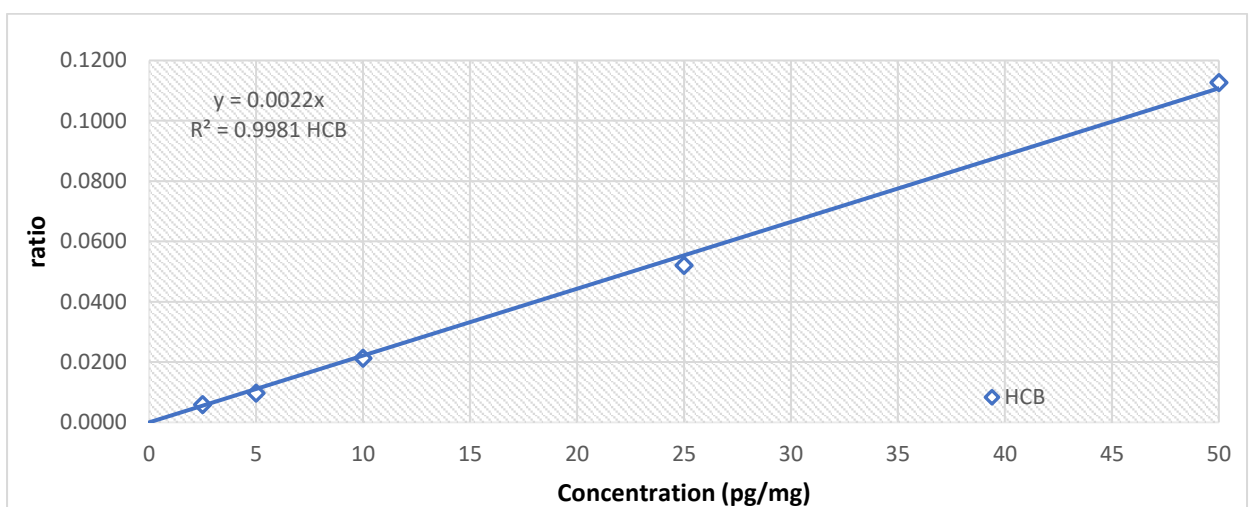
Διάγραμμα 3.8 Καμπύλες πρότυπων διαλυμάτων για DDTs



Διάγραμμα 3.9 Καμπύλες πρότυπων διαλυμάτων για HCB



Διαγράμματα 3.10 Καμπύλες επιμολυσμένων δειγμάτων τρίχας για DDTs



Διαγράμματα 3.11 Καμπύλες επιμολυσμένων δειγμάτων τρίχας για HCB

3.2 Αναλυτικοί παράμετροι.

Το όριο ανίχνευσης της μεθόδου (LOD) και το όριο ποσοτικοποίησης (LOQ) (pg/mg) υπολογίσθηκαν με βάση το λόγο σήματος προς θόρυβο (S/N) και βρέθηκαν για το MePB 0.2 και 0.5, για το EtPB 2.5 και 8.3, για το ProPB 2.1 και 7.1, για το BePB 0.8 και 2.7, για το BuPB 1.7 και 5.6, για το TCS 1.7 και 5.6, για το BPS 0.3 και 1.0, για το BPF 20.0 και 66.7, για το BPA 1.4 και 4.8, για το HCB 0.08 και 0.27, για το opDDE 0.06 και 0.21, για το ppDDE 0.08 και 0.26, για το opDDD 0.07 και 0.24, για το ppDDD+opDDT 0.7 και 2.33 και για το ppDDT 2.67 και 8.9 αντίστοιχα.

Η μέση ακρίβεια της μεθόδου για τα αποτελέσματα που προέκυψαν υπολογίσθηκε για το MePB 123.7%, για το EtPB 92.3%, για το ProPB 101.3%, για το BePB 112.5%, για το BuPB 100.5%, για το TCS 123.8%, για το BPS 97.8%, για το BPF 102.4%, για το BPA 117.1%, για το HCB 96.1%, για το opDDE 92.3%, για το ppDDE 97.1%, για το opDDD 94.8% και για το ppDDD+opDDT 92.2%.

Στην παρούσα εργασία ως μέτρο της επαναληψιμότητας χρησιμοποιήθηκε το % inter day precision (%RSD), δηλαδή η επαναληψιμότητα των μετρήσεων μεταξύ των ημερών που έγιναν τα πειράματα, και η οποία υπολογίζεται με το λόγο του RSD προς το μέσο όρο της συγκέντρωσης. Έτσι, ο μέσος όρος του % inter day precision που υπολογίσθηκε από τα επιμολυσμένα δείγματα τρίχας είναι 13.6% για το MePB, 14.4% για το EtPB, 21.2% για το ProPB, 16.8% για το BePB, 16.7% για το BuPB, 19.2% για το TCS, 14.6% για το BPS, 16.8% για BPA, 18.3% για το BPA, 21.0% για το HCB, 22.5% για το opDDE, 22.7% για το ppDDE, 22.5 % για το opDDD και 23.8% για ppDDD+opDDT.

Πίνακας 3.1 Συνοπτική παρουσίαση των αναλυτικών παραμέτρων για τα παραβένια, τις δισφαινόλες και την τρικλοζάνη

	r2 standards curves	r2 spiked curve	LOD (pg/mg)	LOQ (pg/mg)	% recovery	% accuracy	Precision (% RSD)
BPS	0.9985	0.9855	0.3	1.0	74.5	97.8	14.6
MenP	0.9984	0.9937	0.2	0.5	113.5	123.7	13.6
EthP	0.999	0.9804	2.5	8.3	63.7	92.3	14.4
ProP	0.995	0.9944	2.1	7.1	98.8	101.3	21.2
BPA	0.9957	0.9913	1.4	4.8	84.6	117.1	16.8
BenP	0.9973	0.9916	0.8	2.7	70.9	112.5	16.8
butP	0.9961	0.9864	1.7	5.6	111.3	100.5	16.7
TCS	0.9937	0.992	1.7	5.6	107.8	107.9	19.2

Πίνακας 3.2 Συνοπτική παρουσίαση των αναλυτικών παραμέτρων για DDTs και HCB

Analytes	r2 standard curves	r2 spiked curves	LOD (pg/mg)	LOQ (pg/mg)	% accuracy	precision (%RSD)
HCB	0.9842	0.9981	0.08	0.27	96.1	21.0
opDDE	0.9869	0.9952	0.06	0.21	92.3	22.5
ppDDE	0.9849	0.9924	0.08	0.26	97.1	22.7
op DDD	0.9768	0.9974	0.07	0.24	94.8	22.5
pp DDD+opDDT	0.995	0.9922	0.70	2.33	92.2	23.8
pp DDT	0.8517	0.9911	2.67	8.90	-	-

3.3 Επίπεδα ενδοκρινικών διαταρακτών

3.3.1 Επίπεδα ενδοκρινικών διαταρακτών στα δείγματα τρίχας μητέρων

Από την ανάλυση δειγμάτων μητέρων προέκυψαν τα εξής αποτελέσματα:

- Όλα τα δείγματα τρίχας περιείχαν methyl paraben, propyl paraben, BPS και TCS.
- Τα 35 από τα 39 δείγματα που αναλύθηκαν ήταν θετικά σε ethyl paraben (89.7%) , τα 25 από τα 39 σε benzyl paraben (64.1%) , τα 22 από τα 39 σε butyl paraben (56.4%), τα 33 από τα 39 σε BPA (84.6%), τα 28 από τα 37 σε HCB (75.7%), τα 18 από τα 37 σε opDDE (48.6%), 34 από τα 37 σε ppDDE (91.9%) και τα 4 από τα 37 σε opDDD (10.8%).
- Σε κανένα από τα δείγματα δεν ανιχνεύτηκαν ppDDD και opDDT
- Οι μέσες τιμές των ουσιών (pg/mg) κυμάνθηκαν σε 15867.8 για το MePB, 1377.1 για το EtPB, 75.2 για το BePB, 139.5 για το BuPB , 2379.4 για το TCS, 81.2 για το BPS, 105.2 για το BPA, 0.46 για opDDE, 2.57 για ppDDE, 0.27 για opDDD και 5.87 για HCB.

3.3.2 Επίπεδα ενδοκρινικών διαταρακτών στα δείγματα τρίχας νεογνών

Από την ανάλυση δειγμάτων νεογνών προέκυψαν τα εξής αποτελέσματα:

- Όλα τα δείγματα τρίχας περιείχαν methyl paraben και TCS.
- Τα 21 από τα 44 δείγματα που αναλύθηκαν ήταν θετικά σε ethyl paraben (47.7%) , τα 41 από τα 44 σε propyl paraben (93.2%), τα 14 από τα 44 σε benzyl paraben (31.8%) , τα 10 από τα 44 σε butyl paraben (22.7%), τα 23 από τα 44 σε BPA (52.3%), τα 42 από τα 44 σε BPS (95.5%), τα 32 από τα 43 σε HCB(74.4%), τα 31 από τα 43 σε opDDE (72.1%), τα 41 από τα 43 σε ppDDE (95.3%), 12 από τα 43 σε op DDD (27.9%) και τα 9 από τα 43 σε ppDDD+opDDT (20.9%).
- Οι μέσες τιμές των ουσιών (pg/mg) κυμάνθηκαν σε 4541.6 για το MePB, 219.0 για το EtPB, 2576.0 για το ProP, 53.6 για το BePB, 89.3 για το BuPB , 5320.7 για το TCS, 63.2 για το BPS, 41.4 για το BPA, 0.85 για opDDE, 10.6 για ppDDE, 2.76 για opDDD, 7.48 για ppDDD+opDDT και 7.25 για HCB.

3.3.3 Επίπεδα ενδοκρινικών διαταρακτών στα δείγματα τρίχας παιδιών

Από την ανάλυση δειγμάτων παιδιών προέκυψαν τα εξής αποτελέσματα:

- Όλα τα δείγματα τρίχας περιείχαν methyl paraben,propyl paraben και TCS.
- Τα 11 από τα 12 δείγματα που αναλύθηκαν ήταν θετικά σε ethyl paraben (91.7%), τα 6 από τα 12 σε benzyl paraben (50.0%) , τα 7 από τα 12 σε butyl paraben (58.3%), τα 8 από τα 12 σε BPA (66.7%), τα 9 από τα 12 σε BPS (75.0%), τα 10 από τα 12 σε HCB (83.3%), τα 7 από τα 12 σε opDDE (58.3%), τα 11 από τα 12 σε ppDDE (91.7%) ,2 από τα 12 σε op DDD (16.7%) και το 1 από τα 12 σε ppDDD+opDDT (8.3%).
- Οι μέσες τιμές των ουσιών (pg/mg) κυμάνθηκαν σε 3162.9 για το MePB, 412.9 για το EtPB, 2075.2 για το ProP, 99.8 για το BePB, 61.1 για το BuPB , 2541.4 για το TCS, 552.4 για το BPS, 133.4 για το BPA, 0.50 για opDDE, 3.34 για ppDDE, 0.66 για opDDD, 0.99 για ppDDD+opDDT και 2.56 για HCB.

Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται συνοπτικά στους πιο κάτω πίνακες:

Πίνακας 3.3 Οι ανιχνευόμενες μέσες τιμές των παραβενίων, δισφαινολών και τρικλοζάνης και τα ποσοστά θετικότητας

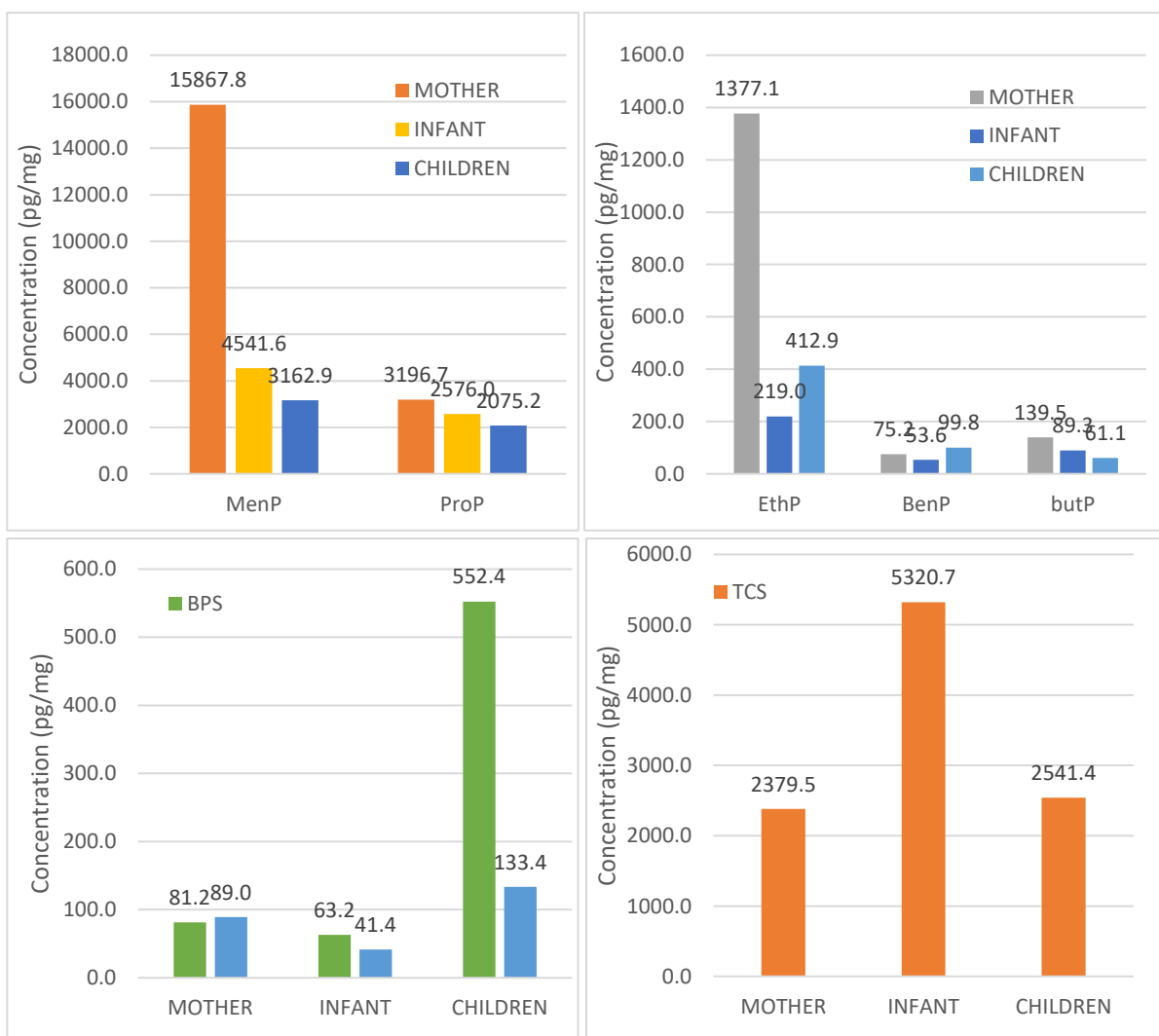
MEAN (pg/mg)	MenP	EthP	ProP	BenP	ButP	BPS	BPA	TCS
Μητέρα	15867.8	1377.1	3196.7	75.2	139.5	81.2	105.2	2379.5
νεογνό	4541.6	219.0	2576.0	53.6	89.3	63.2	41.4	5320.7
παιδί	3162.9	412.9	2075.2	99.8	61.1	552.4	133.4	2541.4
% positive	MenP	EthP	ProP	BenP	ButP	BPS	BPA	TCS
Μητέρα	100.0	89.7	100.0	64.1	56.4	100.0	84.6	100.0
νεογνό	100.0	47.7	93.2	31.8	22.7	95.5	52.3	100.0
παιδί	100.0	91.7	100.0	50.0	58.3	75.0	66.7	100.0

Πίνακας 3.4 Οι ανιχνευόμενες μέσες τιμές των DDTs και HCB και τα ποσοστά θετικότητας.

MEAN (pg/mg)	HCB	opDDE	ppDDE	op DDD	ppDDD+opDDT
Μητέρα	5.87	0.46	2.57	0.27	
νεογνό	7.25	0.85	10.60	2.76	7.48
παιδί	2.56	0.50	3.34	0.66	0.99
% positive	HCB	opDDE	ppDDE	op DDD	ppDDD+opDDT
Μητέρα	75.7	48.6	91.9	10.8	
νεογνό	74.4	72.1	95.3	27.9	20.9
παιδί	83.3	58.3	91.7	16.7	8.3

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Οι έρευνες που προσδιορίζουν τα επίπεδα των PBs, των BPs, του TCS, του DDTs και HCB σε δείγματα τρίχας τόσο μητέρων όσο και παιδιών είναι αρκετά περιορισμένες. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα των προηγούμενων μελετών τα επίπεδα των συγκεντρώσεων του MePB κυμαίνονται από 17.6 έως 27437 pg/mg, του EtPB από 11 έως 4224.5 pg/mg, του ProPB 70.2 έως 214.5 pg/mg, του BePB από 2.1 έως 66.6 pg/mg, του BuPB από 1.8 έως 2513.7 pg/mg στα δείγματα μητέρων ενώ αναφορές για τις συγκεκριμένες ουσίες για τα δείγματα τρίχας παιδιών δεν βρέθηκαν (Cho & Song, 2019; Karzi et al., 2019). Όσο αφορά το TCS και το BPA, η Karzi και οι συνεργάτες της μέτρησαν στα δείγματα τρίχας παιδιών ποσότητες 275.2 ± 1005.7 pg/mg και 16.6 ± 33.3 pg/mg ενώ για τα δείγματα τρίχας ενηλίκων 687.0 ± 1501.1 pg/mg και 16.6 ± 12.1 pg/mg, αντίστοιχα (Karzi et al., 2018). Για τις ουσίες opDDE, ppDDE, opDDD, ppDDD, opDDT, ppDDT, HCB οι συγκεντρώσεις που αναφέρονται για τα δείγματα γυναικών είναι 1.3, 7.6, 0.86, 4.46, 12.7, 52.9 και 0.5 ng/g αντίστοιχα (Man et al., 2014a) και για τα δείγματα παιδιών οι συγκεντρώσεις που ανιχνεύτηκαν στην έρευνα του Zhang ήταν 10 ng/g για το ppDDE, 1.5 ng/g για το ppDDD και 7.5 ng/g για το ppDDT, ενώ για τις ουσίες opDDE, opDDD, opDDT και HCB δεν βρέθηκαν αναφορές.



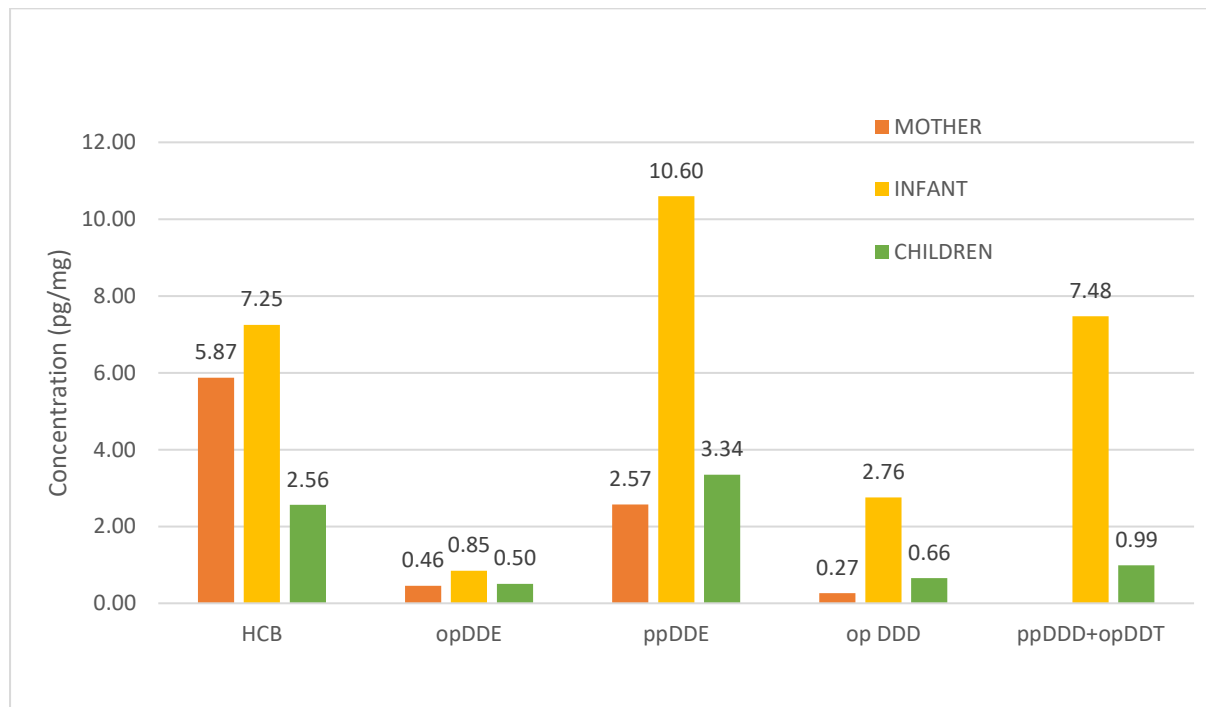
Εικόνα 4.1 Μέσες ανιχνευόμενες συγκεντρώσεις (σε pg/mg) και συγκριτικά αποτελέσματα για τα παραβένια, δισφαινόλες και τρικλοζάνη μεταξύ μητέρας νεογνού και παιδιού

Όπως παρατηρείται στην Εικόνα 4.1, οι συγκεντρώσεις του MenP και του EthP στα δείγματα τρίχας μητέρων είναι αρκετά αυξημένες σε σύγκριση με τα δείγματα τρίχας των νεογνών και των παιδιών. Όπως αναφέρεται στην εισαγωγή τα δύο αυτά parabens περιέχονται σε προϊόντα προσωπικής φροντίδας αλλά και σε τρόφιμα ως συντηρητικά. Η αυξημένη συγκέντρωση αυτών των ουσιών στις μητέρες σε σύγκριση με τα παιδιά, θα μπορούσε να αποδοθεί στο γεγονός πως τα PBs στην μητέρα ακολουθούν δύο οδούς επιμόλυνσης της τρίχας. Μέσω απορρόφησης στον οργανισμό και μεταφοράς του αίματος και των αιμοφόρων αγγείων στο τριχωτό της κεφαλής αλλά και από την εξωτερική επιμόλυνση και απορρόφηση των ουσιών από την τρίχα. Παρότι, γίνονται πλύσεις στην τρίχα με νερό και μεθανόλη, εξασφαλίζουν μόνο τον επιφανειακό καθαρισμό της τρίχας.

Στο ραβδόγραμμα που αντιστοιχεί στις δισφαινόλες εμφανίζεται μια αυξημένη επιβάρυνση στα παιδιά τόσο για τη BPS όσο και για τη BPA. Η παρατήρηση αυτή μπορεί να αποδοθεί στο γεγονός πως οι δισφαινόλες είναι γνωστό πως εμπεριέχονται σε πλαστικά παιχνίδια, πλαστικά μπουκάλια όπως μπιμπερό, πιπίλες κτλ (Andaluri et al., 2018).

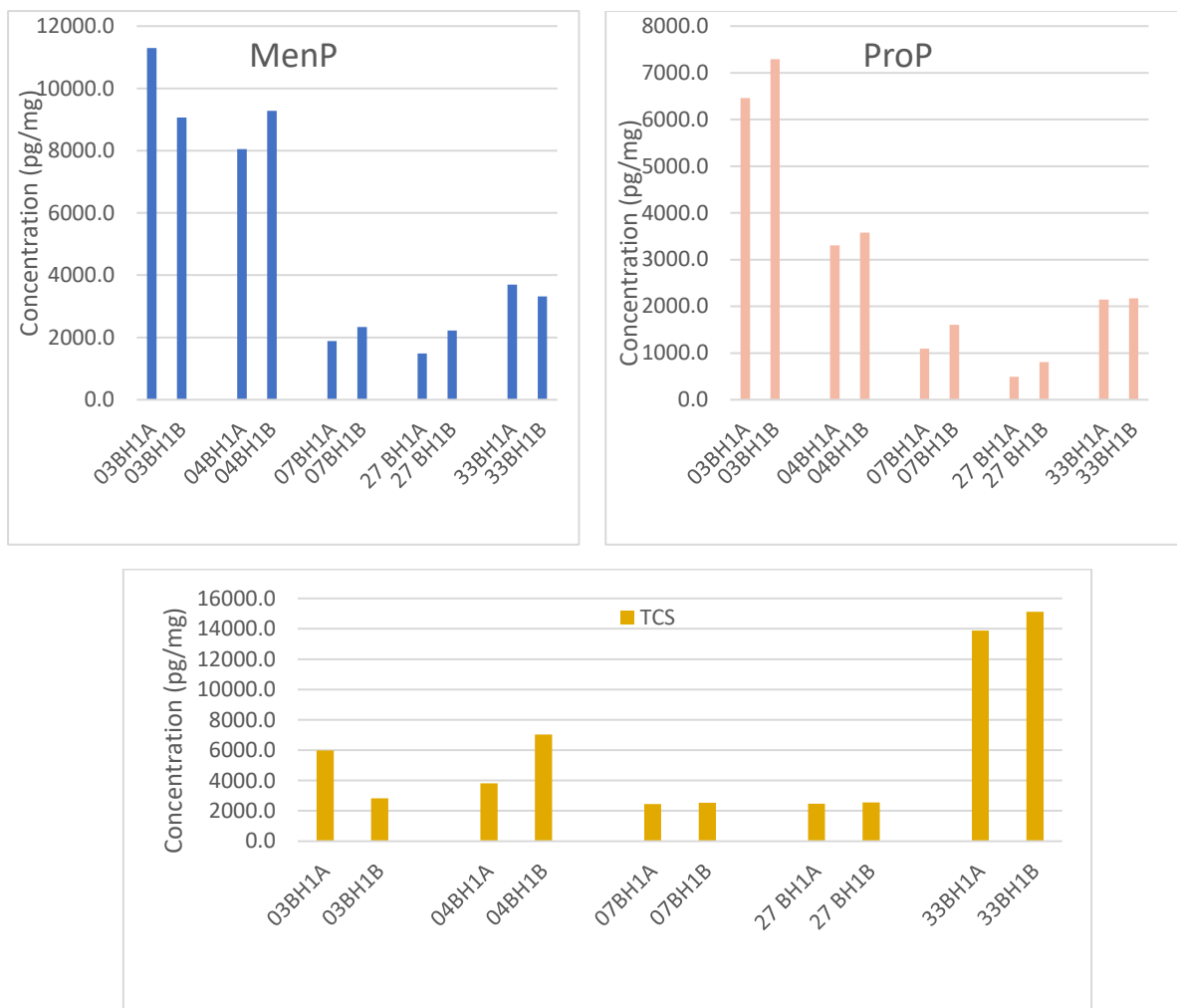
Όσο αφορά την τρικλοζάνη ανιχνεύτηκε μεγαλύτερη ποσότητα στα δείγματα τρίχας των νεογνών σε σχέση με την μητέρα. Η ουσία αυτή είναι λιπόφιλη, έχει χαμηλή διαλυτότητα στο νερό και εξαιρετικά

υψηλή διαλυτότητα στα λιπίδια, οδηγώντας στη βιοσυσσώρευση τους στον λιπώδη ιστό. Η λήψη δειγματος στα νεογνά πραγματοποιήθηκε κατά την γέννηση τους, έτσι η ποσότητα που ανιχνεύθηκε αντιστοιχεί στην ποσότητα τρικλοζάνης που μεταφέρεται στο έμβρυο μέσω πλακούντα. Η αυξημένη συγκέντρωση της τρικλοζάνης στα νεογνά οφείλεται στο γεγονός πως τα έμβρυα μέσα στον αμνιακό σάκο δεν μπορούν να απεκκρίνουν τις συγκεκριμένες ουσίες (εκτός αμνιακού σάκου), αντίθετα οι μητέρες αλλά και τα παιδιά μπορούν να μεταβολίσουν και να απεκκρίνουν κάποια ποσότητα .



Εικόνα 4.2 Μέσες ανιχνευόμενες συγκεντρώσεις (σε pg/mg) και συγκριτικά αποτελέσματα για τα DDTs και HCB μεταξύ μητέρας νεογνού και παιδιού

Στην εικόνα 4.2 αναπαρίστανται τα αποτελέσματα που αφορούν τα DDTs και HCB, όπως και στην τρικλοζάνη εμφανίζεται μια αυξημένη συγκέντρωση στα νεογνά. Η ερμηνεία αυτής της παρατήρησης είναι ίδια με της τρικλοζάνης αφού και τα DDTs είναι λιπόφιλα. Είναι αξιοσημείωτο, πως δεν ανιχνεύθηκε στην τρίχα των μητέρων ppDDD και opDDT, το γεγονός αυτό ίσως οφείλεται στο ότι η ουσία DDT μεταβολίζεται σε DDD και DDE. Για αυτό τον λόγο, βλέπουμε πως παρότι στα δείγματα μητέρων δεν εμφανίζονται DDT, οι μεταβολίτες του εμφανίζονται.



Εικόνα 4.3 Συγκριτικά αποτελέσματα ανιχνευόμενων συγκεντρώσεων σε δείγματα τρίχας των νεογνών δίδυμης κύησης.

Στην εικόνα 4.3, παρουσιάζονται ενδεικτικά αναλυτικά αποτελέσματα από ανάλυση δειγμάτων τρίχας σε δίδυμη κύηση. Είναι σημαντικό, πως παρατηρείται ανάλογη επιβάρυνση παρότι τα δίδυμα ήταν ετεροζυγωτικά. Έτσι, μπορούμε να συμπεράνουμε πως ενώ το κάθε έμβρυο έχει δικό του αμνιακό σάκο και πλακούντα, η ποσότητα των ξενοβιοτικών ουσιών που περνά μέσω του κάθε πλακούντα είναι ανάλογη.

5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Adolfsson-Erici, M., Pettersson, M., Parkkonen, J., & Sturve, J. (2002). *Triclosan, a commonly used bactericide found in human milk and in the aquatic environment in Sweden*. www.elsevier.com/locate/chemosphere
- Allmyr, M., Adolfsson-Erici, M., McLachlan, M. S., & Sandborgh-Englund, G. (2006). Triclosan in plasma and milk from Swedish nursing mothers and their exposure via personal care products. *Science of the Total Environment*, *372*(1), 87–93. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2006.08.007>
- Andaluri, G., Manickavachagam, M., & Suri, R. (2018). Plastic toys as a source of exposure to bisphenol-A and phthalates at childcare facilities. *Environmental Monitoring and Assessment*, *190*(2). <https://doi.org/10.1007/s10661-017-6438-9>
- Toxicological Profile for Hexachlorobenzene*. U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES Public Health Service Agency for Toxic Substances and Disease Registry (2015).
- ATSDR Division of Toxicology, C., & Human Sciences, H. (2002). *CS265956-A DDT, DDE, and DDD-ToxFAQs™ What are DDT, DDE, and DDD?* <http://www.atsdr.cdc.gov/toxfaqs/index.asp>.
- Błędzka, D., Gromadzińska, J., & Wasowicz, W. (2014). Parabens. From environmental studies to human health. In *Environment International* (Vol. 67, pp. 27–42). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.02.007>
- Bornman, R., de Jager, C., Worku, Z., Farias, P., & Reif, S. (2010). DDT and urogenital malformations in newborn boys in a malarial area. *BJU International*, *106*(3), 405–411. <https://doi.org/10.1111/j.1464-410X.2009.09003.x>
- 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. *Environmental Health Perspectives*, *117*(12), 1945–1952. <https://doi.org/10.1289/ehp.0900979>
- Canosa, P., Rodríguez, I., Rubí, E., Negreira, N., & Cela, R. (2006). Formation of halogenated by-products of parabens in chlorinated water. *Analytica Chimica Acta*, *575*(1), 106–113. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2006.05.068>
- Casadó, L., Arrebola, J. P., Fontalba, A., & Muñoz, A. (2019). Adverse effects of hexachlorobenzene exposure in children and adolescents. In *Environmental Research* (Vol. 176). Academic Press Inc. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2019.03.059>
- Chang, C. M., Schroeder, J. C., Huang, W. Y., Dunphy, C. H., Baric, R. S., Olshan, A. F., Dorsey, K. C., Dent, G. A., Cerhan, J. R., Lynch, C. F., Rothman, N., Cantor, K. P., & Blair, A. (2010). Non-Hodgkin lymphoma (NHL) subtypes defined by common translocations: Utility of fluorescence in situ hybridization (FISH) in a case-control study. *Leukemia Research*, *34*(2), 190–195. <https://doi.org/10.1016/j.leukres.2009.05.007>
- Chen, Da, Kannan, K., Tan, H., Zheng, Z., Feng, Y. L., Wu, Y., & Widelka, M. (2016). Bisphenol Analogues Other Than BPA: Environmental Occurrence, Human Exposure, and Toxicity - A Review. In *Environmental Science and Technology* (Vol. 50, Issue 11, pp. 5438–5453). American Chemical Society. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b05387>

- Chen, Danrong, Liu, J., Yan, W., Fang, K., Xia, Y., Lv, W., & Shi, Z. (2021). Associations of Prenatal Exposure to Triclosan and Maternal Thyroid Hormone Levels: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Frontiers in Endocrinology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.607055>
- Cho, S. H., & Song, H. N. (2019). Development of a liquid chromatography/tandem mass spectrometry method for monitoring of long-term exposure to parabens. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 33(1), 67–73. <https://doi.org/10.1002/rcm.8302>
- Chronic Toxicity (or Exposure) Animal*. (2002). <http://www.atsdr.cdc.gov>
- Cohn, B. A., Wolff, M. S., Cirillo, P. M., & Scholtz, R. I. (2007). DDT and breast cancer in young women: New data on the significance of age at exposure. *Environmental Health Perspectives*, 115(10), 1406–1414. <https://doi.org/10.1289/ehp.10260>
- Cosmetic Ingredient Expert Panel.(2008) «Final amended report on the safety assessment of Methylparaben,Ethylparaben, Propylparaben, Isopropylparaben,Butylparaben, Isobutylparaben, and Benzylparaben as used in cosmetic products». *Int J Toxicol*. 27 (Suppl 4):1-82.
- Covaci, A., Tutudaki, M., Tsatsakis, A. M., & Schepens, P. (2002). *Hair analysis: another approach for the assessment of human exposure to selected persistent organochlorine pollutants*. www.elsevier.com/locate/chemosphere
- Cupul-Uicab, L. A., Gladen, B. C., Hernández-Ávila, M., Weber, J. P., & Longnecker, M. P. (2008). DDE, a degradation product of DDT, and duration of lactation in a highly exposed area of Mexico. *Environmental Health Perspectives*, 116(2), 179–183. <https://doi.org/10.1289/ehp.10550>
- Darbre, P. D., Byford, J. R., Shaw, L. E., Horton, R. A., Pope, G. S., & Sauer, M. J. (2002). Oestrogenic activity of isobutylparaben in vitro and in vivo. *Journal of Applied Toxicology*, 22(4), 219–226. <https://doi.org/10.1002/jat.860>
- den Hond, E., Tournaye, H., de Sutter, P., Ombelet, W., Baeyens, W., Covaci, A., Cox, B., Nawrot, T. S., van Larebeke, N., & D’Hooghe, T. (2015). Human exposure to endocrine disrupting chemicals and fertility: A case-control study in male subfertility patients. *Environment International*, 84, 154–160. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.07.017>
- Diamanti-Kandarakis, E., Bourguignon, J. P., Giudice, L. C., Hauser, R., Prins, G. S., Soto, A. M., Zoeller, R. T., & Gore, A. C. (2009). Endocrine-disrupting chemicals: An Endocrine Society scientific statement. In *Endocrine Reviews* (Vol. 30, Issue 4). <https://doi.org/10.1210/er.2009-0002>
- Ellahi, M., & Rashid, M. ur. (2017). The Toxic Effects BPA on Fetuses, Infants, and Children. In *Bisphenol A Exposure and Health Risks*. InTech. <https://doi.org/10.5772/intechopen.68896>
- Final Amended Report on the Safety Assessment of Methyl paraben, Ethylparaben, Propylparaben, Isopropylparaben, Butylparaben, Isobutylparaben,and Benzylparaben as used in Cosmetic Products. *International Journal of Toxicology*, 27(Suppl. 4):1-82.2008

- FDA's Preparation of Food Contact Notifications for Food Contact Substances: Toxicology Recommendations Final Guidance April 2002 (accessible at <http://www.cfsan.fda.gov/~dms/opa2pmnt.html>).
- Geer, L. A., Pycke, B. F. G., Waxenbaum, J., Sherer, D. M., Abulafia, O., & Halden, R. U. (2017). Association of birth outcomes with fetal exposure to parabens, triclosan and triclocarban in an immigrant population in Brooklyn, New York. *Journal of Hazardous Materials*, 323, 177–183. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.03.028>
- Ghosh, P., Roy, S. S., Begum, M., & Ghosh, S. (2017). Bisphenol A: Understanding Its Health Effects from the Studies Performed on Model Organisms. In *Bisphenol A Exposure and Health Risks*. InTech. <https://doi.org/10.5772/intechopen.68971>
- Giuliano, C. A., & Rybak, M. J. (2015). Efficacy of triclosan as an antimicrobial hand soap and its potential impact on antimicrobial resistance: A focused review. In *Pharmacotherapy* (Vol. 35, Issue 3, pp. 328–336). Pharmacotherapy Publications Inc. <https://doi.org/10.1002/phar.1553>
- Gladen, B. C., & Rogan, W. J. (1995). *DDE and Shortened Duration of Lactation in a Northern Mexican Town*.
- Guerra, M. T., Sanabria, M., Leite, G. A. A., Borges, C. S., Cuciolo, M. S., Anselmo-Franci, J. A., Foster, W. G., & Kempinas, W. G. (2017). Maternal exposure to butyl paraben impairs testicular structure and sperm quality on male rats. *Environmental Toxicology*, 32(4), 1273–1289. <https://doi.org/10.1002/tox.22323>
- Halden, R. U. (2014). On the need and speed of regulating triclosan and triclocarban in the United States. *Environmental Science and Technology*, 48(7), 3603–3611. <https://doi.org/10.1021/es500495p>
- Holst, J. P., Soldin, O. P., Guo, T., & Soldin, S. J. (2004). Steroid hormones: Relevance and measurement in the clinical laboratory. In *Clinics in Laboratory Medicine* (Vol. 24, Issue 1, pp. 105–118). <https://doi.org/10.1016/j.cll.2004.01.004>
- How do Endocrine Disruptors work?* (2007).
- IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Meeting (1990 : Lyon, F., & International Agency for Research on Cancer. (1991). *Occupational exposures in insecticide application, and some pesticides*. IARC.
- Jewell, C., Prusakiewicz, J. J., Ackermann, C., Payne, N. A., Fate, G., Voorman, R., & Williams, F. M. (2007). Hydrolysis of a series of parabens by skin microsomes and cytosol from human and minipigs and in whole skin in short-term culture. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 225(2), 221–228. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2007.08.002>
- Karzi, V., Tzatzarakis, M., Katsikantami, I., Stavroulaki, A., Alegakis, A., Vakonaki, E., Xezonaki, P., Sifakis, S., Rizos, A., & Tsatsakis, A. (2019). Investigating exposure to endocrine disruptors via hair analysis of pregnant women. *Environmental Research*, 178. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2019.108692>
- 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. *Journal of Applied Toxicology*, 38(8), 1144–1152.
<https://doi.org/10.1002/jat.3627>

Kaushik, P., & Kaushik, G. (2007). An assessment of structure and toxicity correlation in organochlorine pesticides. *Journal of Hazardous Materials*, 143(1–2), 102–111.
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2006.08.073>

Konstantinou, I. K., Hela, D. G., & Albanis, T. A. (2006). The status of pesticide pollution in surface waters (rivers and lakes) of Greece. Part I. Review on occurrence and levels. *Environmental Pollution*, 141(3), 555–570. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2005.07.024>

Li, H., Zhao, Y., Chen, L., Su, Y., Li, X., Jin, L., & Ge, R. S. (2017). Triclocarban and Triclosan Inhibit Human Aromatase via Different Mechanisms. *BioMed Research International*, 2017.
<https://doi.org/10.1155/2017/8284097>

Liao, X., Raghavan, G. S. v, & Yaylayan, V. A. (2002). A novel way to prepare n-butylparaben under microwave irradiation. In *TETRAHEDRON LETTERS* (Vol. 43).

Longnecker, M. P., Rogan, W. J., & Lucier, G. (1997). THE HUMAN HEALTH EFFECTS OF DDT (DICHLORODIPHENYL-TRICHLOROETHANE) AND PCBS (POLYCHLORINATED BIPHENYLS) AND AN OVERVIEW OF ORGANOCHLORINES IN PUBLIC HEALTH *. In *Annu. Rev. Public Health* (Vol. 18). www.annualreviews.org

Malaria Foundation International: "Our campaign to prevent a ban on DDT for malaria control has been successful".

Malaria Foundation International (19/8/2000): "Roll Back Malaria must not be allowed to fail!"
RBM, Roll Back Malaria, Africa Fighting Malaria (AFM): "Malaria in Africa".

Man, Y. B., Chan, J. K. Y., Wang, H. S., Wu, S. C., & Wong, M. H. (2014a). DDTs in mothers' milk, placenta and hair, and health risk assessment for infants at two coastal and inland cities in China. *Environment International*, 65, 73–82.
<https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.01.001>

Man, Y. B., Chan, J. K. Y., Wang, H. S., Wu, S. C., & Wong, M. H. (2014b). DDTs in mothers' milk, placenta and hair, and health risk assessment for infants at two coastal and inland cities in China. *Environment International*, 65, 73–82.
<https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.01.001>

Montville, R., & Schaffner, D. W. (2011). A meta-analysis of the published literature on the effectiveness of antimicrobial soaps. *Journal of Food Protection*, 74(11), 1875–1882.
<https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-11-122>

Moog, N. K., Entringer, S., Heim, C., Wadhwa, P. D., Kathmann, N., & Buss, C. (2017). Influence of maternal thyroid hormones during gestation on fetal brain development. In *Neuroscience* (Vol. 342, pp. 68–100). Elsevier Ltd.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.09.070>

Newbold, R. R., Jefferson, W. N., & Padilla Banks, E. (2007). *Long-term Adverse Effects of Neonatal Exposure to Bisphenol A on the Murine Female Reproductive Tract*.

- Prokop, Z., Hanková, L., & Jeřábek, K. (2004). Bisphenol A synthesis - Modeling of industrial reactor and catalyst deactivation. *Reactive and Functional Polymers*, 60(1–3), 77–83. <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2004.02.013>
- Ritter, L., Solomon, K. R., Forget, J., Stemeroff, M., & O'leary, C. (1995a). A REVIEW OF SELECTED PERSISTENT ORGANIC POLLUTANTS DDT-Aldrin-Dieldrin-Endrin-Chlordane Heptachlor-Hexachlorobenzene-Mirex-Toxaphene Polychlorinated biphenyls Dioxins and Furans For: The International Programme on Chemical Safety (IPCS) within the framework of the Inter-Organization Programme for the Sound Management of Chemicals (IOMC).
- Ritter, L., Solomon, K. R., Forget, J., Stemeroff, M., & O'leary, C. (1995b). A REVIEW OF SELECTED PERSISTENT ORGANIC POLLUTANTS DDT-Aldrin-Dieldrin-Endrin-Chlordane Heptachlor-Hexachlorobenzene-Mirex-Toxaphene Polychlorinated biphenyls Dioxins and Furans For: The International Programme on Chemical Safety (IPCS) within the framework of the Inter-Organization Programme for the Sound Management of Chemicals (IOMC).
- Rochester, J. R. (2013). Bisphenol A and human health: A review of the literature. In *Reproductive Toxicology* (Vol. 42, pp. 132–155). <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2013.08.008>
- Rochester, J. R., & Bolden, A. L. (2015). Bisphenol S and F: A systematic review and comparison of the hormonal activity of bisphenol a substitutes. In *Environmental Health Perspectives* (Vol. 123, Issue 7, pp. 643–650). Public Health Services, US Dept of Health and Human Services. <https://doi.org/10.1289/ehp.1408989>
- Rochester, J. R., Bolden, A. L., Pelch, K. E., & Kwiatkowski, C. F. (2017). Potential Developmental and Reproductive Impacts of Triclocarban: A Scoping Review. In *Journal of Toxicology* (Vol. 2017). Hindawi Limited. <https://doi.org/10.1155/2017/9679738>
- Rehwagen C: "WHO recommends DDT to control malaria", *Brit. Med. J.* 333, 622, 2006.
Longnecker MP: "Why DDT matters now", *Am J Epidemiol* 162:717-725, 2005.
- Russell, A. D. (2004). Whither triclosan? *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 53(5), 693–695. <https://doi.org/10.1093/jac/dkh171>
- Sandborgh-Englund, G., Adolfsson-Erici, M., Odham, G., & Ekstrand, J. (2006). Pharmacokinetics of triclosan following oral ingestion in humans. *Journal of Toxicology and Environmental Health - Part A: Current Issues*, 69(20), 1861–1873. <https://doi.org/10.1080/15287390600631706>
- Smarr, M. M., Sundaram, R., Honda, M., Kannan, K., & Buck Louis, G. M. (2017). Urinary concentrations of parabens and other antimicrobial chemicals and their association with couples' fecundity. *Environmental Health Perspectives*, 125(4), 730–736. <https://doi.org/10.1289/EHP189>
- Soto, A. M., Brisken, C., Schaeberle, C., & Sonnenschein, C. (2013). Does cancer start in the womb? Altered mammary gland development and predisposition to breast cancer due to in utero exposure to endocrine disruptors. In *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia* (Vol. 18, Issue 2, pp. 199–208). <https://doi.org/10.1007/s10911-013-9293-5>

- Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants: "Convention Text" (αρχείο PDF, 137 KB)
- Staples', C. A., Dom2, P. B., Klecka3, G. M., O'blook', S. T., & Harris, L. R. (1998). ABEWEW OFTEE ENVIBONMENTAL FATE, EFFECTS, AND EXPOSUBES OF BISFHJIINOL A. In *Chemosphere* (Vol. 36, Issue 10).
- Vall, O., Gomez-Culebras, M., Puig, C., Rodriguez-Carrasco, E., Gomez Baltazar, A., Canchucaja, L., Joya, X., & Garcia-Algar, O. (2014). Prenatal and postnatal exposure to DDT by breast milk analysis in Canary Islands. *PLoS ONE*, 9(1).
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0083831>
- Vogel, S. A. (2009). *The Politics of Plastics: The Making and Unmaking of Bisphenol A "Safety."*
- Walker, K. C., Goette, M. B., & Batchelor, G. S. (2021). *PESTICIDE RESIDUES IN FOODS Dichlorodiphenyltrichloroethane and Dichloro-diphenyldichloroethylene Content of Prepared Meals The edible portions were Extraction extracted with acetone* (Vol. 12). UTC.
<https://pubs.acs.org/sharingguidelines>
- Wang, L., Zhang, X., Wang, Y., & Wang, W. (2006). Simultaneous determination of preservatives in soft drinks, yogurts and sauces by a novel solid-phase extraction element and thermal desorption-gas chromatography. *Analytica Chimica Acta*, 577(1), 62–67.
<https://doi.org/10.1016/j.aca.2006.06.030>
- William R. Kelce, Christy R. Stone, Susan C. Laws, L. Earl Gray, Jon A. Kemppalnen & Elizabeth M. Wilson (1995). Persistent DDT metabolite p,p- DDE is a potent androgen receptor antagonist.
- Yazar, K., Johnsson, S., Lind, M. L., Boman, A., & Lidén, C. (2011). Preservatives and fragrances in selected consumer-available cosmetics and detergents. *Contact Dermatitis*, 64(5), 265–272. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0536.2010.01828.x>
- Zhang, H., Chai, Z., & Sun, H. (2007). Human hair as a potential biomonitor for assessing persistent organic pollutants. *Environment International*, 33(5), 685–693.
<https://doi.org/10.1016/j.envint.2007.02.003>
- Zhang, L., Dong, L., Ding, S., Qiao, P., Wang, C., Zhang, M., Zhang, L., Du, Q., Li, Y., Tang, N., & Chang, B. (2014). Effects of n-butylparaben on steroidogenesis and spermatogenesis through changed E2 levels in male rat offspring. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 37(2), 705–717. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2014.01.016>